

Факултет ТЕХНОЛОШКО-
МЕТАЛУРШКИ

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ

35/210

Веће научних области техничких наука

(Број захтева)

(Назив већа научне области коме се захтев
упућује)

2. 9. 2024.

(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:

Развој имобилисаних биокатализатора са наноцелулозним носачима за примену у
валоризацији нуспроизвода индустрије хране

(пун назив предложене теме докторске дисертације)

НАУЧНА ОБЛАСТ ТЕХНОЛОШКО ИНЖЕЊЕРСТВО

ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ:

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

Катарина (Дејан) Катић

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

Универзитет у Београду,

Технолошко-металуршки факултет, Мастер студије, Мастер инжењер технологије

3. Година завршетка
претходног нивоа студија: 2018.

4. Година уписа на докторске студије: 2018.

5. Назив студијског програма
докторских студија:

Биохемијско инжењерство и биотехнологија

ПОДАЦИ О МЕНТОРУ 1:

Име и презиме ментора: др Дејан Безбрадица

Звање: Редовни професор Универзитета у Београду, Технолошко-металуршки факултет

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације:

1. Milivojević A., Ćorović M., Simović M., Banjanac K., Pjanović R., **Bezbradica D.** (2022) Evaluation of *In Vitro* Skin Permeation of Enzymatically Synthesized Phloridzin Acetates from Emulsions and Liposomes Dispersed in Gel. *European Journal of Lipid Science and Technology* 124: 2200073 (ISSN 1438-7697; IF=3,196). DOI: 10.1002/ejlt.202200073
2. Milivojević A., Ćorović M., Simović M., Banjanac K., **Bezbradica D.** (2020) Flavonoid esters synthesis using novel biocatalytic systems - CAL B immobilized onto LifeTech™ ECR supports. *Biochemical Engineering Journal* 163: 107748 (ISSN: 1369-703X; IF=3,475). DOI: 10.1016/j.bej.2020.107748
3. Veljković M., Stepanović R., Banjanac K., Ćorović M., Milivojević A., Simović M., Milivojević M., **Bezbradica D.** (2023) Continuous production of fructo-oligosaccharides using selectively immobilized fructosyltransferase from *Aspergillus aculeatus* onto Purolite® A109. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* 117: 149-156. (ISSN 1226-086X; IF= 6,760). DOI: 10.1016/j.jiec.2022.09.051
4. Veličković D., Zhang G., **Bezbradica D.**, Bhattacharjee A., Paša-Tolić Lj., Sharma K., Alexandrov T., Anderton C.R. (2020) Response Surface Methodology As a New Approach for Finding Optimal MALDI Matrix Spraying Parameters for Mass Spectrometry Imaging. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* 31: 508-516. (ISSN 1044-0305; IF=3,262). DOI: 10.1021/jasms.9b00074
5. Andreu A., Ćorović M., Garcia-Sanz C., Santos A.S., Milivojević A., Ortega-Nieto C., Mateo C., **Bezbradica D.**, Palomo J.M. (2023) Enzymatic Glycosylation Strategies in the Production of Bioactive Compounds. *Catalysts* 13: 1359. (ISSN: 2073-4344; IF=4,501). DOI: 10.3390/catal13101359

ДЕКАН ФАКУЛТЕТА

Проф. др Петар Ускоковић

ПОДАЦИ О МЕНТОРУ 2:

Име и презиме ментора: др Катарина Бањанац

Звање: виши научни сарадник Иновационог центра Технолошко-металуршког факултета

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације:

1. Salih R., **Banjanac K.**, Vukoičić A., Grzetić J., Popovic A., Veljković M., Bezbradica D., Marinković A: *Acrylic modified kraft lignin microspheres as novel support for immobilization of laccase from M. thermophila expressed in A. oryzae (Novozym® 51003) and application in degradation of anthraquinone textile dyes*, - Journal of Environmental Chemical Engineering, Vol. 11, 2023, 109077. (ISSN 2213-2929, IF(2023)=7,400); <https://doi.org/10.1016/j.jece.2022.109077>
2. Veljković M., Simović M., **Banjanac K.**, Ćorović M., Milivojević A., Milivojević M., Bezbradica D: *Heterofunctional epoxy support development for immobilization of fructosyltransferase from Pectinex® Ultra SP-L: batch and continuous production of fructo-oligosaccharides*, - Reaction Chemistry and Engineering, Vol. 7, 2022, pp. 2518-2526. (ISSN 2058-9883, IF(2022)=4,560); <https://doi.org/10.1039/d2re00182a>
3. Bebić J., **Banjanac K.**, Rusmirović J., Ćorović M., Milivojević A., Simović M., Marinković A., Bezbradica D.: *Amino-modified kraft lignin microspheres as a support for enzyme immobilization*, - RSC Advances, Vol. 10, No. 36, 2020, pp. 21495-21508. (ISSN 2046-2069, IF(2020)=3,240); <https://doi.org/10.1039/D0RA03439H>
4. Miljković M., Lazić V., **Banjanac K.**, Davidović S., Bezbradica D., Marinković A., Sredojević D., Nedeljković J., Dimitrijević Branković S.: *Immobilization of dextranase on functionalized TiO₂ supports*, - International Journal of Biological Macromolecules, Vol. 114, 2018, pp. 1216-1223 (ISSN 0141-8130, IF(2018)=4,784); <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.04.027>
5. **Banjanac K.**, Carević M., Ćorović M., Milivojević A., Prlainović N., Marinković A., Bezbradica D.: *Novel β -galactosidase nanobiocatalyst systems for application in the synthesis of bioactive galactosides*, - RSC Advances, Vol. 6, 2016, pp. 97216 - 97225 (ISSN 2046-2069, IF(2016)=3,108); <https://doi.org/10.1039/C6RA20409K>

ДЕКАН ФАКУЛТЕТА

Проф. др Петар Ускоковић

- 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

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. 43. Правилника о докторским студијама ТМФ-а на седници Наставно-научног већа Технолошко-металуршког факултета од 28.8.2024. 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 **Катарине Катић**, број индекса 4024/18, под називом: **„Развој имобилисаних биокатализатора са наноцелулозним носачима за примену у валоризацији нуспроизвода индустрије хране“**.

