

Факултет ТЕХНОЛОШКО-
МЕТАЛУРШКИ

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ

35/340

Веће научних области техничких наука

(Број захтева)

(Назив већа научне области коме се захтев
упућује)

12.1.2023.

(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:

**Егзополисахариди из бактеријских сојева *Lactobacillus reuteri* B2 и *Klebsiella oxytoca* J7:
изоловање, карактеризација и примена за уклањање тешких метала из воде**

(пун назив предложене теме докторске дисертације)

НАУЧНА ОБЛАСТ ТЕХНОЛОШКО ИНЖЕЊЕРСТВО

ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ:

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

Верица (Милоје) Љубић

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

Универзитет у Београду,

Пољопривредни факултет, Мастер студије, Мастер инжењер технологије

3. Година завршетка
претходног нивоа студија: 2014.

4. Година уписа на докторске студије: 2019.

5. Назив студијског програма
докторских студија:

Хемијско инжењерство

ПОДАЦИ О МЕНТОРУ 1 :

Име и презиме ментора: др Катарина Тривунац

Звање: доцент Технолошко-металуршког факултета, Универзитет у Београду

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације:

1. Zdujić A., **Trivunac K.**, Pejić B., Vukčević M., Kostić M., Milivojević M., *A comparative study of Ni(II) removal from aqueous solutions on Ca-alginate beads and alginate-impregnated hemp fibers*, *Fibers and Polymers* 22 (2021), 9-18 doi: [10.1007/s12221-021-9814-6](https://doi.org/10.1007/s12221-021-9814-6).
2. Karić N., Vukčević M., Ristić M., Perić-Grujić A., Marinković A., **Trivunac K.**, *A green approach to starch modification by solvent-free method with betaine hydrochloride*, *International Journal of Biological Macromolecules* (2021), 193 (B), pp. 1962-1971, doi: [10.1016/j.ijbiomac.2021.11.027](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.11.027).
3. Mihajlović S., Vukčević M., Pejić B., Perić-Grujić A., Ristić M., **Trivunac K.**, *Waste Cotton and Cotton/Polyester Yarns as Adsorbents for Removal of Lead and Chromium from Wastewater*, *Journal of Natural Fibers* (2021) doi: [10.1080/15440478.2021.1993414](https://doi.org/10.1080/15440478.2021.1993414).
4. Mladenović N., Kljajević Lj., Nenadović S., Ivanović M., Čalija B., Gulicovski J., **Trivunac K.**, *The Applications of New Inorganic Polymer for Adsorption Cadmium from Waste Water*, *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials* 30 (2020), pp. 554-563, doi: [10.1007/s10904-019-01215-y](https://doi.org/10.1007/s10904-019-01215-y).
5. Marković J., Jović M., Smičiklas I., Šljivić-Ivanović M., Onjia A., **Trivunac K.**, Popović A., *Cadmium retention and distribution in contaminated soil: effects and interactions of soil properties, contamination level, aging time and in situ immobilization agents*, *Ecotoxicology and Environmental Safety* 174 (2019), pp. 305–314, doi: [10.1016/j.ecoenv.2019.03.001](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.03.001).

ПОДАЦИ О МЕНТОРУ 2:

Име и презиме ментора: др Мина Поповић

Звање: научни сарадник Универзитета у Београду, Институт за хемију, технологију и металургију, Институт од националног значаја за Републику Србију

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације:

1. Milaš Ljubić V., Milošević M., Cvetković S., Stojanović M., Novović K., Dinić M., **Popović M.**, *The novel exopolysaccharide produced by a probiotic strain L. reuteri B2: Extraction, biological properties and possible applications for Ni²⁺ ions removal from contaminated water*, Biomass Conversion and Biorefinery (2022) doi:10.1007/s13399-022-03292-5.
2. **Popović M.**, Stojanović M., Veličković Z., Kovačević A., Miljković R., Mirković N., Marinković A., *Characterization of potential probiotic strain, L. reuteri B2, and its microencapsulation using alginate-based biopolymers*, International Journal of Biological Macromolecule (2021), 183, pp. 423–434, doi: [10.1016/j.ijbiomac.2021.04.177](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.04.177).
3. Marinković A., Vuksanović M., Karić N., Đokić V., **Popović M.**, Jančić Heinemann R., Tomić N., *The effect of natural modifiers for starch hydrophobization on performance of composite based on ethylene acrylic acid copolymer*, Polymer Composites (2021), 42(3), pp 1325-1337, doi: [10.1002/pc.25903](https://doi.org/10.1002/pc.25903).
4. Lewis Z. T., Shani G., Masarweh C., **Popovic M.**, Frese S. A., Sela D. A., Underwood M. A., Mills D. A., *Validating bifidobacterial species and subspecies identity in commercial probiotic products*, Pediatric Research (2016), 79(3), pp. 445–452, doi: [10.1038/pr.2015.244](https://doi.org/10.1038/pr.2015.244).
5. Lewis Z. T., Totten S. M., Smilowitz J. T., **Popovic M.**, Parker E., Lemay D. G., Van Tassell M. L., Miller M. J., Jin Y., German J. B., Lebrilla C. B., Mills D. A., *Maternal fucosyltransferase 2 status affects the gut bifidobacterial communities of breastfed infants*, Microbiome (2015), 3(1), 13, doi: [10.1186/s40168-015-0071-z](https://doi.org/10.1186/s40168-015-0071-z)

