

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ

УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ - ХЕМИЈСКОГ ФАКУЛТЕТА

ПРЕДМЕТ: Извештај комисије за оцену и одбрану докторске дисертације кандидата Марије Павловић, мастер биохемичара

На редовној седници Наставно-научног већа Универзитета у Београду - Хемијског факултета, одржаној 13. марта 2025. године, одређени смо у Комисију за оцену и одбрану докторске дисертације коју брани кандидат **Марија (Горан) Павловић**, мастер биохемичар, под називом:

„Примена нових рекомбинантних пектинолитичких ензима у побољшању карактеристика воћних сокова”

Комисија је докторску дисертацију прегледала и подноси Наставно-научном већу Хемијског факултета следећи

ИЗВЕШТАЈ

А. ПРИКАЗ САДРЖАЈА ДИСЕРТАЦИЈЕ

Докторска дисертација Марије Павловић написана је на 92 страна А4 формата (фонт Times New Roman; величина 12 pt, проред 1, маргине 2 cm) и садржи 29 слика и 21 табелу. Рад обухвата следећа поглавља: Увод (1 страна), Општи део (16 страна), Наши радови (33 стране), Експериментални део (30 страна) и Литература (12 страна). Поред наведеног дисертација садржи Захвалницу, Сажетак на српском и енглеском језику (по 1 страна), Садржај (3 стране), Биографију кандидата (1 страна), Изјаву о ауторству (1 страна), Изјаву о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада (1 страна) и Изјаву о коришћењу (2 стране).

УВОД описује да се предмет и циљ истраживања ове докторске дисертације односе на значај пектинолитичких ензима у прехранбеној индустрији, посебно у производњи воћних сокова, као

и потребу за развојем стабилних и ефикасних ензимских препарата путем оптимизоване и рекомбинантне производње пектиназа пореклом из гљива и бактерија.

ОПШТИ ДЕО обухвата преглед литературе који описује истраживања о пектинским полисахаридима и пектинолитичким ензимима, њиховим особинама, функцији и изворима, као и о методологијама производње ових ензима коришћењем микроорганизама. Описује технологију производње рекомбинантних пектиназа у бактерији *Escherichia coli* и квасцу *Pichia pink* као експресионим системима. Посебан осврт дат је на њихову примену у третману и побољшању карактеристика воћних сокова.

НАШИ РАДОВИ приказују резултате добијене током израде ове дисертације, који су анализирани и упоређени са објављеним резултатима из научне литературе. Дефинисани су циљеви истраживања. Дат је преглед анализираних сојева који производе пектинолитичке ензиме из родова гљиве *Aspergillus* spp. и бактерија *Bacillus* spp. Идентификован је нови сој *Aspergillus tubingensis* FAT 43 за производњу ендо-пектиназа са којим је урађена оптимизација услова производње ових ензима. Пречишћен је ензим од интереса и урађена је његова биохемијска карактеризација, а затим је клониран у вектор pMALc5HisEk и експримиран прво у *E. coli* а затим у *P. pink* систему пошто је за активност ензима неопходна гликозилација. Такође, ген који кодира пектин лијазу из *Bacillus velezensis* 16B је по први пут у свету клониран у овом докторском раду, при чему је као експресиони вектор коришћен pQE_Ek за експресију у *E. coli*, након чега је ензим пречишћен и биохемијски окарактерисан. Ови ензими су примењени за третман воћних каша, при чему су добијени сокови са већим приносом, бистрином, бољим антиоксидативним својствима и стабилнији приликом складиштења. У оквиру НАШИХ РАДОВА је закључак који садржи преглед најважнијих резултата добијених током израде ове докторске дисертације.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ДЕО описује технике и методе коришћене за добијање резултата који су приказани у делу НАШИ РАДОВИ, као и попис коришћене опреме. Детаљно је објашњено како су изведени експерименти, као и које хемикалије су коришћене. Описани су статистички модели за дизајн експеримената у оптимизацији продукције пектиназа ферментацијом на чврстој подлози, као и различите технике као што су ензимски есеји, електрофорезе (SDS и IEF), зимограмска детекција и технике рекомбинантне ДНК. Такође, описани су софтвери за биоинформатичке анализе коришћени у раду. Хроматографске технике, као што су гел хроматографија, јоноизмењивачка, афинитетна хроматографија и TLC, као и поступак идентификације пектиназе течном хроматографијом спрегнутом са тандем масеном спектрометријом, такође су детаљно описани. На крају, у овом поглављу су дати поступци за

ензимски третман воћних каша, као и за отечњавање, избистривање сокова, одређивање антиоксидативног потенцијала и стабилности сокова.