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

За менторе се одређују др Дејан Безбрадица, редовни професор Универзитета у Београду, Технолошко-металуршки факултет и др Катарина Бађанац, виши научни сарадник Иновационог центра Технолошко-металуршког факултета.

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 кандидата Катарине Катић, мастер инжењера технологије, за израду докторске дисертације

Одлуком Наставно-научног већа Технолошко-металуршког факултета бр. 35/172 од 03.07.2024. године, именовани смо за чланове Комисије за оцену подобности теме и кандидата Катарине Катић за израду докторске дисертације и научне заснованости теме **„Развој имобилисаних биокатализатора са наноцелулозним носачима за примену у валоризацији нуспроизвода индустрије хране“**

На основу материјала приложеног уз Захтев кандидата, Комисија подноси следећи

РЕФЕРАТ

1. Подаци о кандидату

1.1. Биографски подаци

Катарина Катић, мастер инжењер технологије, рођена је 17. октобра 1994. године у Београду, где је завршила основну школу „Владислав Рибникар“. Након тога, школовање је наставила у Медицинској школи на Звездари, где је завршила смер за лабораторијског техничара са одличним успехом. Основне академске студије на Технолошко-металуршком факултету Универзитета у Београду уписала је 2013. године на студијском програму Биохемијско инжењерство и биотехнологија. Дипломирала је у августу 2017. године са просечном оценом 8,65 и оценом 10 на завршном раду под називом „Анализа процеса ферментације сунцокретовете сачме у циљу добијања високопротеинске хране за животиње методама молекуларне микробиологије“. Мастер академске студије на Технолошко-металуршком факултету уписала је 2017. године на студијском програму Биохемијско инжењерство и положила све испите предвиђене планом и програмом мастер академских студија са просечном оценом 9,38. Завршни мастер рад под називом „Добијање ферментисаних производа од соје применом пробиотске бактерије *Lactobacillus amylovorus*“ одбранила је у августу 2018. године са оценом 10 и тиме стекла звање Мастер инжењер технологије – мастер инжењер биотехнологије. Докторске академске студије на Катедри за биохемијско инжењерство и биотехнологију под менторством проф. др Дејана Безбрадице уписала је школске 2018/2019 године. Изабрана је у

звање истраживач-приправник 05.11.2019. године, и од новембра 2018. године до јула 2021. била је запослена у Институту за хигијену и технологију меса истраживач-приправник на пројекту Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије под називом „Развој нових инкапсулационих и ензимских технологија за производњу биокатализатора и биолошки активних компонената хране у циљу повећања њене конкурентности, квалитета и безбедности“ (ИИИ 46010). Од јула 2021. године се запослила у Словенији у развојно-иновационој фирми „Bio-ReCell“ (Љубљана, Словенија) као развојни истраживач, где ради до данас.

1.2. Сечено научноистраживачко искуство

Катарина Катић је положила све испите предвиђене планом и програмом докторских академских студија Технолошко-металуршког факултета у Београду са просечном оценом 9,82 и одбранила завршни испит са називом „Примена биотехнолошких поступака са циљем трансформисања сунцокретоуе сачме у вредније производе“.

Преглед положених испита на докторским академским студијама са оценама и ЕСПБ бодовима:

Назив предмета	Оцена	ЕСПБ
Одабрана поглавља нумеричке анализе	10	5
Хемијска кинетика	9	5
Биохемијска кинетика	10	5
Одабрани мембрански процеси	10	5
Одабрана поглавља биохемије-витамини	10	5
Зелена хемија	10	5
Имобилисани биокатализатори: технике имобилизације, биореактори и примена	10	6
Биоактивне материје у козметичким производима	10	4
Индустријска микробиологија	9	5
Пројектовање биолошких процеса пречишћавања отпадних вода	10	5
Енглески језик	10	/
Завршни испит	10	30
Укупно	9,82	80

У оквиру научно-истраживачког рада, Катарина Катић се бавила истраживањима у области имобилизације ензима и њихове примене у обради отпадних материја прехранбене индустрије. На основу досадашњих истраживања и резултата, проистекао је један рад у врхунском међународном часопису (M21), један рад у истакнутом међународном часопису (M22), један рад у националном часопису међународног значаја (M24) и једно саопштење са међународног скупа штампано у целини (M33).

