

Факултет ТЕХНОЛОШКО-
МЕТАЛУРШКИ

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ

35/170

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:

**Компресивна карактеризација бактеријских липаза и њихова примена за
биоремедијацију са фокусом на отпадним водама из млекара**

(пун назив предложене теме докторске дисертације)

НАУЧНА ОБЛАСТ ТЕХНОЛОШКО ИНЖЕЊЕРСТВО

ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ:

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

Никола (Александар) Ђорђевић

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

Биолошки факултет, Мастер студије, Мастер биолог

Универзитет у Београду,

3. Година завршетка
претходног нивоа студија: 2019.

4. Година уписа на докторске студије: 2020.
-

5. Назив студијског програма
докторских студија:

Биохемијско инжењерство и биотехнологија

ПОДАЦИ О МЕНТОРУ 1:

Име и презиме ментора: др Зорица Кнежевић-Југовић

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

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације:

1. Salim, A.A., Grbavčić, S., Šekuljica, N., Stefanović, A., Jakovetić Tanasković, S., Luković, N., **Knežević-Jugović, Z.** Production of enzymes by a newly isolated *Bacillus* sp. TMF-1 in solid state fermentation on agricultural by-products: The evaluation of substrate pretreatment methods (2017) **Bioresource Technology**, 228, pp. 193-200. ISSN: 0960-8524; **IF(2017) 5,807**; Biotechnology & Applied Microbiology 14/160; DOI: 10.1016/j.biortech.2016.12.081
2. Jonović, M., Jugović, B., Žuža, M., Đorđević, V., Milašinović, N., Bugarski, B., **Knežević-Jugović, Z.** Immobilization of Horseradish Peroxidase on Magnetite-Alginate Beads to Enable Effective Strong Binding and Enzyme Recycling during Anthraquinone Dyes' Degradation (2022) **Polymers**, 14 (13), art. no. 2614. ISSN: 2073-4360; **IF(2022) 5,0**; Polymer Science 16/86; DOI: 10.3390/polym14132614
3. Svetozarević, M., Šekuljica, N., Onjia, A., Barać, N., Mihajlović, M., **Knežević-Jugović, Z.**, Mijin, D., Biodegradation of synthetic dyes by free and cross-linked peroxidase in microfluidic reactor (2022) **Environmental Technology and Innovation**, 26, art. no. 102373. ISSN: 2073-4360; **IF(2022) 7,1**; Engineering, Environmental 15/55; Biotechnology & Applied Microbiology 17/159. DOI: 10.1016/j.eti.2022.102373
4. Jakovetić Tanasković, S., Jokić, B., Grbavčić, S., Drvenica, I., Prlainović, N., Luković, N., **Knežević-Jugović, Z.**, Immobilization of *Candida antarctica* lipase B on kaolin and its application in synthesis of lipophilic antioxidants (2017) **Applied Clay Science**, 135, pp. 103-111. ISSN: 0169-1317; **IF(2017) 3,641**; Materials Science, Multidisciplinary 68/285. DOI: 10.1016/j.clay.2016.09.011.
5. Tanasković, S.J., Šekuljica, N., Jovanović, J., Gazikalović, I., Grbavčić, S., Đorđević, N., Sekulić, M.V., Hao, J., Luković, N., **Knežević-Jugović, Z.** Upgrading of valuable food component contents and anti-nutritional factors depletion by solid-state fermentation: A way to valorize wheat bran for nutrition (2021) *Journal of Cereal Science*, 99, art. no. 103159. ISSN: 0733-5210; **IF(2021) 4,075**. DOI: 10.1016/j.jcs.2020.103159

ДЕКАН ФАКУЛТЕТА

Проф. др Петар Ускоковић

ПОДАЦИ О МЕНТОРУ 2.:

Име и презиме ментора: др Славиша Станковић

Звање: редовни професор Универзитета у Београду, Биолошки факултет.

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације:

1. Ranković, T., Nikolić, I., Berić, T., Popović, T., Lozo, J., Medić, O., **Stanković, S.** (2023), Genome analysis of two *Pseudomonas syringae* pv. *aptata* strains with different virulence capacity isolated from sugar beet: features of successful pathogenicity in the phyllosphere microbiome, **Microbiology Spectrum**, 11 (2), e0359822; ISSN: 2165-0497, **IF(2022) 3,7**, Microbiology. <https://doi.org/10.1128/spectrum.03598-22>
2. Rosić, I., Nikolić, I., Ranković, T., Anteljević, M., Medić, O., Berić, T., **Stanković, S.** (2023), Genotyping driven diversity assessment of biocontrol potent *Bacillus* spp. strain collection as a potential method for the development of strain specific biomarkers, **Archives of Microbiology**, 205:114; ISSN: 0302-8933, **IF(2022) 2,8**; Microbiology. <https://doi.org/10.1007/s00203-023-03460-9>
3. Lozo, J., Ristović, N., Kungulovski, G., Jovanović, Ž., Rakić, T., **Stanković, S.**, Radović, S. (2023), Rhizosphere microbiomes of resurrection plants *Ramonda serbica* and *R. nathaliae*: comparative analysis and search for bacteria mitigating drought stress in wheat (*Triticum aestivum* L.), **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, 39 (10), 256; ISSN: 0959-3993, **IF(2022) 4,1**; Biotechnology & Applied Microbiology; <https://doi.org/10.1007/s11274-023-03702-4>
4. Rakić, T., Pešić, M., Kostić, N., Andrejić, G., Fira, Dj., Dželetović, Ž., **Stanković, S.**, Lozo, J. (2021), Rhizobacteria associated with *Miscanthus x giganteus* improve metal accumulation and plant growth in the flotation tailings, *Plant and Soil*, 462 (1-2) 349-363, ISSN: 0032-079X, **IF(2021) 4,9**; Agronomy; <https://doi.org/10.1007/s11104-021-04865-5>
5. Taleski, V., Dimkić, I., Boev, B., Boev, I., Živković, S., **Stanković, S.** (2020), Bacterial and Fungal Diversity in the Lorandite (TlAsS₂) Mine “Allchar” in the Republic of North Macedonia, **FEMS Microbiology Ecology**, 96 (9), ISSN: 0168-6496, **IF(2020) 4,1**; Microbiology, <https://doi.org/10.1093/femsec/fiaa155>