ЛИТЕРАТУРА се састоји од 179 референце наведене према редоследу појављивања у тексту.

Б. КРАТАК ОПИС ПОСТИГНУТИХ РЕЗУЛТАТА

Резултати ове дисертације показали су да се два типа пектинолитичких ензима – ендо-полигалактуроназа (ПГ II) и пектин лијаза (*BvPelB*) – који се користе за разградњу пектинских полисахарида, могу ефикасно применити у третману различитих воћних сокова. Ензимски третман воћних сокова довео је до значајног побољшања приноса, бистрине, стабилности и антиоксидативне активности, у поређењу са нетретираним соковима.

ПГ II из *A. tubingensis* FAT43 је један од најстабилнијих мезотермалних киселих ПГ ензима, што га чини изузетно погодним за примену у индустријским процесима који захтевају стабилност при различитим температурама. Посебан научни допринос овог истраживања односи се на идентификацију и прецизну карактеризацију ПГ II као најактивније пектин хидролазе у комплексу ензима које производи *A. tubingensis* FAT43. Иако у литератури постоје подаци о ПГ II, као једне од компоненти ензимског система за разградњу пектина, до сада није био доступан ниједан податак о њеној карактеризацији и рекомбинантној експресији. У оквиру овог рада, први пут је детаљно биохемијски окарактерисан, а затим успешно клониран ген за ПГ II из *A. tubingensis*, експримиран у *P. pink*. Овај ензим је показао изузетно повољна својства у погледу рН стабилности, температурне стабилности и специфичности према супстрату. Поређењем активности ПГ II са другим пектинолитичким ензимима из *A. tubingensis*, утврђено је да ПГ II има доминантну улогу у хидролизи пектина. Оваква активност и стабилност ПГ II до сада нису описане у литератури за било који природни или рекомбинантни облик ПГ II из *A. tubingensis*, а на тржишту не постоји ниједан комерцијални производ који садржи клонирани ПГ II из ове врсте, што представља јединствену иновацију овог истраживања.

Успешном рекомбинантном производњом ензима ПГ II и његовом детаљном карактеризацијом, ова докторска дисертација даје значајан допринос разумевању функције пектиназе из рода *Aspergillus*, као и могућностима њихове примене у индустријама које захтевају високоактивне и стабилне ензиме – посебно у производњи и обради воћних сокова.

Пектин лијаза (*BvPelB*) из *Bacillus velezensis* 16В представља још један значајан резултат ове дисертације. У овом истраживању, *BvPelB* је по први пут успешно клониран, експримиран у *E. coli* и детаљно биохемијски окарактерисан. Клонирање гена за пектинолитичке ензиме у *E. coli* је још један важан аспект истраживања, јер је производња ензима у овом систему омогућила високе приносе и брзо добијање протеина. Посебно је важно нагласити да експресиони вектори

који су коришћени у овом раду обезбеђују лако пречишћавање рекомбинантних ензима, јер протеинима додају His-6-ознаке за афинитетну хроматографију везивања за метал, који се након пречишћавања могу уклонити ентерокиназом.

Рекомбинантна BvPelB показала је високу стабилност у неутралним и благо алкалним рН условима, што је чини изузетно погодном за третман воћних каша које садрже додате протеине, као што су функционални воћни производи. При овим рН вредностима не долази до денатурације и таложења протеина, чиме се избегава замућење и омогућава добијање стабилних и визуелно атрактивних производа.