Објављени научни радови и саопштења:

Категорија M21 (Радови у врхунским међународним часописима):

1. **Katić K.**, Banjanac K., Simović M., Veljković M., Ćorović M., Denić L., Zakić T., Kralj S., Bezbradica D. Nanobiocatalyst based on covalent immobilization of proteases onto functionalized nanocellulose for efficient production of sunflower meal protein hydrolysates,

Категорија M22 (Радови у истакнутим међународним часописима):

1. **Katić K.**, Banjanac K., Simović M., Čorović M., Milivojević A., Marinković A., Bezbradica D. Development of protease nanobiocatalysts and their application in hydrolysis of sunflower meal protein isolate, International Journal of Food Science and Technology, 2021, vol. 56, pp. 4287-4297. (IF(2021)= 3,612; ISSN: 0950-5423)) <https://doi.org/10.1111/ijfs.15189>

Категорија M24 (Радови у националним часописима међународног значаја):

1. Čorović M., Simović M., Milivojević A., Banjanac K., **Katić K.**, Bezbradica, D., Immobilization of *Aspergillus niger* cellulase onto Lifetech™ carriers and its application in the hydrolysis of sunflower seed meal lignocellulosic fraction, Food and Feed Research, 2019, vol. 46, pp. 161-169. (IF(2019)=0,568; ISSN: 2217-5369)
<https://doi.org/10.5937/FFR1902161C>

Категорија M33 (Саопштења са међународних скупова штампана у целини):

1. Veljković M., Petrov A., Simović M., Banjanac K., Mitrušić A., **Katić K.**, Marinković A., Development of fructosyltransferase nanobiocatalyst systems for application in synthesis of bioactive fructo-oligosaccharides, – VII International Congress, “Engineering, environment and materials in process industry EEM2021, 17-19 March, Jahorina, Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina, 2021., pp. 314-325. (ISBN: 978-99955-81-40-4)

1.3. Оцена подобности кандидата за рад на предложеној теми

На основу досадашњег рада и показаних резултата током последипломских студија, Катарина Катић, мастер инжењер технологије, показала је склоност и изразиту способност за бављење научно-истраживачким радом. Истраживање на предложеној теми докторске дисертације укључује развој и оптимизацију метода имобилизације различитих хидролитичких ензима на нано-носаче и њихову примену при обради нуспроизвода прехранбене индустрије, а кандидаткиња је стекла значајно искуство и вештине неопходне за ове експерименталне активности током израде завршног рада и мастер рада.

У области истраживања била је коаутор једног рада у врхунском међународном часопису (M21), једног рад у истакнутом међународном часопису (M22), једног рада у националном часопису од међународног значаја (M24) и једног саопштења са међународног скупа штампано у целини (M33). На основу свега наведеног, Комисија закључује да кандидат испуњава услове за рад на предложеној теми докторске дисертације.

2. Предмет и циљ истраживања

Предмет истраживања ове дисертације биће развој нових биокатализатора (ксиланаза, протеаза и пектиназа) имобилизацијом на биообновљиви носач наноцелулозу. Ови биокатализатори су значајни из аспекта развоја савремених биорафинеријских процеса јер могу да се примене у трансформацији компонената нуспроизвода индустрије хране у функционалне компоненте нових производа и тиме допринесу развоју и примени концепта циркуларне биоекономије.

Током последњих година, циркуларна биоекономија и обрада отпадних материјала ради добијања производа са додатом вредношћу је у фокусу како у научном, тако и у привредном сектору [1]. Нуспроизводи и отпад индустријске прераде различитих биљних сировина углавном су недовољно искоришћени јер се тежи поновној примени на што једноставнији начин, уз минималан број примењених технолошких операција и њихову минималну

сложеност, па се понекад примењују минимално процесирани нуспроизводи, најчешће као компонента хране за животиње. Недостатак овог вида примене је непотпуно искоришћење потенцијала ових сировина, с обзиром да за сваку од компонената (угљени хидрати, протеини, липиди, фенолна једињења, антиоксиданти, витамини...) постоје специфичне области примене у којима се, директно или након модификације, може искористити њихово физиолошко дејство у храни или козметичким производима. Зато се у новије време развијају процеси фракционисања ових отпадних сировина са циљем добијања фракција које већ након изоловања или након накнадног модификовања могу да се примене као физиолошки активне компоненте различитих производа [2, 3]. Из аспекта утицаја процеса фракционисања на животну средину пожељно је да се смањи употреба хемијских агенаса за екстракцију ових компонената и да се развијају процеси у којима ће бар поједини кораци фракционисања или модификовања бити засновани на примени ензима. Зато ће у фокусу истраживања ове докторске дисертације бити имобилизација ензима (ксиланазе, протеазе и пектиназе) који имају највећу перспективу за примену у ензимски потпомогнутом фракционисању отпадних биљних сировина и добијању производа који поседују физиолошку активност или побољшана функционална својства захваљујући каталитичком дејству ових ензима које се испољава у хидролизи полисахарида и протеина.