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 3. 7. 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 **Николе Ђорђевића**, број индекса 4004/20, под називом: **„Компресивна карактеризација бактеријских липаза и њихова примена за биоремедијацију са фокусом на отпадним водама из млекара“.**

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

За менторе се одређују др Зорица Кнежевић-Југовић, редовни професор Универзитета у Београду, Технолошко-металуршки факултет и др Славиша Станковић, редовни професор Универзитета у Београду, Биолошки факултет.

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
ТЕХНОЛОШКО-МЕТАЛУРШКОГ ФАКУЛТЕТА
УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ**

Предмет: Подобност теме и кандидата Николе А. Ђорђевића, мастер биолог, за израду докторске дисертације.

Одлуком број 35/116 од 31.05.2024. године, именовани смо за чланове Комисије за оцену подобности теме и кандидата Николе (Александра) Ђорђевића за израду докторске дисертације и научне заснованости теме под називом:

„Компресивна карактеризација бактеријских липаза и њихова примена за биоремедијацију са фокусом на отпадним водама из млекара“

На основу материјала приложеног уз Захтев кандидата, Комисија подноси следећи

РЕФЕРАТ

1. Подаци о кандидату

1.1. Биографски подаци

Никола А. Ђорђевић је рођен 18. децембра 1994. године у Београду, Република Србија, где је завршио основну и средњу школу. Основне академске студије уписао је 2013. године на Биолошком факултету Универзитета у Београду, смер Молекуларна биологија и физиологија. Мастер академске студије започео је 2018. године на модулу Генетичко инжењерство и биотехнологија Биолошког факултета Универзитета у Београду и завршио 2019. године са темом „Антибактеријска и антифунгална активност природних изолата *Lactobacillus plantarum*“. Исте године је започео студије специјализације из микробиологије на истом факултету и одбранио специјалистички рад 2020. године са темом „Антимикробна активност сурфактина из два изолата *Bacillus* spp.“. Докторске академске студије на Технолошко-металуршком факултету Универзитета у Београду уписао је 2020. године. Учествовао је у реализацији два међународна пројекта финансирана од стране Европске комисије и Министарства просвете, науке и технолошког развоја Србије, као и у четири научна пројекта финансирана од стране Министарства просвете, науке и технолошког развоја. Тренутно је предавач на Вишој медицинској школи Висан у Београду. Консултант је за истраживање и развој у биотехнолошкој компанији Агроуник д.о.о. Београд.

1.2. Стечено научноистраживачко искуство

Никола А. Ђорђевић је школске 2020/21. године уписао докторске студије на Технолошко-металуршком факултету Универзитета у Београду на студијском програму Биохемијско инжењерство и биотехнологија. Положио је све испите предвиђене планом и програмом докторских студија са просечном оценом 9,09 (девет и 09/100) и одбранио је завршни испит са оценом 10.

Редни број	Назив предмета	Оцена	ЕСПБ
1.	Математичка обрада експерименталних података	8	5
2.	Хемијска кинетика	6	5
3.	Одабрани микробиолошки процеси у заштити животне средине	10	4
4.	Индустријска микробиологија	8	5
5.	Одабрана поглавља технологије микробне биомасе	10	5
6.	Структурна анализа органских молекула	10	6
7.	Биохемијска кинетика	10	5
8.	Одабрана поглавља биохемије-витамини	10	5
9.	Одабрана поглавља пројектовања процеса у биохемијском инжењерству	10	5
10.	Имобилисани биокатализатори: технике имобилизације, биореактори и примена	8	6
11.	Енглески језик	9	/
12.	Завршни испит	10	30
Просечна оцена/Збир бодова		9,09	81

У досадашњем научноистраживачком раду објавио је као аутор: три рада у врхунским међународним часописима (M21), два рада у истакнутим међународним часописима (M22), два рада у међународним часописима (M23), три рада у часописима међународног значаја верификованим посебном одлуком (M24), и шест саопштења са међународних скупова штампана у целини (M33), као и шест саопштења са међународних скупова штампана у изводу (M34). Сви публиковани радови су произашли као резултат ангажовања кандидата у оквиру следећих пројеката:

Пројекти:

1. Bacteriocin based product against *Erwinia amylovora* the Fire Blight Pathogen: (2017 – 2019), Фонд за иновациону делатност, Програм сарадње науке и привреде који се финансира из средстава ЕУ ИПА 2013 и уз техничку помоћ Светске банке.
2. New bioregulators based on autochthonous bacteria for thinning of apple fruits (2018-2020): Фонд за иновациону делатност, Пројекат подршке иновацијама у Србији, који је финансиран кроз Претприступне фондове Европске уније за 2011. годину (ИПА 2011), а администриран од стране Светске банке.
3. Развој нове генерације микробиолошких препарата у форми прашка или гранула (2016): Министарство просвете, науке и технолошког развоја, иновациона делатност.
4. Микробна формулација за третман отпадних вода индустрије скроба и шећера (2017): Министарство просвете, науке и технолошког развоја, иновациона делатност.
5. Конзорцијум аутохтоних термофилних и мезофилних бактерија у компостирању сировог стајског ђубрива (2017): Министарство просвете, науке и технолошког развоја, иновациона делатност.
6. Микробни препарат за превенцију и третман влажне трулежи код повртарских култура (2017): Министарство просвете, науке и технолошког развоја, иновациона делатност.