ДЕКАН ФАКУЛТЕТА

Проф.дрПетарУскоковћ

- Прилог
1. Одлука Наставно-научног већа о прихватању теме и одређивању ментора
 2. Извештај Комисије о оцени научне заснованости теме докторске дисертације

Напомена: Факултет доставља Универзитету захтев са прилозима у електронској форми и у једном писаном примерку за архиву Универзитета

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 29.12.2022. 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 **Верице Љубић**, број индекса 4026/19, под називом: **„Егзополисахариди из бактеријских сојева *Lactobacillus reuteri* B2 и *Klebsiella oxytoca* J7: изоловање, карактеризација и примена за уклањање тешких метала из воде“.**

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

За менторе се одређују др Катарина Тривунац, доцент Универзитета у Београду, Технолошко-металуршки факултет и др Мина Поповић, научни сарадник Универзитета у Београду, Институт за хемију, технологију и металургију, Институт од националног значаја за Републику Србију.

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

Д Е К А Н

Проф. др Петар Ускоковић

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ

Предмет: Подобност теме и кандидаткиње Верице Љубић, мастер инж. технологије, за израду докторске дисертације

Одлуком бр. 35/273 од 22.11.2022. године, именовани смо за чланове Комисије за оцену подобности теме и кандидата Верице Љубић за израду докторске дисертације и научне заснованости теме *"Добијање, карактеризација и примена ектополисахарида изолованих из бактеријских сојева, Lactobacillus reuteri B2 и Klebsiella oxytoca J7"*.

На основу материјала приложеног уз Захтев кандидата, Комисија подноси следећи

ИЗВЕШТАЈ

1. Подаци о кандидату

1.1. Биографски подаци

Верица (Милоје) Љубић, мастер инжењер технологије, је рођена 09.02.1983. године у Београду. Основну и средњу Медицинску школу (смер: Фармацеутски техничар) завршила је у Београду. Дипломирала је на Технолошко–металуршком факултету у Београду 2011. године на студијском програму Биохемијско инжењерство и биотехнологија. Мастер рад под називом „Екстракција уља из семенки грожђа методом суперкритичне екстракције“, одбранила је на Пољопривредном факултету у Београду 2014. године на студијском програму Прехрамбена технологија. Истраживања везана за мастер рад реализована су на Технолошко-металуршком факултету у Београду. Октобра 2019. године уписала је докторске студије на Технолошко-металуршком факултету у Београду, на студијском програму Хемијско инжењерство.

У периоду од септембра 2014. године до децембра 2017. године радила је као прехрамбени технолог у производњи пекарске индустрије. Од марта 2019. године, године запослена је у Институту за хемију, технологију и металургију (ИХТМ) – Институт од националног значаја, Универзитета у Београду.

1.2. Стечено научноистраживачко искуство

У оквиру Центра за екологију и техноекономику (ИХТМ), радила је као аналитичар у Аналитичко–еколошкој лабораторији за испитивање предмета опште употребе и вода. Такође, радила је на пословима везаним за акредитацију лабораторије по стандарду СРПС ИСО 17025, што је подразумевало валидације и верификације метода испитивања, као и свакодневни рад са реалним узорцима. У оквиру ЦЕТЕ НУ ИХТМ завршила је интерну обуку за процену утицаја на животну средину.

Верица Љубић је положила све испите предвиђене планом и програмом докторских студија на Технолошко–металуршком факултету са просечном оценом 10,0. Списак

положених испита, оцене и остварени бодови на докторским студијама приказани су у Табели 1.

Табела 1. Положени испити, оцене и остварени бодови у оквиру докторских студија

Редни број	Назив предмета	Оцена	ЕСП Б
1.	Аналогије феномена преноса	10	5
2.	Одабрана поглавља математичке анализе	10	5
3.	Одабрана поглавља инструменталне анализе	10	7
4.	Хемијска термодинамика	10	5
5.	Воде у термоенергетици	10	6
6.	Технологија припреме вода	10	5
7.	Анализа трагова специфичних загађујућих материја	10	5
8.	Неоргански адсорбенти-теоријски основи и примена	10	4
9.	Принципи физичких и хемијских поступака третмана вода	10	5
10.	Виши курс аналитичке хемије	10	5
11.	Завршни испит	10	30
12.	Енглески језик	10	
Средња оцена/укупно		10,00	82

Област научно-истраживачког рада Верице Љубић обухвата добијање, карактеризацију и испитивање нових адсорбената на бази егзополисахарида изолованих из два бактеријска соја *Lactobacillus reuteri* B2 и *Klebsiella oxytoca* J7, за примену у уклањању јона метала из водених раствора. Предложена тема дисертације је усмерена на истраживања којима се испитују нови природни материјали на бази егзополисахарида у циљу њихове што детаљније карактеризације, као и на испитивање њиховог адсорпционог потенцијала у погледу уклањања одређених јона тешких метала из водених раствора. Истраживање обухвата и дефинисање механизма адсорпције и оптимизацију радних параметара адсорпционог процеса ради дефинисања најбољих услова адсорпције. Верица Љубић је као аутор до сада публиковала један рад у категорији M21, а из области истраживања којој припада предложена тема докторске дисертације, аутор и коаутор је осам саопштења приказаних на скуповима од међународног значаја (M33, M34).