У оквиру ове докторске дисертације добијени имобилисани ензими биће примењени у валоризацији нуспроизвода уљарске индустрије (сачме) и погача добијених након цеђења бобичастог воћа. Сунцокретова сачма је нуспроизвод прехранбене индустрије, који настаје у току производње сунцокретовог уља, и као таква представља отпад са високом вредношћу, пошто се њеном обрадом могу добити нови производи [1]. Сунцокретова сачма садржи значајан удео протеина, као и разних сложених угљених хидрата (хемицелулоза, целулоза, пектин) који су недовољно искоришћени, и третирају се или као отпад или се необрађени додају у премиксе за прехрану животиња, чиме се не користи њихов пун потенцијал [4]. Поред сунцокретове сачме, значајне су и репичина сачма која настаје у току производње репичиног уља и погача добијена после пресовања црне рибизле. Репичина сачма је једна од ретких уљарица које садрже висок удео пектинских материја који се могу даље обрадити [5]. Погача добијена после пресовања црне рибизле је такође богата пектином, слично као и други нуспроизводи добијени након пресовања бобичастог воћа, те она представља пример воћних нуспроизвода који се могу ензимски обрадити и тако користити за добијање производа са додатом вредношћу [6]. Хидролиза протеинске фракције протеазама се може искористити за добијање протеинских хидролизата различитих састава, за које је доказано да имају одређена биоактивна својства. Ови хидролизати се могу уврстити у људску исхрану, чиме се може повећати квалитет, функционална и нутритивна вредност прехранбених производа добијених из биљних протеина [7]. Хидролиза ксилана ензимима ксиланазама омогућава добијање ксилоолигосахарида, за које се сматра да могу испољавати пребиотска својста [8]. Слично томе, хидролиза пектина може резултирати добијањем пектинских олигосахарида који су такође интересантни са аспекта истраживања њихових пребиотских својстава [9]. Ови олигосахариди повољно утичу на цревну микробиоту, тако да се могу користити у капсулама као додаци исхрани или као додатне компоненте у прехранбеним производима [8, 9].

Имобилизација ензима се често користи у прехранбеној индустрији, пре свега да би се олакшало издвајање ензима од финалног производа. Имобилисани ензими имају одређене предности у односу на коришћење раствора ензима, а неке од њих су: могућност поновног коришћења имобилисаног ензима, лако издвајање ензима од производа, као и уклањање потребе за термичким третманом добијених производа пошто се ензим након реакције не мора деактивирати, већ се може издвојити центрифугирањем, филтрацијом или неком другом техником сепарације чврсто/течно [10]. Ковалентном имобилизацијом се омогућава лакше

пречишћавање добијених прехранбених производа и смањује ризик од контаминације реакционе смеше ензимима пошто је ензим чврсто везан за носач, те је нарочито погодна за добијање имобилисаних ензима за примену у индустрији хране [11]. У новије време наноматеријали се сматрају погодним носачима за имобилизацију ензима због велике специфичне површине која омогућава постизање високих специфичних активности ензима, при чему су они који се могу добити из обновљивих сировина изразито атрактивни за развој нових биокатализатора јер се уклапају у концепт циркуларне економије. Наноцелулоза се истиче својим јединственим физичко-хемијским својствима као што су висока специфична површина, изванредна механичка својства и поседовање функционалних група погодних за хемијску модификацију, што је чини идеалним носачем за имобилизацију ензима [12]. Наноцелулоза је биоразградљива и може се добити из лигноцелулозних сировина које су обновљиве и недовољне искоришћене, па је еколошки прихватљивија у односу на друге носаче што додатно подстиче њену употребу у развоју еколошки одрживих технологија. Ове карактеристике наноцелулозе омогућавају коришћење у различитим индустријским процесима, смањујући еколошки отисак у односу на друге носаче као што су синтетички полимери или силика. Изузетна механичка стабилност и хемијска отпорност, су особине посебно значајне код одабира носача добијених из природних и обновљивих материјала [13]. Површина наноцелулозе се може лако модификовати са различитим хемијским групама, што омогућава прилагођавање својстава носача специфичним потребама различитих ензима и реакција, што је од посебног значаја за испитивање имобилизације ензима методом ковалентног везивања [14]. Још један значајан аспект је економска исплативост наноцелулозе, која се може добијати из обновљивих извора као што су биљни отпад и целулозни материјали релативно једноставним методама, редукцијом величине влакана целулозе [13]. Економска и еколошка одрживост овог материјала заједно са претходно описаним карактеристикама чине га идеалним носачем за имобилизацију ензима погодним за примену у различитим индустријским и истраживачким процесима.

Циљ ове дисертације је добијање еколошких и биообновљивих носача од наноцелулозе, и развој имобилисаних биокатализатора на наноцелулозним носачима, као и испитивање њихове потенцијалне примене у процесу обраде протеинске, хемицелулозне и пектинске фракције нуспроизвода индустрије хране - сунцокретовете сачме, репичине сачме и погаче добијене после пресовања црне рибизле. Из ове дисертације ће проистећи методе за добијање и модификацију наноцелулозних носача погодних за ензимску имобилизацију, са посебним освртом на оптимизовање метода имобилизације ензима који се користе за валоризацију претходно описаних сировина са циљем добијања протеинских хидролизата, ксилоолигосахарида и пектинских олигосахарида употребом ензима имобилисаних на носаче на бази наноцелулозе.

У првом делу истраживања биће испитана метода за добијање носача од целулозе, који се добијају од микрокристалне целулозе (величина честица 20 μm), коришћењем сумпорне киселине [14]. Наноцелулозни носачи ће бити модификовани, да би се омогућила ковалентна имобилизација ензима, применом две различите хемијске методе: оксидацијом наноцелулозе натријум-перјодатном киселином (NaIO_4) чиме се стварају алдехидне групе на површини носача, и кондензацијском реакцијом са аминосиланом ((3-аминопропил)-триетокси силан) како би се добиле амино групе на површини наноцелулозе [14]. Добијени наноцелулозни носачи ће бити окарактерисани савременим методама карактеризације наноматеријала као што су трансмисиона електронска микроскопија (ТЕМ), скенирајућа електронска микроскопија (SEM), и Фуријеова трансформисана инфрацрвена спектроскопија (FTIR) [15]. Затим ће добијени нано-носачи бити искоришћени за ковалентну имобилизацију две комерцијалне протеазе (Alcalase[®] 2.4L и Flavourzyme[®]), комерцијалног препарата ксиланазе (Rohalase[®] SEP-VISCO) као и комерцијалног препарата пектиназе (Pectinex[®] Ultra SP-L). Ефикасност