Овим истраживањем је први пут доказано да пектин лијаза из *B. velezensis* може представљати вредан ензимски алат у развоју нових стабилних и нутритивно обогачених воћних производа. Додатно, преостала воћна пулпа након ензимске обраде се смањује и добија нову вредност као секундарна сировина. Таква прерађена пулпа може се даље користити у производњи дијететских влакана, као додатак сточној храни или као супстрат у микробиолошким ферментацијама. На тај начин, овај процес доприноси одрживости, смањујући биолошки отпад и омогућавајући вишеструку употребу биомасе у различите сврхе.

В. УПОРЕДНА АНАЛИЗА РЕЗУЛТАТА КАНДИДАТА СА РЕЗУЛТАТИМА ИЗ ЛИТЕРАТУРЕ

Резултати добијени у оквиру истраживања ове докторске дисертације, допуњују и проширују постојећа знања о пектинолитичким ензимима, са нагласком на рекомбинантну производњу и карактеризацију ензима из различитих микробиолошких извора, чиме је омогућена процена потенцијала испитиваних ензима, нарочито у индустријским процесима, посебно у условима где је потребна висока стабилност и ефикасност ензима.

У овом истраживању, акценат је стављен на карактеризацију ензима добијених из новог соја *A. tubingensis* FAT43, који је претходно изолован и идентификован. Анализом је утврђено да овај сој има биотехнолошки потенцијал, нарочито у производњи ендо-полигалактуроназе (ПГ II). Индукција производње пектинолитичких ензима ферментацијом на чврстој подлози била је најзначајнија када су као извор угљеника коришћени супстрати богати пектином, попут резанаца шећерне репе, што је у складу са раније објављеним подацима за *A. niger* N400 и *A. tubingensis* NW756 (1). ПГ II из соја *A. tubingensis* FAT43 се издваја по изузетној стабилности у погледу рН и температуре. У поређењу са литературним подацима, ПГ II из *A. tubingensis* FAT43 показује боље резултате од ПГ из *A. niger* NRC1ami и *A. japonicus*, који имају знатно нижу рН стабилност у истим условима (2, 3). Поред тога, већина полигалактуроназа из *Aspergillus* врста показује термалну нестабилност, попут ПГ из *A. terreus* и *A. japonicus*, који имају полуживот од 2 сата на

температури од 40–50°C (4). Насупрот томе, ПГ II из *A. tubingensis* FAT43 представља један од најстабилнијих мезотермалних киселих ПГ ензима, са полуживотом од 13,7 сати на 40°C и 5,4 сата на 50°C, што га чини изузетно погодним за примену у индустријским процесима који захтевају стабилност при различитим температурама. Примена ПГ II анализирана је у контексту третмана различитих воћних сокова. Сок од јагода, након ензимског третмана, показао је повећан антиоксидативни потенцијал, што је било у складу са високим вредностима добијеним DPPH и FRAP тестовима. Ови резултати су у супротности са претходним истраживањима у којима третман пектиназама из *A. niger* није довео до повећања антиоксидативног потенцијала (5).

За разлику од бројних окарактерисаних пектат лијаза из родова *Aspergillus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Erwinia*, *Klebsiella*, *Paenibacillus* и *Streptomyces*, пектин лијазе су знатно мање истражене, а њихова примена у индустријским условима је ограничена услед ниске стабилности и активности. Због тога постоји потреба за откривањем нових ензима који су ефикасни и стабилни при различитим условима (6, 7, 8). У овом раду први пут је клонирана, експримирана и биохемијски окарактерисана пектин лијаза из *Bacillus velezensis* 16B. Иако је протеинска секвенца овог ензима већ постојала у базама података (GenBank: MCX3306259.1, MCX8440859.1, MEC1338636.1, OQV51584.1, ULN20295.1), нема литературних података о њеној карактеризацији. Поред тога, постојећа истраживања се углавном фокусирају на пектинолитичке ензиме који су активни у киселим pH условима за третман воћних сокова. Међутим, ови резултати показују да пектин лијаза (BvPelB) из *Bacillus velezensis* 16B задржава више од 95% своје активности у неутралном и благо алкалном pH опсегу. Ова открића су важна јер кисели pH у соковима често доводи до таложења протеина, што негативно утиче на текстуру и смањује рок трајања финалног производа. Подешавање pH на неутралне вредности, око pH 6, као и примена пектин лијаза које остају активне у овим условима, омогућава побољшање стабилности и квалитета воћних сокова. На тај начин се добијају висококвалитетне базе за производњу воћних напитака, уз очување нутритивне вредности и побољшање технолошке стабилности производа (9). Рекомбинантна BvPelB показала је високу стабилност у алкалним и температурним условима, сврставајући је међу најстабилније пектин лијазе пореклом из мезофилних бактерија које су до сада описане. Добијена термална стабилност за рекомбинантну BvPelB је значајно виша од раније објављених вредности за комерцијалне пектин лијазе (10).