Током свог ангажовања, учествовао је и у извођењу и изради завршних и мастер радова студената Биолошког, Технолошко-металуршког и Пољопривредног факултета Универзитета у Београду.

Списак објављених научних и стручних радова

1. Радови објављени у научним часописима међународног значаја (M20)

1.1. Рад у врхунском међународном часопису (M21)

1. Nikolaos Katsenios, Varvara Andreou, Panagiotis Sparangis, **Nikola Djordjevic**, Marianna Giannoglou, Sofia Chanioti, Christoforos-Nikitas Kasimatis, Ioanna Kakabouki, Dimitrios Leonidakis, Nikolaos Danalatos, George Katsaros, Aspasia Efthimiadou, Assessment of plant growth promoting bacteria strains on growth, yield and quality of sweet corn, Scientific Reports, (2022) 12:11598., ISSN: 2045-2322, IF (2022): 4.60
2. Aspasia Efthimiadou, Nikolaos Katsenios, Sofia Chanioti, Marianna Giannoglou, **Nikola Djordjevic**, George Katsaros, Effect of foliar and ground application of plant growth promoting bacteria on growth, physiology, yield and seed quality of maize under Mediterranean conditions, Scientific Reports, (2020) 10:21060. ISSN: 2045-2322, IF (2020): 4.38
3. Violeta Mandic, Snezana Djordjevic, **Nikola Djordjevic**, Zorica Bijelic, Vesna Krnjaja, Maja Petricevic, Milan Brankov, Genotype and Sowing Time Effects on Soybean Yield and Quality, Agronomy (2020):10, 502., ISSN: 2073-4395, IF(2020): 2.24

4. Рад у истакнутом међународном часопису (M22)

1. Tanasković, S.J., Šekuljica, N., Jovanović, J., Gazikalovic I, Grbavcic S., **Djordjevic N.**, Vukasinovic-Sekulic M., Hao J., Luković, N., Knežević-Jugović, Z., (2021) Upgrading of valuable food component contents and anti-nutritional factors depletion by solid-state fermentation: A way to valorize wheat bran for nutrition, Journal of Cereal Science, vol 99, 103159, ISSN: 0733-5210, IF(2020): 4.075
2. Nikolaos Katsenios, Varvara Andreou, Panagiotis Sparangis, **Nikola Djordjevic**, Marianna Giannoglou, Sofia Chanioti, Panagiota Stergiou, Maria-Zacharoula Xanthou, Ioanna Kakabouki, Dimitrios Vlachakis, Snezana Djordjevic, George Katsaros, Aspasia Efthimiadou, (2021) Evaluation of Plant Growth Promoting Bacteria Strains on Growth, Yield and Quality of Industrial Tomato, Microorganisms: 9, 2099, ISSN: 2076-2607, IF(22): 4.782

3. Рад у међународном часопису (M23)

1. Mandić, Violeta, Vesna Krnjaja, Snežana Djordjević, **Nikola Djordjević**, Zorica Bijelić, Aleksandar Simić, & Vesna Dragičević. Effects of bacterial seed inoculation on microbiological soil status and maize grain yield. *Maydica* [Online], 63.3 (2018): 8. Web. 8 Oct. 2020. ISSN: 0025-6153, IF(2018): 0.578
2. Nataša Šekuljica, Sonja Jakovetić Tanasković, Jelena Mijalković, Milica Simović, Neda Pavlović, **Nikola Đorđević**, Alina Culetu, Ivana Gazikalović, Nevena Luković, Jelena Bakračand, Zorica Knežević-Jugović, Xylanase Production by Solid-State Fermentation for the Extraction of Xylooligosaccharides from Soybean Hulls, Food Technology and Biotechnology 61(4) (2023). ISSN: 1330-9862, IF(2018): 2.3

3. Рад у часопису међународног значаја верификованог посебном одлуком (M24)

1. Đorđević S., Mandić, V., **Đorđević N.**, Pavlović B., (2021): Effects of cutting stage and bacterial inoculant on quality of the red clover silage, Biotechnology in Animal Husbandry 37 (1), 65-73. ISSN: 1450-9156
2. Đorđević S., Mandić, V., **Đorđević N.**, (2020), Development and effect of a *Lactobacillus plantarum* inoculant on quality of maize grain silage, Biotechnology in Animal Husbandry 36 (2), 239-250. ISSN: 1450-9156

2. Зборници међународних научних скупова (M30)

2.1 Саопштење са међународног скупа штампано у целини (M33)

1. Šarčević-Todosijeвић, Lj., Đorđević, S., Popović, V., Đukić, D., Perić, M., **Đorđević, N.**, Živanović, Lj., Mačkić, K., Bošković, J., Stevanović, A. (2022): The Influence of Pesticides on Plants, Soil Microorganisms and Food Safety In Plant Production. 26th International Eco – conference 2022: 12nd Safe food, Ecological movement of Novi Sad, Novi Sad, Serbia, 21 - 23 September 2022. 133 – 140.
2. Šarčević-Todosijeвић, Lj., Đorđević, S., Đukić, D., Popović, V., **Đorđević, N.**, Bošković, J., Filipović, V. (2022): Protection of biological resources – leading challenge in environmental protection, 4th International Symposium: Modern Trends in Agricultural Production, Rural Development, Agro-economy, Cooperatives and Environmental Protection, Vrnjacka Banja, Serbia 29 – 30. Jun, 2022, p. 531-546.
3. Šarčević-Todosijeвић, Lj., Đorđević, S., Popović, V., Živanović, Lj., Petrović, B., **Đorđević, N.**, Golijan, J. (2022). Zdravstveni aspekti značaja hrane, XXVII Savetovanje o biotehnologiji sa međunarodnim učešćem, Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku, Zbornik radova, 437-442.
4. Šarčević-Todosijeвић, Lj., Vojvodić, K., Perić, M., **Đorđević, N.** (2024): Biljna proizvodnja, značaj i zaštita biljnih genetičkih resursa, 11. međunarodna naučna agrobiznis konferencija "Hrana za budućnost – vizija Srbije, regiona i JI Evrope", MAK, 2024, Kopaonik, Zbornik radova.
5. Šarčević-Todosijeвић, Lj., Đorđević, S., Petrović, B., Popović, V., Golijan Pantović, J., Filipović, V., **Đorđević, N.** (2024): Biological activity of plant metabolites, 2nd International Symposium on Biotechnology, Faculty of Agronomy in Čačak, University of Kragujevac, Proceedings, 249-254.
6. Šarčević-Todosijeвић, Lj., Đorđević, S., Popović, V., Golijan Pantović, J., Filipović, V., **Đorđević, N.**, Đukić, D. (2024): Application of biotechnology in health safe plant production, 6th International Symposium „Modern Trends in Agricultural Production, Rural Development and Environmental Protection“, 241-249.