Библиографија научних и стручних радова:

Рад у врхунском међународном часопису (M21)

1. Ljubić V., Milošević M., Cvetković S., Stojanović M., Novović, Dinić M., Popović M.: *The novel exopolysaccharide produced by a probiotic strain L. reuteri B2: Extraction, biological properties and possible applications for Ni²⁺ ions removal from contaminated water*, Biomass Conversion and Bioraffinery, 2022, ISSN 2190-6823, IF (4. 987) <https://doi.org/10.1007/s13399-022-03292-5>

Рад у врхунском часопису националног значаја (M51)

1. Cvetković S., Popović M., **Ljubić V.**, Perendija J.: *Biogas tehnologija u funkciji proizvodnje energije*, Naučno-stručno društvo za zaštitu životne sredine Srbije, Ecologica, Vol. 29, No.108, 2022, pp. 639-646. ISSN 0354-3285
<https://doi.org/10.18485/ecologica.2022.29.108.22>

Саопштење са међународног скупа штампано у целини (M33)

1. **Ljubić V.**, Cvetković S., Perendija J., Djukić-Vuković A., Popović M.: *Extraction of novel exopolysaccharide as potential biosorbent for removal of Ni^{2+} ions from contaminated water*, Proceedings of the International Conference XXIII YuCorr, May 16-19, Divčibare, Serbia 2022., pp.52-59., ISBN 978-86-82343-29-5.

2. **Ljubić V.**, Perendija J., Cvetković S., Popović M.: *Biosorption of the Ni^{2+} from the wastewater using exopolysaccharides isolated from the bacterial strain *K. oxytoca* J7*, Zbornik rezimea radova pisanih za 35. Međunarodni kongres o procesnoj industriji Procesing '22, 1-3. jun, Beograd, Srbija 2022., pp.147-154, ISBN 978-86-85535-12-3.

3. Perendija J., Popović M., **Ljubić V.**, Milošević D., Slobodan C.: *Мogućност примене отпадне биомасе хмеља за адсорпцију јона Ni^{2+} из водених раствора (Possibility of waste biomass of hops utilisation for adsorption of Ni^{2+} ions from aqueous solutions)*, Zbornik radova pisanih za 43. Međunarodnu konferenciju Vodovod i kanalizacija '22., 11-14. oktobar, Zrenjanin, Srbija 2022., pp. 351-356., ISBN: 978-86-80067-53-7

Саопштење са међународног скупа штампано у изводу (M34)

1. Malićanin M., Ivanović J., Milovanović S., Lončarević D., **Ljubić D.**, Rac V., Ignjatović Lj., Žižović I., Rakić V.: *The extraction of grape-seed oil from different cultivars using supercritical extraction by carbon dioxide*, Book of abstracts - 7th Central European Congress on Food - CEFood 2014, Ohrid, Macedonia 2014., pp. 214-215, ISBN 978-608-4565-05-5.

2. Vidović M., Grozdanić V., Trajković I., **Ljubić V.**, Spasić Jokić V.: *Hydrogeochemical of the influence of natural radionuclides on the environment*, Conference Proceedings of the 19th International Multidisciplinary GeoConference, Ecology and Environmental Protection, - SGEM 2019, Albena, Bulgaria 2019., pp. 331-338, ISBN 978-619-7408-84-3.

3. Popović M., Stojanović M., Veličković Z., **Ljubić V.**, Miljković R., Mirković N., Marinković A.: *Characterization of probiotic activity of *L. reuteri* B2 strain, and its microencapsulation using alginate-based biopolymers*, 18th Hellenic Symposium on Medicinal Chemistry – HSMC 2021, February 25-27, on-line, Greece 2021 P026, (<https://helmedchem2020.gr/>).

4. Perendija J., Marinković A., Popović M., Milošević D., **Ljubić V.**, Milošević M., Vasiljević Lj.: *Bio-renewable membranes based on modified cellulose, lignin, and tannic acid for difenoconazole and thiophanate-methyl removal*, Book of Abstract for the 7th International Congress "Engineering, Environment and Materials in Process Industry - EEM2021", Jahorina, Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina, March 17-19, 2021., pp. 69, ISBN: 978-99955-81-38-1.

5. Popović M., Marinković A., Pavlović V., **Ljubić V.**, Veličković Z., Perendija J., Vasiljević Lj.: *Removal of the As(V) from the water using magnetite/3d-printed wollastonite hybrid sorbent*, Book of Abstract for the 7th International Congress "Engineering, Environment and Materials in Process Industry - EEM2021", Jahorina, Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina, March 17-19, 2021., pp. 186, ISBN: 978-99955-81-38-1.

6. **Ljubić V.**, Milošević M., Cvetković S., Perendija J., Stojanović M., Popović M.: *Characterization and biological activity of exopolysaccharide extracted from novel probiotic strain L. reuteri B2. as novel biomaterial*, Materials Info 2022 for 4th Virtual congress on materials science& engineering, March 2022, Volume 1. pp. 40.