Литература:

1. Bussink HJD, Buxton FP, Visser J. Expression and sequence comparison of the *Aspergillus niger* and *Aspergillus tubingensis* genes encoding polygalacturonase II. *Curr Genet*. 1991;19(6):467-474. doi:10.1007/BF00312738;

2. Esawy MA, Gamal AA, Kamel Z. Optimization of *Aspergillus niger* NRC1ami Pectinase Using Citrus Peel Pectin, Purification, and Thermodynamic Characterization of the Free and Modified Enzyme. *Waste Biomass Valorization*. 2022;13(12):4823-4837. doi:10.1007/s12649-022-01838-2;
3. Vaz RP, Vici AC, Teixeira de Moraes Polizeli M de L, Magalhães PO, Filho EXF. Immobilization studies of a pectinase produced by *Aspergillus terreus*. *Biotechnol Appl Biochem*. 2021;68(1):197-208. doi:10.1002/bab.2004;
4. Cavalieri de Alencar Guimarães N, Glienke NN, Silva Galeano RM, et al. Polygalacturonase from *Aspergillus japonicus* (PGAj): Enzyme production using low-cost carbon source, biochemical properties and application in clarification of fruit juices. *Biocatal Agric Biotechnol*. 2022;39:102233. doi:10.1016/j.bcab.2021.102233;
5. Sandri IG, Silveira MM da. Production and Application of Pectinases from *Aspergillus niger* Obtained in Solid State Cultivation. *Beverages*. 2018;4(3):48. doi:10.3390/beverages4030048;
6. Heffron S. Structure-Based Multiple Alignment of Extracellular Pectate Lyase Sequences. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 1995;8(2):331. doi:10.1094/MPMI-8-0331;
7. Yadav S, Maurya SK, Anand G, Dwivedi R, Yadav D. Purification and characterization of a highly alkaline pectin lyase from *Fusarium lateritium* MTCC 8794. *Biologia (Bratisl)*. 2017;72(3):245-251. doi:10.1515/biolog-2017-0038;
8. Hugouvieux-Cotte-Pattat N, Condemine G, Shevchik VE. Bacterial pectate lyases, structural and functional diversity. *Environ Microbiol Rep*. 2014;6(5):427-440. doi:10.1111/1758-2229.12166;
9. Kamarei, A. R., Anglea, T. A., & Kang, Y. C. (2011). Neutralized juice-based beverages and method of making same. *U.S. Patent US2011/0081455A1*;
10. Ortega N, De Diego S, Rodríguez-Nogales JM, Perez-Mateos M, Busto MD. Kinetic behaviour and thermal inactivation of pectinlyase used in food processing. *Int J Food Sci Technol*. 2004;39(6):631-639. doi:10.1111/j.1365-2621.2004.00822.x;

Г. ОБЈАВЉЕНИ И САОПШТЕНИ РАДОВИ КОЈИ ЧИНЕ ДЕО ДИСЕРТАЦИЈЕ

Марија Павловић је до сада презентовала резултате свог научног рада у 3 рада са SCI листе, од којих сва три чине део дисертације. Радови се налазе у следећим категоријама: један рад у међународном часопису изузетних вредности (катеорија M21a), један рад у врхунском међународном часопису (катеорија M21) и један рад у истакнутом међународном часопису (M22).

Кандидат је резултате презентовао у 16 саопштења на скуповима од међународног и националног значаја од којих 4 чине део ове дисертације.