2.2 Саопштење са међународног скупа штампано у изводу (M34)

1. Pavlović B., Aleksić G., **Djordjević N.**, Stevanović M., Đorđević S. (2019): Effectiveness of biopreparation of Erwix against Erwinia amylovora and its potential use for managing fire blight of quince. Book of Abstracts of the VIII International Congress on the Protection of Plant, 25-29. November, 2019, Zlatibor, 42.
2. Pavlović B., Aleksić G., Gavrilović V., **Djordjević N.**, Đorđević S. (2019): Biological control of Xanthomonas euvesicatoria by Lactobacillus plantarum isolates. Book of Abstracts of the VIII International Congress on the Protection of Plant, 25-29. November, 2019, Zlatibor, 81-82.
3. **Đorđević N.**, Đorđević S., Skadrić, I., Bogosavljević J, (2019): Upotreba sekvenciranja nove generacije u analizi mikrobioma zemljišta, Kongres sa međunarodnim učešćem “Zemljište 2019”, Petrovac na Mlavi 19-20, October, 2019, 131.
4. Dervišević, M., **Đorđević, N.**, Milosavljević, A., Trkulja, N., Đorđević, S. (2021): Antifungal activities of PGRP bacteria, against *Macrophomina phaseolina*. Book of Abstracts of Eurosoil 2021. Geneva, Switzerland, PO035.

5. **Đorđević, N.**, Skadrić, I., Bogosavljević, J., Đorđević, S. (2021): Use of next generation sequencing in soil microbiom analysis. Book of Abstracts of Eurosoil 2021. Geneva, Switzerland, PO088.
6. Šarčević-Todosijević, Lj., Stevanović, A., Đorđević, S., Popović, V., Perić, M., Petrović, B., Bošković, J., **Đorđević, N.** (2023): Taxon Poaceae - biological properties, significance and possibilities of application. International Scientific Conference Science, Education, Technology and Innovation Seti V 2023. Book of Abstracts. P. 70.

3. Техничка решења (M80)

3.1 Ново техничко решење примењено на међународном нивоу (M81)

1. Snežana Đorđević, Marina Dervišević, Nenad Trkulja, **Nikola Đorđević**, Violeta Mandić, Isidora Knežević: Erwix – biobaktericid na bazi *Bacillus subtilis* za suzbijanje *Erwinia sp.*
2. Snežana Đorđević, Marina Dervišević, **Nikola Đorđević**, Violeta Mandić: Mikrobiološko đubrivo -Uniker za razlaganje žetvenih ostataka i kompostiranje.
3. Snežana Đorđević, Violeta Mandić, **Nikola Đorđević**, Marina Dervišević: Silko za lucerku – novi inokulant za siliranje i senažu leguminoza.
4. Snežana Đorđević, Violeta Mandić, **Nikola Đorđević**, Marina Dervišević, Nenad Trkulja, Isidora Knežević: Slavol S - biostimulator na bazi auksina poreklom iz PGRP bakterija.

3.2 Ново техничко решење примењено на националном нивоу (M82)

1. Наташа Шекуљица, Зорица Кнежевић-Југовић, Снежана Ђорђевић, **Никола Ђорђевић**, Соња Јаковетић Танасковић, Јелена Мијалковић, Невена Луковић, Ивана Газикаловић, Силко за траве и житарице – нови инокулант за силирање и сенажу трава и житарица, 2024.

1.2.Оцена подобности кандидата за рад на предложеној теми

У свом досадашњем ангажовању током докторских студија и у оквиру научно истраживачког рада на различитим пројектима, финансираним од стране Министарства просвете, науке и технолошког развоја, Фонда за иновациону делатност и других извора, Никола Ђорђевић, постигао је значајне резултате, заинтересованост и способност за научно-истраживачки рад. Из области којој припада предложена тема докторске дисертације, кандидат је објавио три рада у врхунским међународним часописима (M21), два рада у истакнутим међународним часописима (M22), два рада у међународним часописима (M23), три рада у часописима међународног значаја верификованим посебном одлуком (M24), и шест саопштења са међународних скупова штампана у целини (M33), као и шест саопштења са међународних скупова штампана у изводу (M34), четири нова техничка решења примењено на међународном нивоу (M81) и једно ново техничко решење примењено на националном нивоу (M82).

На основу приложених података о кандидату и његовом научноистраживачком раду, Комисија сматра да Никола Ђорђевић, мастер биолог, испуњава услове за рад на предложеној теми докторске дисертације.

1. Предмет и циљ истраживања

Предмет научног истраживања ове докторске дисертације је производња и примена липаза добијених из изабраних бактеријских сојева за ефикасну биоремедијацију липидних компонената у отпадним водама млекара.

Отпадне воде које долазе из млекарске индустрије представљају велики еколошки изазов са сложеним последицама по екосистем. Отпадне воде млекара су карактеристичне по

високом садржају лако распадљивих органских материја. Већина ових органских компоненти је биоразградива, што доводи до закључка да су отпадне воде погодне за биолошки третман, било аеробни или анаеробни. Са друге стране, чињеница да су лако биоразградиве не умањује њихову потенцијалну штетност ако се не третирају адекватно.