имобилизације биће праћена стандардним спектрофотометријским методама са комерцијалним супстратима (азо-казеин и L-леуцин *p*-нитроанилид за испитивање протеолитичке активности, ксилан изолован из букве за испитивање ксиланазне активности и пектин изолован из јабуке за испитивање пектиназне активности). Добијени протеински хидролизати ће бити окарактерисани методом реверзно-фазне течне хроматографије високих перформанси (RP-HPLC) као и натријум додецил сулфат–електрофорезом у полиакриламидном гелу (SDS-PAGE). Производи хидролизе ксилана из хемицелулозне фракције сунцокрете сачме и хидролизе пектина из репичине сачме и погаче добијене после пресовања црне рибизле ће бити окарактерисани методом течне хроматографије високих перформанси (HPLC), методом гасне хроматографије - масене спектроскопије (GC-MS) као и методом гел-пермеационе хроматографије како би се идентификовале молекулске масе компонената добијене смеше олигосахарида.

Очекује се да ће истраживање у току ове дисертације резултирати добијањем наноцелулозних биокатализатора погодних за примену у обради нуспроизвода индустрије за добијање функционалних једињења, односно протеинских хидролизата са високим нутритивним и биоактивним својствима и ксилолигосахарида и пектинских олигосахарида са пребиотским ефектом. Примена имобилисаних ензима добијених применом биообновљивих наноцелулозних носача допринеће економичности и одрживости процеса и дати подстицај за примену овог приступа усмереног ка ефикаснијем искоришћењу нуспроизвода прехранбене индустрије који доприноси економичнијем и еколошки одрживијем моделу производње.

Последњих година објављени су резултати бројних истраживања која се, из различитих аспеката, баве овом проблематиком. У даљем тексту наведени су само најважнији који представљају основу за истраживања у оквиру ове докторске дисертације:

Литература

- [1] J.G. de Oliveira Filho, M.B. Egea, Sunflower seed byproduct and its fractions for food application: An attempt to improve the sustainability of the oil process, *J Food Sci* 86(5) (2021) 1497-1510.
- [2] G.B. Bamigbade, A.J. Subhash, A. Kamal-Eldin, L. Nyström, M. Ayyash, An Updated Review on Prebiotics: Insights on Potentials of Food Seeds Waste as Source of Potential Prebiotics, *Molecules*, 2022.
- [3] S.M. Ahsan, H.W. Choi, M. Injamum-Ul-Hoque, M. Mezanur Rahman, T.H. Hritik, A.G.M.S.U. Mahamud, A. Sarker, T.R. Tusher, Valorization of Agro-food Wastes and Byproducts into Bioactive Peptides, in: S.P. Saha, D. Mazumdar, S. Roy, P. Mathur (Eds.), *Agro-waste to Microbe Assisted Value Added Product: Challenges and Future Prospects: Recent Developments in Agro-waste Valorization Research*, Springer Nature Switzerland, Cham, 2024, pp. 61-92.
- [4] M. Simović, K. Banjanac, M. Veljković, V. Nikolić, P. Lopez-Revenga, A. Montilla, F.J. Moreno, D. Bezbradica, Sunflower meal valorization through enzyme-aided fractionation and production of emerging prebiotics, 2024.
- [5] H.-S. Jeong, H.-Y. Kim, S.H. Ahn, S.C. Oh, I. Yang, I.-G. Choi, Effects of combination processes on the extraction of pectins from rapeseed cake (*Brassica napus* L.), *Food Chemistry* 139(1) (2013) 9-15.
- [6] K. Alba, W. MacNaughtan, A.P. Laws, T.J. Foster, G.M. Campbell, V. Kontogiorgos, Fractionation and characterisation of dietary fibre from blackcurrant pomace, *Food Hydrocolloids* 81 (2018) 398-408.
- [7] F. Taha, G. Yamamah, G.F. Mohamed, S.S. Mohamed, S.M. Wagdy, Biological activities of sunflower protein hydrolysate, *World Applied Sciences Journal* 30 (2014) 1462-1470.

- [8] R.D. Singh, J. Banerjee, A. Arora, Prebiotic potential of oligosaccharides: A focus on xylan derived oligosaccharides, *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre* 5(1) (2015) 19-30.
- [9] N. Babbar, W. Dejonghe, M. Gatti, S. Sforza, K. Elst, Pectic oligosaccharides from agricultural by-products: production, characterization and health benefits, *Critical reviews in biotechnology* 36 (2015) 1-13.
- [10] H.J. Kim, S. Park, S.H. Kim, J.H. Kim, H. Yu, H.J. Kim, Y.-H. Yang, E. Kan, Y.H. Kim, S.H. Lee, Biocompatible cellulose nanocrystals as supports to immobilize lipase, *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* 122 (2015) 170-178.
- [11] S. Sulaiman, M.N. Mokhtar, M.N. Naim, A.S. Baharuddin, A. Sulaiman, A Review: Potential Usage of Cellulose Nanofibers (CNF) for Enzyme Immobilization via Covalent Interactions, *Applied Biochemistry and Biotechnology* 175(4) (2015) 1817-1842.
- [12] Y. Habibi, L.A. Lucia, O.J. Rojas, Cellulose Nanocrystals: Chemistry, Self-Assembly, and Applications, *Chemical Reviews* 110(6) (2010) 3479-3500.
- [13] A. Randhawa, S.D. Dutta, K. Ganguly, T.V. Patil, D.K. Patel, K.-T. Lim, A Review of Properties of Nanocellulose, Its Synthesis, and Potential in Biomedical Applications, *Applied Sciences*, 2022.
- [14] M. Fernandes, C. Alves, L. Melro, R.D.V. Fernandes, J. Padrão, A.J. Salgado, A. Zille, Modification of Nanocellulose, in: S. Thomas, M. Hosur, D. Pasquini, C. Jose Chirayil (Eds.), *Handbook of Biomass*, Springer Nature Singapore, Singapore, 2023, pp. 1-39.
- [15] C. Hu, Y. Zhou, T. Zhang, T. Jiang, C. Meng, G. Zeng, Morphological, Thermal, Mechanical, and Optical Properties of Hybrid Nanocellulose Film Containing Cellulose Nanofiber and Cellulose Nanocrystals, *Fibers and Polymers* 22(8) (2021) 2187-2193.