1.3. Оцена подобности кандидата за рад на предложеној теми

На основу досадашњег рада и постигнутих резултата током докторских студија, комисија оцењује да је кандидаткиња Верица Љубић, мастер инж. технологије, показала спретност и одређеност ка научно–истраживачком раду и стручним усавршавањима. У току експерименталног рада, показала је одговорност и самосталност у реализацији истраживања, као и обради добијених резултата. У области истраживања предложене теме, резултати се огледају кроз објављен рад у међународном часопису (M21) и више објављених саопштења међународног карактера (M33, M34). Комисија на основу свега наведеног сматра да Верица Љубић испуњава услове за рад на предложеној теми докторске дисертације.

2. Предмет и циљ истраживања

Један од главних еколошких проблема данашњице представља присуство токсичних јона метала у индустријским и комуналним отпадним водама. Тешки метали, који нису биоразградиви, имају особину акумулирања у животној средини и у људском телу и, као такви, представљају једну од главних група загађујућих материја животне средине. Олово, арсен, жива, бакар, никл, хром и кадмијум јесу најприсутнији тешки метали у животној средини, а сматрају се изазивачима многих тешких обољења које укључују: болести кардиоваскуларног система и бубрега, карциоме, гастроинтестиналне и неуролошке поремећаје(1–3). Поред познатих, конвенционалних поступака уклањања јона тешких метала из водених раствора, све више се истражују поступци биосорпције и адсорпције на различитим материјалима, који имају добре адсорпционе способности, велику ефикасност у уклањању тешких метала, нису штетни по околину и уједно су економични(4,5). У овој области, последњих година велику пажњу истраживача привлаче ектополисахариди (ЕПС), екстрацелуларни биополимери великих молекулских маса, које различити микроорганизми (алге, бактерије, квасци и гљиве) продукују у циљу свог раста и преживљавања у неповољним условима који их окружују. Најопсежније проучавани јесу бактеријски ектополисахариди, који због присуства различитих функционалних група имају велики афинитет према тешким металима(6). Осим тога, бактеријски ЕПС су доступни, биоразградиви и биокompatibilни, нетоксични и јефтини (не захтевају примену хемијских агенаса за лизу ћелија) и, са таквим својствима, применљиви су у различитим индустријама(7–11).

Досадашња истраживања и добијени резултати у овој области потврдили су добру ефикасност ектополисахарида различитих бактеријских сојева (нпр. *Bacillus cereus* sp., *Bacillus firmus*, *Paenibacillus jamilae*, *Serratia marcescens*, *Lactobacillus plantarum* sp., *Klebsiella* sp J1(12–16)), у свом нативном, немодификованом облику, у погледу уклањања

одређених тешких метала из воде. Бактеријски егзополисахариди се састоје из пентозних и хексозних шећера, уронских киселина, аминокиселина и органских и неорганских супституената и углавном су разгранате структуре. У свом саставу имају хидроксилне, аминокиселине, карбоксилне, тиолне и фосфорне функционалне групе које су погодне за интеракцију са катјонима.

Посебно интересантни међу егзополисахаридима јесу егзополисахариди које производе бактерије млечне киселине (БМК), с обзиром да су опште признате као безбедне (*Generally recognized as safe* - GRAS)(17–20). Иако су, као такви, најпогоднији за примену у прехранбеној, фармацеутској и хемијској индустрији, ЕПС бактерија млечне киселине све више налазе своје место у третману отпадних вода. У досадашњим истраживањима изоловано је и окарактерисано неколико егзополисахарида добијених из пробиотског рода *Lactobacillus* sp.: *Lactobacillus plantarum* KX041, *Lactobacillus cocyniformis* NA-3, *Lactobacillus acidophilus* 606, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus reuteri* (9,21–23) и др., при чему су описане и доказане њихове биолошке активности, њихови добри утицаји на људско здравље и њихов потенцијал за примену у медицини, фармацији и прехранбеној индустрији. У литератури до данас нема много објављених података о примени егзополисахарида бактерија млечне киселине као адсорбентата загађујућих материја (тешких метала) из водених раствора.

Последњих деценија велики број истраживања се бави бактеријским родом *Klebsiella* sp. који продукује велику количину егзополисахарида. Међу сојевима *Klebsiella* за ово истраживање интересантан је сој *Klebsiella oxytoca*, чија је ефикасност доказана у погледу адсорпције појединих токсичних катјона (Pb^{2+})(24) у предходним истраживањима. Ипак, и даље је недовољно истражен адсорпциони потенцијал егзополисахарида овог бактеријског соја према другим токсичним катјонима.

Међу тешким металима, никл се најчешће налази у контаминираним површинским и индустријским отпадним водама, услед прераде минерала, галванизације и производње батерија(25). У литератури нема много објављених података везаних за адсорпцију јона Ni^{2+} јона коришћењем биоматеријала на бази бактеријских егзополисахарида(26–28).

У складу са горе наведеним, предмет истраживања у предложеној докторској дисертацији је добијање нових егзополисахарида из пробиотског соја *Lactobacillus reuteri* B2 и соја *Klebsiella oxytoca* J7, њихова карактеризација и испитивање адсорпције јона никла на добијеним биоматеријалима. Адсорпциона истраживања биће обављена у шаржним условима, уз оптимизацију процесних параметара (почетне концентрације адсорбата, рН вредности, времена контакта, температуре и масе адсорбента), који могу имати велики утицај на процес уклањања тешких метала из раствора.