Радови у часописима међународног значаја проистекли из дисертације:

Рад у међународном часопису изузетне вредности (M21a)

1. Pavlović M., Šokarda Slavić M., Kojić M., Margetić A., Ristović M., Drulović N., Vujčić Z.; Unveiling novel insights into *Bacillus velezensis* 16B pectin lyase for improved fruit juice processing, *Food Chemistry*, 2024, 456, 140030-, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.140030>.

Рад у врхунском међународном часописима (M21)

1. Pavlović M., Margetić A., Leonardi A., Križaj I., Kojić M., Vujčić Z., Šokarda Slavić M.; Improvement of fruit juice quality: novel endo-polygalacturonase II from *Aspergillus tubingensis* FAT 43 for enhanced liquefaction, clarification, and antioxidant potential, *Food and Function*, 2024, 15, 2906-2919, <https://doi.org/10.1039/D3FO05297D>.

Рад у истакнутом међународном часопису (M22)

1. Pavlović M., Šokarda Slavić M., Ristović M., Stojanović S., Margetić A., Momčilović M., Vujčić Z.; Optimization of solid-state fermentation for enhanced production of pectinolytic complex by *Aspergillus tubingensis* FAT43 and its application in fruit juice processing, *Lett Applied Microbiology*, 2023, 76, 8, <http://dx.doi.org/10.1093/lambio/ovad083>.

Саопштења на скуповима од међународног значаја проистекли из дисертације:

Саопштења са међународног скупа штампано у изводу (M34)

1. M. Pavlović, M. Šokarda Slavić, M. Ristović, A. Margetić, S. Stojanović, M. Momčilović, Z. Vujčić, Highly active endo-pectinase from *Aspergillus tubingensis*: A novel enzyme for fruit processing. XXII EuroFoodChem Congress, Belgrade, Serbia, 14th – 16th June **2023**, p. 207, ISBN 978-86-7132-083-2;
2. M. Pavlović, A. Margetić, M. Šokarda Slavić, M. Ristović, R. Pavlović, S. Nikolić, Z. Vujčić, Production and application of pectinases in the liquefaction of apricot and blueberry juice. XI Conference of Serbian Biochemical Society "Amazing Biochemistry", 22th September **2022**, Novi Sad, Serbia, p.115, ISBN 978-86-7220-124-6 (FOC);
3. Pavlović M., Stojanović S., Dojnov B., Božić N., Vujčić Z., Margetić A., Highly active pectinases from newly isolated *Aspergillus tubingensis* strain, Book of Abstracts of the Serbian

- Biochemical Society X Conference “Biochemical Insights into Molecular Mechanisms”, 2021, Kragujevac, Serbia, p.124,
4. Pavlović M., Ristović M., Drulović N., Šokarda Slavić M., Vujčić, Z., Margetić A., Stojanović, S., Improving Juice Processing Quality and Efficiency with a Novel Pectin Lyase, 3rd European Sample Preparation Conference and 2nd Green and Sustainable Analytical Chemistry Conference, Book of Abstracts; September 15-18, 2024; Chania, Crete, Greece, 2024, 184-184.

Остали научни радови:

Рад у врхунском међународном часопису (M21)

1. Pavlović, R., Dojnov, B., Šokarda Slavić, M., Pavlović, M., Slomo, K., Ristović, M., Vujčić, Z. In pursuit of the ultimate pollen substitute (insect larvae) for honey bee (*Apis mellifera*) feed. Journal of Apicultural Research, 2022, 62(5), 1007–1016. <https://doi.org/10.1080/00218839.2022.2080950>;

Рад у истакнутом међународном часопису (M22)

1. Šokarda Slavić M., Kojić M., Margetić A., Ristović M., Pavlović M., Nikolić S., Vujčić Z.; Improvement of nutritional and bioactive properties of barley β -glucan based food products using *Bacillus subtilis* 168 endo- β -1,3-1,4-glucanase, *International Journal of Food Science and Technology*, 2023, <https://doi.org/10.1111/ijfs.16647>.