3. Полазне хипотезе

Последњих година расте свест у друштву о потреби да се примене концепти циркуларне биономије, како би се смањила потрошња природних ресурса ефикаснијим коришћењем отпада који генерише индустрија. Осим тога што потрошачи желе да се ови проблеми реше, и предузећа која производе отпад постају свесни да се ови нуспроизводи могу искористити и претворити у производе са додатом вредношћу, уместо што се посматрају као нови трошак који представља одлагање отпада. Из тог разлога је, пре свега академска заједница, али и развојни сектор индустрије, све више усмерен на развој нових процеса прераде отпадних материјала који настају током производње хране како би се омогућило добијање нових вреднијих производа, али и коришћење еколошки прихватљивијих и економичнијих метода за њихову обраду. Већина ових отпадних материја из прехранбене индустрије је већ окарактерисана и идентификоване су најинтересантније компоненте које се могу изоловати и трансформисати у вредне нове производе, међутим потребна су унапређења како у процесу издвајања и пречишћавања ових компонената, тако и у њиховој модификацији. Примена ензимских процеса заснованих на хидролизи појединих компонената (полисахарида и протеина) отпадних материјала отвара могућност истовремене модификације и сепарације ових компонената уз минимално генерисање хемијског отпада које је неизбежно када се ове компоненте изолују екстракцијом уз примену база или киселина. Због високе цене ензима постоји потреба за економичнијим коришћењем ових биокатализатора па је јакo интересантна тема имобилизације ензима која омогућава економичније коришћење ових препарата, као и

повећање њихове стабилности и смањење трошкова пречишћавања финалних производа. До сада су се за имобилизацију углавном користили носачи добијени из необновљивих извора, а у последњих неколико година у фокус долазе носачи који се могу добити из обновљивих извора као што су нано-носачи добијени из полисахарида, један од најважнијих је наноцелулоза, односно кристали наноцелулозе (CNC). Хидролитички ензими који се могу применити у валоризацији нуспроизвода и отпада прехранбене индустрије, као што су протеазе, ксиланазе и пектиназе, могу се ефикасно имобилисати на различите носаче, а њихова имобилизација се може оптимизовати у циљу добијања високо активних биокатализатора. Овако имобилисани ензими се могу ефикасно искористити у реакцијама обраде одређених фракција као што су протеинска, хемицелулозна и пектинска фракција, како би се добила вредна нова једињења (протеински хидролизати и пребиотски олигосахариди) која показују биоактивна својства и могу испољавати вишеструке позитивне ефекте на људски организам, а могу се применити у формулацији разних додатака исхрани.

Узевши у обзир све претходно наведено, хипотезе које се могу издвојити као полазна основа за започињање научно-истраживачког рада у оквиру ове дисертације су следеће:

- Прва хипотеза ове докторске дисертације је да се развојем ефикасних ензимских процеса нуспроизводи индустрије хране могу искористити као извор вредних једињења која поседују физиолошку активност, уместо да се и даље користе углавном као компоненте хране за животиње ниске нутритивне вредности. У овој дисертацији као биљни материјал биће коришћене сачме (сунцокретова и уљане репице), као нуспроизводи уљарске индустрије, и погаче које се добијају након пресовања бобичастог воћа (црне рибизле и малине) у производњи сокова. Протеинске и полисахаридне фракције биће добијене вишестепеним сепарационим поступцима, а затим ће добијене фракције бити подвргнуте ензимској хидролизи применом протеолитичких, пектинолитичких или ксиланолитичких ензима, а добијени хидролизати биће окарактерисани одређивањем хемијског састава применом савремених инструменталних техника и испитивањем антиоксидативне, антимикробне и пребиотске активности стандардним спектрофотометријским и микробиолошким тестовима.
- Основни услов за ширу примену ензимских процеса је развој адекватних метода и носача за имобилизацију ензима јер се применом имобилисаних ензима омогућује вишеструка примена ензима у шаршним процесима и развој континуалних процеса чиме се омогућује већа продуктивност и економичност ових процеса. У последњој деценији као носачи за имобилизацију ензима се све више користе, поред конвенционалних честица димензија између 300 μm и неколико милиметара, и честице нано димензија (до 100 nm) јер се показало да коришћење наночестица као носача за имобилизацију ензима има неколико предности, као што су велика контактна површина, одсуство дифузионих лимитација и могућност постизања високе концентрације протеина и ензимске активности по јединици масе носача. Зато је друга хипотеза која ће бити испитана у оквиру ове дисертације да се може извести ефикасна ензимска трансформација нуспроизвода индустрије хране до биоактивних једињења применом нанобиокатализатора добијених имобилизацијом ксиланаза, протеаза или пектиназа на носаче нано-димензија. Селекција најпогоднијих нанобиокатализатора биће извршена на основу специфичне активности и стабилности на високим температурама и екстремним рН вредностима.
- Пошто је кровни циљ развоја нових процеса трансформације отпадног биљног материјала у нове биоактивне производе да се допринесе концепту циркуларне биокономије, пожељно је да се максимизира примена биобновљивих материјала у