Отпадне воде млекара су богате масноћама, уљима, протеинима и другим органским материјалима који брзо могу довести до озбиљних проблема са загађењем. Слојеви масти и уља се таложе и резултирају зачепљењем канализационих система и формирају масне насlage на површини воде, које даље спречавају продирање кисеоника и сунчеве светлости. Ово има даље читав низ негативних последица на водене екосистеме, укључујући ризик од еутрофикације и утицања на флору и фауну. Такође, нагомилавани слојеви масти и уља представљају велики проблем у системима за пречишћавање отпадних вода. Нагомилавање ових једињења може смањити ефикасност и капацитет третмана отпадних вода, посебно у биофилтрационим системима и анаеробним дигесторима што доводи до смањења способности система да ефикасно уклони друге штетне материје из воде, чиме се повећава ризик од ослобађања неадекватно третиране воде у екосистем.

Брзи индустријски развој и експанзија млечне индустрије имају далекосежне еколошке последице. Отпадне воде из млекара су богате органским материјалима које се брзо трансформишу, што доводи до смањења нивоа раствореног кисеоника у водама и стварања анаеробних услова са интензивним непријатним мирисима. Такође, ови ефлуенти могу постати легло за размножавање комараца и мува, подстичући ширење болести које преносе ови домаћини. Поред тога што утичу на сам квалитет вода, млечна индустрија ослобађа токсичне гасове као што су CO₂ и метан, који изазивају ефекат стаклене баште, тиме доприносе глобалном загревању, и утичу на киселост вода и загађење ваздуха, са великим последицама на јавно здравље и водене екосистеме. Липиди у отпадним водама могу имати озбиљне еколошке последице, укључујући стварање уљаних филмова који спречавају дифузију кисеоника, што доводи до угинућа акватичних организама.

У Србији, млекарска индустрија представља велики извор еколошког загађења, путем отпадних вода. У складу са Уредбом о граничним вредностима емисије загађујућих материја (Службени гласник РС бр. 67/2011, 48/2012 и 1/2016), млекуре у Србији су обавезне да пречисте отпадне воде пре испуштања у водокове, при чему параметри треба да буду испод прописаних параметра у зависности где се вода испушта (Табела 1). Контролу врше акредитоване лабораторије кроз тромесечно праћење параметара. Иако законодавство постоји као механизам контроле, превише је случајева у којима се млекуре не придржавају постојећих законских регулатива. И поред тога што су неким случајевима постоје инсталирани системи за третман отпадних вода, они су често технолошки застарели и не испуњавају критеријуме прописане стандардом.

Табела 1. Граничне вредности емисије из отпадних вода млекара зависно од реципијента

Параметар	Тип реципијента	
	Канализација и септичке јаме	Површинске воде
ХПК (мг/л)	450	110
БПК5 (мг/л)	350	25
pH	6,0 - 9,0	6,5 - 9,0
Маст и уља (FOG) (мг/л)	40	/

Ефикасност постојећих технологија за пречишћавање отпадних вода млекара, нарочито физичко-хемијских метода, је недовољна, често мала. Мана ових поступака је што су скупи, користе штетне хемикалије и могу проузроковати секундарно загађење. Као пример алармантних резултата истраживања која показују да су у отпадним водама из млекара у Врдилу мерене концентрације хемијске потрошње кисеоника између 890 и 1140

мг/л, као и биохемијске потрошње кисеоника између 216 и 300 мг/л. Ове вредности су значајно веће од прописане горње границе, што додатно истиче актуелност и важност проблема и потребу за ефикаснијим третманима отпадних вода.

Из ових разлога је све већа потреба за иновативним решењима која ће бити ефикасна, економична и одржива, са циљем смањења негативних утицаја отпадних вода млекарске индустрије на читав екосистем.

Главни циљ истраживања ове докторске дисертације је изолација, идентификација, карактеризација бактеријских липаза и њихова примена за ефикаснији и економичнији третман липидних полутаната у отпадним водама млекара, који ће смањити еколошке последице и унапредити одрживе праксе у индустрији. Овај циљ истраживања је подељен на 5 подциљева:

1. Изолација и карактеризација бактеријских сојева из рода *Bacillus*

Основни циљ ове фазе истраживања јесте изолација и селекција бактеријских изолата из рода *Bacillus* из различитих еколошких станишта, који показују потенцијал за производњу липаза, амилаза и протеаза. Поред скрининга на ензиме, у овој фази ће бити идентификована два „housekeeping“ гена: 16s rRNA и *tuf*. Поред тога, биће урађена генотипизација добијањем молекуларног отиска, користећи специфичне понављајуће секвенце у геному. На овај начин, омогућава се прецизно разликовање између различитих бактеријских сојева. Као резултат ове фазе очекује се идентификација и селекција сојева рода *Bacillus* са највећим ензимским потенцијалом.

2. Комплетна геномска анализа одабраних сојева рода *Bacillus*

Циљ ове фазе је комплетна геномска анализа сојева рода *Bacillus* који су претходно селектовани као најбољи кандидати за производњу ензима. Ова анализа укључује секвенцирање целих генома сојева која омогућава детаљну анотацију и идентификацију генома. Секвенцирањем целог генома у производњи ензима добија се информација о генетичкој основи за синтезу и регулацију ензима, идентификацији потенцијалних гена од интереса, као и оптимизацији ферментације производних сојева. Резултат ове фазе је добијање комплетног генетичког профила соја од интереса.