Научни циљеви истраживања у оквиру ове докторске дисертације су:

- добијање нових егзополисахарида из два аутохтона бактеријска соја (*Lactobacillus reuteri* B2 и *Klebsiella oxytoca* J7), изолованих из фецеса мишева C57BL/6 у претходним истраживањима (29);

- пречишћавање и лиофилизација добијених егзополисахарида, одређивање њихових приноса и њихово складиштење;

- анализа добијених и пречишћених егзополисахарида инструменталним методама (термогравиметријска анализа, рендгенска дифрактометрија, спектроскопска анализа, хроматографска анализа, метода нуклеарне магнетне резонанце, метода ласерске јонизације), са циљем што ближе карактеризације новог биоматеријала;

- испитивање биолошких својстава изолованих егзополисахарида (цитотоксична својства, антиоксидативна својства), као и потврда пробиотског својства соја *Lactobacillus reuteri* B2 на адхезивност према хуманим HT29 ћелијама;

- испитивање ефикасности ектополисахарида као биосорбента, у погледу уклањања јона тешких метала (Ni^{2+}) из водених раствора;
- утврђивање утицаја времена контакта, рН вредности, масе адсорбента и температуре на адсорпциона својства нових добијених биоадсорбената.

Најважнији литературни подаци на којима ће се заснивати истраживања су:

1. Mitra S., Chakraborty A. J., Tareq A. M., Emran T. Bin, Nainu F., Khusro A., Idris A. M., Khandakar M. U., Osman H., Alhumaydhi F. A., Simal – Gandara J.: *Impact of heavy metals on the environment and human health: Novel therapeutic insights to counter the toxicity*, Journal of King Saud University Science, Vol **34**, No 3, 2022, 101865. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2022.101865>
2. Balali-Mood M., Naseri K., Tahergorabi Z., Khazdair M. R., Sadeghi M.: *Toxic Mechanisms of Five Heavy Metals: Mercury, Lead, Chromium, Cadmium, and Arsenic*. Frontiers in Pharmacology. Frontiers Media S.A., Vol **12**, 2021, 643972. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.643972>
3. Renu K., Chakraborty R., Myakala H., Koti R., Famurewa A. C., Madhyastha H., Vellingiri B., George H., Gopalakrishnan A. V., *Molecular mechanism of heavy metals (Lead, Chromium, Arsenic, Mercury, Nickel and Cadmium) - induced hepatotoxicity – A review*, Chemosphere, Vol **271**, 2021, 129735. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.129735>
4. Raj K., Sardar U. R., Bhargavi E., Devi I., Bhunia B., Tiwari O. N., *Advances in exopolysaccharides based bioremediation of heavy metals in soil and water: A critical review*, Carbohydrate Polymers, Vol **199**, 2018, pp. 353–364. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.07.037>
5. Zeraatkar A. K., Ahmadzadeh H., Talebi A. F., Moheimani N. R., McHenry M. P.: *Potential use of algae for heavy metal bioremediation, a critical review*, Journal of Environmental Management, Vol **181**, 2016, pp. 817–831. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.06.059>
6. Kantar C., Demiray H., Dogan N. M., Dodge C.J.: *Role of microbial exopolymeric substances (EPS) on chromium sorption and transport in heterogeneous subsurface soils: I. Cr(III) complexation with EPS in aqueous solution*, Chemosphere, Vol **82**, No 10, 2011, pp. 1489–1495. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.01.009>
7. Hooshdar P., Kermanshahi R. K., Ghadam P., Khosravi-Darani K.: *A review on production of exopolysaccharide and biofilm in probiotics like lactobacilli and methods of analysis*, Biointerface Research in Applied Chemistry, Vol 10, No 5, 2020, pp. 6058–6075. <https://doi.org/10.33263/briac105.60586075>
8. Jurášková D., Ribeiro S. C., Silva C. C. G.: *Exopolysaccharides Produced by Lactic Acid Bacteria: From Biosynthesis to Health-Promoting Properties*, Foods, Vol **11**, No 2, 2022, 156. <https://doi.org/10.3390/foods11020156> (2022)