свакој фази процеса што се може постићи коришћењем обновљивих природних полимера као полазних материјала за синтезу наночестица. С обзиром на то да је целулоза један од најраспрострањенијих полимера у природи, а поседује одговарајуће физичке (чврстоћа, нерастворљивост у води, отпорност на кидане, термичка стабилност) и хемијске (могућност модификације површине, биоразградивост и хидрофилност) карактеристике, она је погодна као полазни материјал за синтезу носача нано-димензија за имобилизацију ензима. Зато је трећа хипотеза ове дисертације да је могуће добити нанобиокатализаторе на бази наноцелулозе који се могу применити у трансформацији протеинске и полисахаридне фракције нуспроизвода прехранбене индустрије у функционалне компоненте хране. Зато ће се у почетној фази истраживања испитивати могућност синтезе наноцелулозних честица од микрокристалне целулозе димензија 20 μm . Након тога, биће испитивана могућност примене различитих хемијских модификација површине синтетисаних наноцелулозних честица ради увођења функционалних група на њихову површину. Циљ је добијање имобилисаних ензимских препарата различитих ензима који ће поседовати оптималне карактеристике за примену у реакцијама хидролизе фракција отпадног биљног материјала и/или синтезе производа са додатом вредношћу. Приликом одабира метода хемијске модификације синтетисаних наноцелулозних честица циљ ће бити увођење функционалних група на површину наночестица које ће омогућити успостављање ковалентне везе између бочних аминокиселинских остатака ензима и уведених функционалних група (карбонилних и оксиранских), чиме се обично омогућује добијање имобилисаних ензима веће стабилности. Конкретно, функционализоване честице наноцелулозе ће бити примењене за имобилизацију хидролитичких ензима, као што су комерцијални ензимски препарати протеаза (Alcalase[®] 2.4L и Flavourzyme[®]), ксиланаза (Rohalase[®] SEP-VISCO) и пектиназа (Pectinex[®] Ultra SP-L). Ефикасност и потенцијал нанобиокатализатора на бази наноцелулозе биће евалуирана упоредним анализама са ензимима имобилисаним на наночестице силике, као референтним наноматеријалом који се најдуже користи као носач за имобилизацију ензима.

- У завршном делу дисертације, могућност примене одабраних имобилисаних ензимских препарата најбољих карактеристика биће испитивана у ензимским реакцијама добијања важних производа прехранбене индустрије као што су физиолошки активни хидролизати протеина сунцокретовете сачме, ксилоолигосахариди или пектински олигосахариди. Конкретно, биће оптимизована реакција хидролизе протеинске фракције сунцокретовете сачме применом одабраних комерцијалних препарата протеаза имобилисаних на функционализоване наноцелулозне честице. Добијени протеински хидролизати сунцокретовете сачме ће бити окарактерисани, и могу потенцијално бити коришћени као извор биљних протеина са повећаном нутритивном вредношћу у исхрани људи и животиња. Комерцијални препарати ксиланаза и пектиназа, након имобилизације на функционализоване наноцелулозне честице ће бити примењене за добијање потенцијалних пребиотика ксилоолигосахарида и пектинских олигосахарида хидролизом полисахаридних фракција биљног материјала. Ензимски процес ће бити оптимизован из аспекта приноса реакције, расподеле молекулских маса добијених олигосахарида и постигнуте пребиотске активности.

4. Научне методе истраживања

Честице наноцелулозе ће бити лиофилизиране и окарактерисане методама електронске микроскопије (скенирајућа и трансмисиона), а модификација наноцелулозе ће бити потврђена методом Фуријеове трансформисане инфрацрвене спектроскопије. Ензимска активност различитих ензима имобилисаних на наноцелулозу биће анализирана стандардним спектрофотометријским методама за одређивање активности протеаза, ксиланаза и пектиназа. Ефикасност имобилизације ензима ће бити анализирана стандардним спектрофотометријским методама за одређивање концентрације протеина.

Протеинска фракција и хидролизати добијени након ензимске хидролизе ће бити окарактерисани применом течне хроматографије високих перформанси и натријум додецил сулфат–електрофорезом у полиакриламидном гелу. Ксилоолигосахариди који ће настати ензимском хидролизом хемицелулозне фракције ће бити окарактерисани и квантификовани применом течне хроматографије високих перформанси, а пектински олигосахариди ће бити окарактерисани применом спрегнуте гасне хроматографије и масене спектроскопије као и методом гел-пермеационе хроматографије.