3. Генетичка модификација *E. coli* за повећану производњу ензима

Трећи циљ овог истраживања јесте пренос и експресија гена за липазе из окарактерисаних сојева рода *Bacillus* у *E. coli*, са циљем повећања производње липаза и њихове лакше карактеризације. Овај процес представља умножавање одговарајућих гена, који су одговорни за синтезу липаза, и њихову уградњу у плазмиде и преношење у ћелије домаћина *E. coli*. У овом делу докторске дисертације, као резултат се очекују нови генетички сојеви модификованих бактерија *E. coli* и детаљнија карактеризација ензима.

4. Оптимизација процеса производње липаза у природним изолатима сојева рода *Bacillus* и генетички модификованим изолатима *E. coli* и њихова формулација

У овом делу докторске дисертације потребно је одредити оптималне процесне параметре и остале услове ферментације за раст микроорганизма и продукцију липаза, посебно за природне изолате и посебно за генетички модификовану *E. coli*. Потребно је испитати параметре као што су састав храњиве подлоге, температура, рН, концентрација инокулума, количина шећера у подлози. Ови резултати треба да нам омогуће повећану биосинтезу липаза у оптималном медијуму и, на тај начин, добијање већих концентрација липаза.

5. Биоремедијација отпадних вода млекара у контролисаним лабораторијским условима

У овој фази рада испитао би се потенцијал новосинтетисаних липаза за разградњу масти из отпадних вода млекарске у реалном систему. Како на ефикасност разградње утиче велики број параметара независно и истовремено, примениће се методологија планираних експеримената и одзивних површина за анализу ефикасности разградње липида коришћењем

различитих бактеријских изолата и ензима имобилизованих на различите носаче. Примениће се различити експериментални модели попут централног композитног ротатабилног плана са неколико фактора и нивоа да би се минимизирао број експерименталних услова. Као кључни индикатори, хемијска и биолошка потрошња кисеоника користиће се као одзивне величине за квантификацију количине уклоњеног органског материјала. Поред одређивања хемијске потрошње кисеоника и биолошке потрошње кисеоника (ХПК и БПК), одређиваће се и концентрација укупних липида у узорцима како би се проценила ефикасност третмана за разградњу липида. Поред тога, пратиће се промене у микробиолошкој структури коришћењем метабаркодинг анализе како би се утврдило да ли је дошло до измена у микробиолошком саставу. Овако формулисани циљ даје коначан одговор на питање да ли било која од тестираних варијанти утиче на разградњу липида и на микробиолошку популацију.

Ови циљеви уоквирују свеобухватан приступ истраживању и примени бактеријских липаза, обезбеђујући научну основу за развој иновативних и одрживих решења у биоремедијацији отпадних вода млекара.

Релевантни библиографски извори повезани са предметом истраживања ове докторске дисертације, који уједно представљају полазну основу за даљи ток истраживања су:

Библиографија

1. Krishnan, N., & Valsa, K. A. (2015). Biodegradation of Lipid Rich Dairy Effluent by Bacterial Consortium. *Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology*, 16-20.
2. Lisanin, R., & Lalovic, Č. (2022). Kvalitet otpadnih voda mlekara na teritoriji centralne Srbije. 35. *međunarodni kongres o procesnoj industriji*, 227-236.
3. Marinković, D., Zoran, M., Zorka, J., Marina, S., & Dušanka, M. (2018). Квалитет отпадних вода млекарске индустрије са подручја општине Краљево. *Tehnika*, vol. 73, 151-156.
4. Mendes, A. A., & Castro, H. F. (2005). Effect on the enzymatic hydrolysis of lipids from dairy wastewater by replacing Gum Arabic emulsifier for sodium chloride. *Food Science and Technology, Brazilian Archives of Biology and Technology*.
5. Nimkande, V. D., & Bafana, A. (2022). A review on the utility of microbial lipases in wastewater treatment. . *Journal of Water Process Engineering*, 46, 102591.
6. Raghunath, B., Punnaaiarasi, A., G., R., A., I., Elango, A., & Mahesh, G. (2016). Impact of Dairy Effluent on Environment—A Review. *Integrated Waste Management in India* , 239-249.
7. Sinha, S., Srivastava, A., Mehrotra, T., & Singh, R. (2019). A Review on the Dairy Industry Waste Water Characteristics, Its Impact on Environment and Treatment Possibilities. In: Emerging Issues in Ecology and Environmental Science. In *SpringerBriefs in Environmental Science*. Springer, Cham.
8. Slavov, A. K. (2017). General Characteristics and Treatment Possibilities of Dairy Wastewater – A Review. *Food Technology and Biotechnology*, 55(1), 14-28.

2. Полазне хипотезе

Ослањајући се на претходна истраживања и литературне податке, предложена истраживања у оквиру ове докторске тезе полазе од основног становишта да се бактеријске липазе могу ефикасно користити за биоремедијацију отпадних вода из млекара. Истраживања у овој докторској тези полазе од следећих хипотеза:

- Природни бактеријски сојеви рода *Bacillus* имају значајан потенцијал за производњу липаза, амилаза и протеаза.
- Генетичка модификација *E. coli* убацивањем гена за липазе из бактеријских сојева довешће до повећане производње липаза.
- Оптимизација култивационих услова за производњу липаза помоћу *E. coli* и бактеријских изолата рода *Bacillus* резултираће повећањем концентрације и активности произведених ензима.
- Примена имобилисаних ензима, бактеријских сојева и генетички модификованих сојева у лабораторијским условима, показате задовољавајућу ефикасност у разградњи липида у отпадним водама млекара.
- Добијени лабораторијски резултати ће показати да је могуће постићи значајно смањење концентрације липида у отпадним водама млекара.

Истраживања у оквиру ове докторске дисертације заснована су на претходно наведеним хипотезама и према томе се претпоставља да ће применом бактеријских липаза у биоремедијацији отпадних вода млекара бити могуће значајно смањити еколошки утицај ових отпадних вода.