9. Werning M. L., Hernández-Alcántara A. M., Ruiz M. J., Soto L. P., Dueñas M. T., López P., Frizzo L. S.: *Biological Functions of Exopolysaccharides from Lactic Acid Bacteria and Their Potential Benefits for Humans and Farmed Animals*, Foods, Vol **11**, No 9, 2022, 1284. <https://doi.org/10.3390/foods11091284> (2022).
10. Mehta K., Shukla A., Saraf M.: *Articulating the exuberant intricacies of bacterial exopolysaccharides to purge environmental pollutants*, Heliyon, Vol **7**, 2021, e08446. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e08446> (2021).
11. Banerjee A., Sarkar S., Govil T., González-Faune P., Cabrera-Barjas G., Bandopadhyay R., Salem R. D., Sani R. K.: *Extremophilic Exopolysaccharides: Biotechnologies and Wastewater Remediation*, Frontiers in Microbiology. Frontiers Media S.A., Vol **12**, 2021, 721365. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.721365> (2021).
12. Wei W., Wang Q., Li A., Yang J., Ma F., Pi S., Wu D.: *Biosorption of Pb (II) from aqueous solution by extracellular polymeric substances extracted from Klebsiella sp. J1: Adsorption behavior and mechanism assessment*, Scientific Reports, Vol **6**, 2016, 31575. <https://doi.org/10.1038/srep31575> (2016).
13. Brdarić E., Soković Bajić S., Đokić J., Đurđić S., Ruas-Madiedo P., Stevanović M., Tolinački M., Dinić M., Mutić J., Golić N., Živković M.: *Protective Effect of an Exopolysaccharide Produced by Lactiplantibacillus plantarum BGA8 Against Cadmium-Induced Toxicity in Caco-2 Cells*, Frontiers in Microbiology, Vol **1**, No 12, 2021, 759378. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.759378> (2021).
14. Salehizadeh H., Shojaosadati S. A.: *Removal of metal ions from aqueous solution by polysaccharide produced from Bacillus firmus*, Water Research, Vol **37**, No 17, 2003, pp. 4231–4235. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(03\)00418-4](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(03)00418-4) (2003).
15. Morillo Pérez J. A., García-Ribera R., Quesada T., Aguilera M., Ramos-Cormenzana A., Monteoliva-Sánchez M.: *Biosorption of heavy metals by the exopolysaccharide produced by Paenibacillus jamilae*, World Journal of Microbiology Biotechnology, Vol **24**, No 11, 2008, 2699–2704. <https://doi.org/10.1007/s11274-008-9800-9> (2008).
16. Li C., Chen D., Ding J., Shi Z.: *A novel hetero-exopolysaccharide for the adsorption of methylene blue from aqueous solutions: Isotherm, kinetic, and mechanism studies*, Journal of Cleaner Production, Vol **265**, 2020, 121800. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.121800> (2020).
17. Tian J., Mao Q., Dong M., Wang X., Rui X., Zhang Q., Chen X., Li W.: *Structural characterization and antioxidant activity of exopolysaccharide from soybean whey fermented by Lacticaseibacillus plantarum 70810*, Foods, Vol **1**, No 11, 2021, pp. 2780. <https://doi.org/10.3390/foods10112780> (2021).
18. Abid Y., Casillo A., Gharsallah H., Joulak I., Lanzetta R., Corsaro M. M., Attia H. Azabou Samia.: *Production and structural characterization of exopolysaccharides from newly isolated probiotic lactic acid bacteria*,

International Journal of Biological Macromolecules, Vol **1**, No 108, 2018, pp. 719–728. <https://doi.org/10.3390/foods10112780> (2018).

19. Zhou Y., Cui Y., Qu X.: *Exopolysaccharides of lactic acid bacteria: Structure, bioactivity and associations: A review*, Carbohydrate Polymers, Vol **207**, 2019, pp. 317–332. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.11.093> (2019).
20. Sasikumar K., Kozhummal Vaikkath D., Devendra L., Nampoothiri K. M.: *An exopolysaccharide (EPS) from a Lactobacillus plantarum BR2 with potential benefits for making functional foods*, Bioresource Technology, Vol **241**, 2017, pp. 1152–1156. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.05.075> (2017).
21. Xu Y., Cui Y., Wang X., Yue F., Shan Y., Liu B., Zhou Y., Yi Y., Lu X.: *Purification, characterization and bioactivity of exopolysaccharides produced by Lactobacillus plantarum KX041*, International Journal of Biological Macromolecules, Vol **1**, No 128, 2019, pp. 480–492. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.01.117> (2019).
22. Choi S.S., Kim Y., Han K.S., You S., Oh S., Kim S.H.: *Effects of Lactobacillus strains on cancer cell proliferation and oxidative stress in vitro*, Letters in Applied Microbiology, Vol **42**, No 5, 2006, pp. 452–458. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2006.01913.x> (2006).
23. Xu X., Peng Q., Zhang Y., Tian D., Zhang P., Huang Y., Ma L., Qiao Y., Shi B.: *A novel exopolysaccharide produced by Lactobacillus coryniformis NA-3 exhibits antioxidant and biofilm-inhibiting properties in vitro*, Food & Nutrition Research, Vol **64**, 2020, 3744 <https://doi.org/10.29219/fnr.v64.3744> (2020).
24. Wei W., Wang Q., Li A., Yang J., Ma F., Pi S., Wu D.: *Biosorption of Pb (II) from aqueous solution by extracellular polymeric substances extracted from Klebsiella sp. J1: Adsorption behavior and mechanism assessment*, Scientific Reports, Vol **6**, 2016, 31575. <https://doi.org/10.1038/srep31575> (2016).
25. Fan X., Xia J., Long J.: *The potential of nonliving Sargassum hemiphyllum as a biosorbent for nickel(II) removal—isootherm, kinetics, and thermodynamics analysis*, Environmental Progress & Sustainable Energy, Vol **38**, No s1, 2019, pp. S250–S259. <https://doi.org/10.1002/ep.12997> (2019).
26. Lakzian A., Berenji A. R., Karimi E., Razavi S.: *Adsorption Capability of Lead, Nickel and Zinc by Exopolysaccharide and Dried Cell of Ensifer meliloti*, Asian Journal of Chemistry, Vol **20**, No 8, 2008, pp. 6075–6080. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-74553-4> (2008).
27. Pagliaccia B., Carretti E., Severi M., Berti D., Lubello C., Lotti T.: *Heavy metal biosorption by Extracellular Polymeric Substances (EPS) recovered from anammox granular sludge*, Journal of Hazardous Material, Vol **424**, Part C, 2022, 126661. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.126661> (2022).
28. Chug R., Mathur S., Kothari S. L., Harish, Gour V. S.: *Maximizing EPS production from Pseudomonas aeruginosa and its application in Cr and Ni*