5. Очекивани научни допринос

Очекује се да ће резултати до којих се дође у оквиру ове дисертације дати значајан научни допринос унапређењу постојећих и развоју нових поступака за добијање имобилисаних биокатализатора на бази наноцелулозе и њихову примену у обради нуспроизвода прехранбене индустрије и добијању нових функционалних једињења. У оквиру истраживања може се очекивати неколико основних доприноса:

- Биће развијени нови биообновљиви нано-носачи на бази наноцелулозе и примењени у реакцијама имобилизације протеаза, ксиланаза и пектиназа, што подразумева неколико појединачних доприноса:
 - биће дефинисани услови за добијање и модификацију честица наноцелулозе погодних за имобилизацију ензима,
 - биће оптимизовани поступци имобилизације протеаза, ксиланаза и пектиназа на различито модификоване честице наноцелулозе,
 - биће одређени оптимални услови за имобилизацију протеаза, ксиланаза и пектиназа погодних за индустријску примену.
- Биће развијени нови технолошки поступци примене добијених имобилисаних биокатализатора на бази наноцелулозе у процесима обраде нуспроизвода прехранбене индустрије односно добијања функционалних једињења, што подразумева неколико појединачних доприноса:
 - биће окарактерисане почетна протеинска, хемицелулозна и пектинска фракција добијена из нуспроизвода прехранбене индустрије,
 - биће изабрани имобилисани ензими са најоптималнијим својствима и примењени у реакцији хидролизе протеинских, хемицелулозних и пектинских фракција нуспроизвода прехранбене индустрије,
 - биће развијени поступци добијања функционалних и биоактивних једињења употребом ензима имобилисаних на биообновљиве нано материјале.

6. План истраживања и структура рада

Циљеви истраживања ове докторске дисертације су развој нових имобилисаних производних ензима, развој и оптимизација поступака имобилизације ензима на носаче од наноцелулозе и њихова примена у хидролизис одређених фракција нуспроизвода прехранбене индустрије.

Предвиђа се да ће у докторској дисертацији бити обрађена следећа поглавља: *Увод, Теоријски део, Експериментални део, Резултати и дискусија, Закључак, Литература*.

У поглављу *Увод* биће дефинисани основни циљеви и предмет истраживања, као и допринос дисертације.

Теоријски део докторске дисертације обухватиће преглед и анализу доступне литературе која се односи на:

- Дефиницију, класификацију, методе добијања и предности примене наноцелулозе као носача за ензимску имобилизацију,
- Дефиницију, класификацију и примену протеаза, ксиланаза и пектиназа,
- Технике и методе имобилизације,
- Имобилизацију протеаза, ксиланаза и пектиназа,
- Карактеристике и највредније фракције нуспроизвода прехранбене индустрије примењених у оквиру докторске дисертације,
- Биоактивна и функционална једињења која се могу добити у реакцији хидролизе нуспроизвода прехранбене индустрије.

У *Експерименталном делу* биће наведени употребљени материјали и описане примењене методе, конкретније:

- Хемикалије и материјали употребљени у раду,
- Методе за добијање и модификацију наноцелулозе,
- Методе за карактеризацију наноцелулозе,
- Методе за имобилизацију протеаза, пектиназа и ксиланаза на наноцелулозу,
- Методе одређивања концентрације протеина и ензимске активности,
- Спектрофотометријске и инструменталне методе за праћење тока реакције хидролизе фракција нуспроизвода прехранбене индустрије,
- Методе за одређивање антиоксидативне, антимикробне и пребиотске активности добијених хидролизата.

У поглављу *Резултати и дискусија* биће представљени и дискутовани резултати карактеризације наноцелулозе, имобилизације ензима на наноцелулозу, оптимизација услова имобилизације ензима на наноцелулозу и примена имобилисаних ензима у добијању функционалних једињења хидролизом одређених фракција нуспроизвода прехранбене индустрије.

У *Закључку* ће резултати добијени у току истраживања бити сумирани уз стављање акцента на њихове научне доприносе, иновативност и будућу примену.

Литература ће садржати литературне наводе цитиране у дисертацији и публикације проистекле из истраживачког рада у оквиру ове дисертације.

7. Закључак и предлог

На основу података о досадашњем раду и постигнутим резултатима, Комисија сматра да кандидат Катарина Катић, мастер инжењер технологије, испуњава све услове са рад на предложеној докторској дисертацији под насловом „Развој имобилисаних биокатализатора са наноцелулозним носачима за примену у валоризацији нуспроизвода индустрије хране“. Комисија сматра да је тема докторске дисертације научно заснована и да ће представљати значајан допринос у ужој научној области Биохемијско инжењерство и биотехнологија, за коју је Технолошко-металуршки факултет Универзитета у Београду матична установа. Комисија предлаже Наставно-научном већу Технолошко-металуршког факултета Универзитета у Београду да кандидату Катарини Катић одобри израду ове докторске дисертације. Због мултидисциплинарног карактера истраживања, Комисија предлаже да докторска дисертација има два ментора: др Дејана Безбрадицу, редовног професора Технолошко-металуршког факултета Универзитета у Београду и др Катарину Бањанац, вишег научног сарадника Иновационог центра Технолошко-металуршког факултета.

У Београду, 02. 08. 2024.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ:

.....
Др Дејан Безбрадица, редовни професор
Универзитет у Београду, Технолошко-металуршки факултет

.....
Др Александар Маринковић, редовни професор
Универзитет у Београду, Технолошко-металуршки факултет

.....
Др Катарина Бањанац, виши научни сарадник
Иновациони центар, Технолошко-металуршког факултета

.....
Др Милица Симовић, виши научни сарадник
Универзитет у Београду, Технолошко-металуршки факултет

.....
Др Јелена Гржетић, виши научни сарадник
Министарство одбране, Војнотехнички институт