3. Научне методе истраживања

У првом делу овог истраживања јесте изолација, идентификација и карактеризација бактеријских изолата на производњу ензима. У првој фази истраживања, биће коришћено 600 бактеријских изолата који су новоизоловани или се налазе у колекцији Агроуник. Идентификација ће се заснивати на секвенцирању два „housekeeping“ гена, 16S rRNA и *tuf*. Поред тога, биће урађена генотипизација добијањем молекуларног отиска коришћењем гер-PCR анализе која се заснива на специфичним понављајућим секвенцама у геному. Изолати ће бити тестирани на присуство гена за липазе у зависности од идентификације соја PCR методом. Поред детекције гена, биће одређена и квантитативна анализа на специфичној храњивој подлози за детекцију липаза, протеаза и амилаза. Ове анализе ће омогућити идентификацију најпотентнијих сојева за даљи рад и истраживање у оквиру ове тезе.

Након идентификације изолата са највећом продукцијом липаза, планирано је секвенцирање целог генома одабраних бактеријских сојева. У овој студији користимо у већини случајева хибридно секвенцирање који обухвата системе „PacBio“ и „Illumina“ секвенцирања. Биоинформатичка анализа биће урађена у „Python“-у и R-у коришћењем алгоритама за обраду података.

Трећа фаза обухвата клонирање и оверекспресију гена за липазе. За ове потребе, дизајнирани су прајмери специфични за гене липазе који ће садржати рестрикциона места за рестрикционе ензиме који секу и плазмид и PCR продукт. Одабрана су два типа плаزمида *pUC19* и *pBR322*, који су одабрани због различитих карактеристика. Плазмид *pUC19* је мањи, има већи број копија по ћелији и садржи само ген за ампицилинску резистенцију, али омогућава селекцију на основу боја плаво/белу и већу флексибилност у клонирању захваљујући вишеструким рестрикционим местима. С друге стране, *pBR322* је

већи, има мањи број копија и садржи два гена за антибиотичку резистенцију: ампицилин и тетрациклин, али нема опцију за селекцију на основу боја плаво/белу. Следећи корак је трансформација плаزمида у *E. coli* и провера успешности убацивања гена, помоћу додавања антибиотика у хранљиву подлогу и селекције на основу боје.

Следећи корак је оптимизација и квантификација продукције липазе. У овом контексту, ефикасност седам различитих хранљивих подлога за култивацију радних микроорганизама и производњу липазе ће се систематски испитати. Пратиће се кинетика раста бактерије на основу праћења укупног броја ћелија на аутоматском електронском бројачу, док ће се у циљу предвиђања и разумевања раста микроорганизама, кинетичке криве раста анализирати различитим квантитативним моделима. У том смислу за праћење биосинтезе липаза и раста биомасе користиће се Луедекинг-Пиретов (Luedeking–Piret) модел који претпоставља да биосинтеза ензима може бити повезана са растом микроорганизма, али и други кинетички модели. Статистичка анализа ће се изводити помоћу ANOVA и Данканов тест за идентификацију најефикаснијих подлога. Верификација модела и анализа података ће се извести у програмском језику R. На основу ових резултата, конструисаће се оптимална подлога за производњу липазе и квантификовати производња ензима. Поред тога, упоредиће се ефикасности производње липаза природних изолата и генетички модификованих сојева *E. coli*. Ови резултати ће послужити као основа за даље скалирање и развој биотехнолошког процеса за производњу ензима.

Потенцијал произведене липазе испитаће се у реалном систему на отпадној води из млекарне. Испитаће се три различита изолата бактерија и два пречишћена ензима, при чему ће се испитати и могућност стабилизације ензима имобилизацијом на зеолиту и биоугљу. У оквиру експеримента биће праћена хемијска потрошња кисеоника, биолошка потрошња кисеоника и концентрација липида која ће бити праћена спектрофотометријски. Поред тога, методом метабаркодинга биће праћена и промена бактеријске популације током третмана отпадних вода.

3. Очекивани научни допринос

Очекује се да ће се научни допринос ове докторске дисертације огледа на разумевању, примени и проналажењу нових липаза код рода *Bacillus*, са потенцијално већом активношћу од тренутно познатих. Поред тога, очекује се детаљна карактеризација ових липаза путем секвенцирања целог генома и коришћењем биоинформатичких алата, што ће поспешити боље разумевање њихових генетичких и функционалних својстава. Истраживање ће пружити увид у утицај састава хранљиве подлоге и параметара ферментације на производњу липаза код рода *Bacillus* и *E. coli*. Имобилизацијом ових бактерија и ензима на носаче очекује се добијање ензима веће стабилности, што ће значајно унапредити њихову ефикасност у разлагању масти. Скуп свих ових доприноса ће на крају представљати комплетан научни допринос докторске дисертације, усмерен на биоремедијацију отпадних вода претежно оптерећених мастима, посебно из млекарске индустрије. Ови резултати ће имати широку примену у индустрији, са нагласком на биоремедијацију и третман отпадних вода. Сходно свему наведеном, научни допринос ове докторске дисертације огледа се у следећем:

- разумевање, примена и проналажење нових липаза из рода *Bacillus*, са потенцијално већом активношћу од тренутно познатих;
- детаљна карактеризација добијених липаза путем секвенцирања целог генома и коришћењем биоинформатичких алата, што ће поспешити боље разумевање њихових генетичких и каталитичких својстава;
- утврђивање утицаја састава хранљиве подлоге и параметара ферментације на производњу липаза из *Bacillus* и *E. coli*;

- остваривање веће стабилности липаза како природног соја, тако и генетички модификованог, имобилизацијом на зеолит и биоугаљ, при чему ће бити дефинисани услови имобилизације адсорпцијом;
- верификација ефикасности одабраних липаза у биоремедијацији отпадних вода претежно оптерећених мастима, као што су из млекарске индустрије;
- широка примена у индустрији, посебно у контексту биоремедијације и третмана отпадних вода оптерећених мастима.