sequestration, Biochemistry and Biophysics Reports, Vol **26**, 2021, 100972.
<https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2021.100972> (2021).

29. Popović M., Stojanović M., Veličković Z., Kovačević A., Miljković R., Mirković N., Marinković A.: *Characterization of potential probiotic strain, L. reuteri B2, and its microencapsulation using alginate-based biopolymers*, International Journal of Biological Macromolecules, Vol **183**, 2021, pp. 423–434. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.04.177> (2021).
30. Bajpai V. K., Majumder R., Rather I. A., Kim K.: *Extraction, isolation and purification of exopolysaccharide from lactic acid bacteria using ethanol precipitation method*, Bangladesh Journal of Pharmacology, Vol **11**, No 3, 2016, pp. 573–576. <https://doi.org/10.3329/bjp.v11i3.27170> (2016).

3. Полазне хипотезе

Полазне хипотезе за израду ове дисертације су:

- из аутохтоних сојева бактерија (*L. reuteri B2*, *K. Oxytoca J7*)(29), могу се изоловати нови егзополисахариди, применом метода објављених у литератури(30), и овако добијени нови биоматеријали имају потенцијал за уклањање катјонских загађујућих материја из водених раствора;
- нови егзополисахариди морају се пречистити и лиофилизовати ради лакшег складиштења, манипулације, карактеризације и извођења адсорпционих експеримената;
- добијени егзополисахариди садрже хидроксилне, аминок, карбоксилне, тиолне и фосфорне функционалне групе које су погодне за интеракцију са катјонским загађујућим материјама. Присуство ових група може бити утврђено применом различитих инструменталних метода, што ће детаљније окарактерисати и идентификовати нове биоматеријале;
- испитивање утицаја параметара адсорпционог процеса (почетне концентрације адсорбата, времена контакта, температуре и масе адсорбента) на адсорпциони капацитет нових биоматеријала у шаржним условима ће допринети квалитативном и квантитативном описивању процеса адсорпције, као и разумевању и дефинисању механизма адсорпције, кинетике и термодинамике адсорпције.

4. Научне методе истраживања

Култивација бактеријских сојева и екстракција егзополисахарида ће се вршити на специфичним подлогама. Након изолова, добијени егзополисахариди ће бити пречишћени, лиофилизовани и складиштени на 4°C до првих експеримената.

Биолошка својства нових биоматеријала биће одређена следећим тестовима:

- МТТ тестом, са [3-(4,5-диметилтиазол-5-ил)-2,5-дифенилтетразолијум бромидом] биће одређена цитотоксичност егзополисахарида;
- АВТС тестом, са 2'2-азино-бис-(3-етилбензотиазолин-6-сулфонском киселином) биће одређена антиоксидативна активност егзополисахарида.

Карактеризација нових биоматеријала - егзополисахарида биће одређена применом следећих техника:

- скенирајуће електронске микроскопије (FE–SEM),
- рендгенске дифракционе анализе (XRD),

- инфрацрвене спектроскопије са Фуријеовом трансформацијом (FTIR),
- термогравиметријске анализе (TG–DTG),
- нуклеарне магнетне резонанце (NMR) и
- матрицом потпомогнутом ласерском десорпцијом/јонизацијом са масеном спектроскопијом (MALDI-TOF/TOF-MS).

Адсорпција јона Ni^{2+} ће бити испитивана у шаржним условима, при различитим параметрима процеса (утицај времена, температуре, pH, дозе адсорбента, концентрације испитиваног метала). Концентрације тешких метала у воденом раствору пре и након уравнотежавања биће одређене применом атомске апсорпционе спектроскопије (AAS). Тачка нултог наелектрисања биће одређена уравнотежавањем посебних проба. Процес адсорпције у равнотежном стању биће описан применом следећих модела адсорпционих изотерми: Лангмир (Langmuir) и Фројндлих (Freundlich). У циљу одређивања механизма адсорпције и времена потребног да систем достигне равнотежу биће коришћени кинетички модели: модел псеудо–првог реда (Lagergreen) и модел псеудо–другог реда (Ho–McKay).