Ови доприноси ће донети нове информације о биоремедијацији индустријских отпадних вода, посебно из млекарске индустрије, нудећи иновативне приступе за решавање еколошких изазова који се највише односе на откривање и развој нових биокатализатора са високим потенцијалом за разградњу масноћа у отпадним водама.

План истраживања и структура рада

Предмет научног истраживања у оквиру ове докторске дисертације односиће се на производњу липаза из рода *Bacillus* и њихову примену у биоремедијацији отпадних вода оптерећених мастима.

У складу са претпостављеним планом, предвиђа се да ће у докторској дисертацији бити обрађена следећа поглавља: Увод, Теоријски део, Експериментални део, Резултати и дискусија, Закључак и Литература.

Увод

У уводу ће бити дефинисан предмет и значај истраживања докторске дисертације, са освртом на актуелну проблематику, допринос и главне циљеве.

Теоријски део

Теоријски део ће пружити преглед доступних литературних података о производњи и примени липаза, употреби врста рода *Bacillus* за производњу ензима, хидролизи масти у отпадним водама, као и могућностима предtretмана отпадних вода ради постизања ефикасније ензимске хидролизе.

Експериментални део

- Материјали и опрема коришћени за експериментална истраживања;
- Методе за изолацију и идентификацију микроорганизама;
- Методе за карактеризацију ензима;
- Секвенцирање целог генома (методом напредног секвенцирања);
- Поступак клонирања и оверекспресија гена за липазе у *E. coli*;
- Поступак оптимизације производње липазе помоћу природног и генетички модификованог соја применом експерименталног дизајна и методологије одзивних површина;
- Квантификације и праћење кинетике продукције липаза;
- Имобилизација ензима на зеолит и биоугаљ адсорпцијом при различитим условима;
- Верификација активности биокатализатора (нативне, рекомбинантне и имобилисане липазе) у реалном систему, процена разградње липида у отпадним водама.

Резултати и дискусија

У поглављу Резултати и дискусија биће приказани и дискутовани експериментално добијени резултати. Као резултат истраживања изолације и карактеризације бактеријских сојева из рода *Bacillus* из различитих еколошких станишта, очекује се идентификација и селекција сојева рода *Bacillus* са највећим ензимским потенцијалом. Такође извршиће се комплетна геномска анализа сојева рода *Bacillus* који су претходно селектовани као најбољи кандидати за производњу ензима. Секвенцирањем целог генома у производњи ензима добија се информација о генетичкој основи за синтезу и регулацију ензима, идентификацији потенцијалних гена од интереса, као и оптимизацији ферментације производних сојева. Резултат ове фазе је добијање комплетног генетичког профила соја од интереса. У истраживањима који се односе на пренос и експресију гена за липазе из окарактерисаних сојева рода *Bacillus* у *E. coli*, очекују се нови рекомбинантни сојеви са великим потенцијалом за производњу овог ензима.

Резултати који се односе на производњу липаза из природног изолата *Bacillus* и рекомбинантног соја *E. Coli* субмерзном ферментацијом показује који услови ферментације и култивације дају екстракт ензима са највећом активношћу. Резултати оптимизације процеса производње ензима ће приказати најоптималније услове за производњу липаза са аспекта продуктованих ензимских јединица.

Биће приказано како предtretман отпадних вода утиче на хидролизу масти, као и компатибилност добијених липаза са другим ензимима у разградњи масти у отпадним водама. Такође ће бити дискутовани резултати везани за стабилност и активност имобилизованих ензима на различитим носачима.

Од великог значаја ће бити утврдити корелацију између ензимске активности, стабилности и ефикасности липаза у биоремедијацији отпадних вода. Сви добијени резултати биће поређени са релевантним подацима доступним у научној литератури, и на основу тога ће се доносити закључци о потенцијалној примени липаза из рода *Bacillus* за биоремедијацију отпадних вода оптерећених мастима.

Закључак

У поглављу Закључак сумарно ће бити приказани резултати истраживања уз извођење закључка о примени и значају липаза из рода *Bacillus* за разградњу липида из отпадних вода млекара.

Литература

У поглављу Литература биће дат приказ цитираних научних радова и књига, коришћених у изради докторске дисертације, укључујући и научне радове проистекле из експерименталних истраживања у оквиру израде ове докторске дисертације.

4. Закључак и предлог

На основу изложеног, Комисија сматра да је тема предложене докторске дисертације кандидата Николе А. Ђорђевић под називом „Компресивна карактеризација бактеријских липаза и њихова примена за биоремедијацију са фокусом на отпадним водама из млекара“ научно заснована и предлаже Наставно-научном већу Технолошко-металуршког факултета Универзитета у Београду да прихвати и одобри израду докторске дисертације под наведеним називом. Комисија сматра да кандидат испуњава све услове за реализацију предвиђених циљева истраживања докторске дисертације. Такође, Комисија предлаже Наставно-научном већу Технолошко-металуршког факултета да упути захтев Већу научних области техничких наука Универзитета у Београду за давање сагласности на предлог теме докторске дисертације. Истраживања предвиђена овом докторском дисертацијом припадају научној области Технолошко инжењерство, ужа научна област Биохемијско инжењерство и биотехнологија, за коју је Технолошко-металуршки факултет Универзитета у Београду матична установа. За менторе се предлажу др Зорица Кнежевић-Југовић, редовни професор Технолошко-металуршког факултета Универзитета у Београду и др Славиша Станковић, редовни професор Биолошког факултета Универзитета у Београду.

У Београду, 28.6. 2024. године

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

Др Зорица Кнежевић-Југовић, редовни професор
Универзитета у Београду, Технолошко-металуршки факултет

Др Славиша Станковић, редовни професор
Универзитета у Београду, Биолошки факултет

Др Маја Вукашиновић-Секулић, редовни професор
Универзитета у Београду, Технолошко-металуршки факултет

Др Наташа Шекуљица, виши научни сарадник
Иновациони центар Технолошко-металуршког факултета у Београду