5. Очекивани научни допринос

Очекивани научни допринос се огледа у следећем:

- добијање нових, јединствених адсорпционих материјала на бази егзополисахарида изолованих из бактеријских сојева *Lactobacillus reuteri B2* и *Klebsiella oxytoca J7*, прихватљивих са становишта примене и еколошке тачке гледишта, са добрим адсорпционим својствима у процесу уклањања јона метала Ni^{2+} из водених раствора;
- дефинисање биолошких својства нових егзополисахарида применом експерименталних метода: методе одређивања антиоксидативне активности, колориметријског одређивања шећера у саставу, методе одређивања цитотоксичности, методе одређивања адхезионе способности везивања (за потврђивање пробиотских својстава соја *L. reuteri B2*).
- дефинисање морфолошких и површинских својства нових адсорпционих биоматеријала применом инструменталних метода (FTIR, SEM, XRD, NMR, TG/DTG, MALDI-TOF/TOF-MS) у погледу дефинисања фазног састава, молекулске масе, термостабилности и идентификације функционалних група;
- тумачење утицаја параметара процеса адсорпције на ефикасност уклањања јона метала Ni^{2+} из водених раствора и дефинисање оптималних услова за извођење адсорпције; дефинисање кинетике и термодинамике процеса адсорпције;
- објашњење механизма адсорпције токсичних јона метала на новим биоматеријалима.

6. План истраживања и структура рада

Предмет рада ове докторске дисертације је добијање нових биоматеријала – егзополисахарида изолованих из два бактеријска соја, једног пробиотског (*Lactobacillus reuteri* B2) и једног патогеног (*Klebsiella oxytoca* J7), добијених из истог извора (фецес миша C57BL/6), њихова карактеризација, испитивање њихових потенцијала за примену у уклањању јона тешких метала (Ni^{2+}) из водених раствора и оптимизација параметара адсорпције у циљу дефинисања најбољих услова адсорпције.

У оквиру предложене докторске дисертације биће обрађена следећа поглавља: Увод, Теоријски део, Експериментални део, Резултати и дискусија, Закључак и Литература. У поглављу Увод биће сумирани подручје испитивања, предмет и циљеви истраживања.

Поглавље Теоријски део обухватиће преглед постигнутих истраживања из области дисертације. Биће детаљно анализирана литература о:

- утицају тешких метала на животну средину;
- поступцима уклањања токсичних јона метала из воде;
- пореклу, саставу и значају егзополисахарида;
- постојећим природним адсорбентима на бази бактеријских егзополисахарида који се користе за уклањање токсичних јона из водених раствора;
- експерименталним и инструменталним методама које се могу примењивати за идентификацију и карактеризацију адсорпционих материјала;
- адсорпцији, адсорпционој равнотежи, адсорпционим изотермама.

У Експерименталном делу биће наведени материјали и методе коришћене у експерименталном раду. Такође, овај део рада ће обухватити:

- комплетан поступак добијања егзополисахарида из бактеријских сојева *Lactobacillus reuteri* B2 и *Klebsiella oxytoca* J7, од узгоја бактеријских култура до пречишћавања, лиофилизације и складиштења егзополисахарида;
- комплетне поступке анализе добијених егзополисахарида примењеним инструменталним и експерименталним методама, са циљем њихове физичко-хемијске карактеризације;
- испитивање адсорпције јона Ni^{2+} на егзополисахаридима; испитивање кинетике, термодинамике и механизма адсорпције, као и одређивање адсорпционих изотерми на различитим температурама.

У поглављу Резултати и дискусија биће приказани и дискутовани резултати истраживања усмерени на својства и адсорпциону ефикасност добијених егзополисахарида из два бактеријска соја. У Закључку ће бити сумирани сви постигнути резултати добијени на основу испитивања и биће истакнута њихова примена и иновативност. Литература ће садржати наводе цитиране у дисертацији.

7. Закључак и предлог

На основу података о досадашњем раду и постигнутим резултатима, Комисија сматра да кандидат Верица Љубић, мастер инжењер технологије, испуњава све услове за израду докторске дисертације. Такође, Комисија сматра да је тема дисертације научно заснована али да назив теме **"Добијање, карактеризација и примена егзополисахарида изолованих из бактеријских сојева, *Lactobacillus reuteri* B2 и *Klebsiella oxytoca* J7"** треба променити у назив **"Егзополисахариди из бактеријских сојева *Lactobacillus***

reuteri B2 и Klebsiella oxytoca J7: изоловање, карактеризација и примена за уклањање тешких метала из воде" и предлаже Наставно–научном већу да је прихвати. За менторе се предлажу др Катарина Тривунац, доцент Универзитета у Београду, Технолошко-металуршки факултет и др Мина Поповић, научни сарадник Универзитета у Београду, Институт за хемију, технологију и металургију - Институт од националног значаја за Републику Србију. Истраживања у оквиру ове докторске дисертације припадају научној области Технолошко инжењерство, ужа област Хемијско инжењерство, за коју је Технолошко-металуршки факултет Универзитета у Београду матична установа.

Београд, 16.12.2022. године

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ:

Др Катарина Тривунац, доцент
Универзитета у Београду, Технолошко-металуршки факултет

Др Мина Поповић, научни сарадник
Универзитета у Београду, Институт за хемију, технологију и металургију,
Институт од националног значаја за Републику Србију

Др Рада Петровић, редовни професор
Универзитета у Београду, Технолошко-металуршки факултет

Др Милан Миливојевић, ванредни професор
Универзитета у Београду, Технолошко-металуршки факултет

Др Слободан Цветковић, виши научни сарадник
Универзитета у Београду, Институт за хемију, технологију и металургију,
Институт од националног значаја за Републику Србију