Саопштења са међународног скупа штампано у изводу (M34)

1. Pavlović, R., Dojnov, B., Šokarda Slavić, M., Pavlović, M., Tomić, N., Mišić, M., Vujčić, Z.; Expression of protease in adult honey bees fed with different patties. 9th European Congress of Apidology (EurBee9) Belgrade, Serbia (2022) p.172, ISBN 978-86-7078-173-3;
2. Pavlović, R., Dojnov, B., Šokarda Slavić, M., Slomo, K., Ristović, M., Vujčić, Z. Expression of amylases in adult honey bees fed with different patties. 2nd UNIFood International Conference –UNIFood2021 (2021), p. 196, ISBN 978-86-7522-066-4;
3. M. Ristović, S. Stojanović, M. Pavlović, A. Margetić, M. Šokarda Slavić, Z. Vujčić, Dojnov, B. Highly active xylanase used in juice clarification. XXII EuroFoodChem Congress, 14th – 16th June 2023, p. 208, ISBN 978-86-7132-083-2

4. A. Margetić, M. Šokarda Slavić, M. Ristović, S. Stojanović, M. Pavlović, Z. Vujčić, Reusing biomass in textile dyes removing from wastewater. Biotechnology for a circular bioeconomy, 28th – 29th March 2023, p. 62.;
5. M. Šokarda Slavić, A. Margetić, M. Ristović, M. Pavlović, S. Stojanović, N. Drulović, Z. Vujčić, Screening of *Bacillus* sp. protease for hydrolysis of gelatine extracted from fish waste and potential applications for waste valorisation. Biotechnology for a circular bioeconomy 28th – 29th March 2023, p. 66.;
6. S. Stojanović, M. Ristović, M. Pavlović, B. Dojnov, N. Božić, Z. Vujčić, A. Margetić, Enzymatic Production and HPLC-RID Analysis of Prebiotic Oligosaccharides in Functional Foods, 3rd European Sample Preparation Conference and 2nd Green and Sustainable Analytical Chemistry Conference, Book of Abstracts; September 15-18, 2024; Chania, Crete, Greece, 2024, 187-187;
7. M. Nemoda, M. Pavlović, M. Stoilković, T. Momić, Visual detection of quercetin using gold nanoparticles, Book of Abstracts of the 7th workshop: Specific methods for food safety and quality, 2021, Belgrade, Serbia, p.28-32, ISBN 978-86-7306-163-4;
8. V. Vasić, M. Radenković, M. Pavlović, J. Petrović, K. Nikolić, M. Momčilović, S. Živković, Analysis of spice paprika powders from Serbian market, Book of Abstracts of the 7th workshop: Specific methods for food safety and quality, 2021, Belgrade, Serbia, p.24-28, ISBN 978-86-7306-163-4.

Радови саопштени на скуповима националног значаја штампани у целини (M63)

1. M. Pavlović, M. Momčilović, S. Živković, M. Šokarda Slavić, M. Ristović, Z. Vujčić, Screening of pectinase-producing *Aspergillus* spp. for use in strawberry juice clarification, 59. Savetovanje Srpskog hemijskog društva, 1th – 2th June 2023, Novi Sad, p.55, ISBN 978-86-7132-081;

Д. ПРОВЕРА ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Оригиналност докторске дисертације под називом: аутора Марије Павловић, проверена је на начин прописан Правилником о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду (Гласник Универзитета у Београду, бр. 204/22.06.2018).

Помоћу програма “iThenticate” утврђено је да количина подударања текста износи 6%. Степен подударности који је приказан проистиче из описа експерименталних метода, навођења хемијских стандарда, латинских назива, као и из раније објављених резултата истраживања кандидата, који су део ове докторске дисертације.

На основу свега изнетог, Комисија сматра да извештај указује на оригиналност докторске дисертације, те се прописани поступак припреме за њену одбрану може наставити.

Ћ. ЗАКЉУЧАК

На основу приказаних резултата, Комисија је закључила да је у поднетој докторској дисертацији под називом „Примена нових рекомбинантних пектинолитичких ензима у побољшању карактеристика воћних сокова”, кандидаткиња Марија Павловић, мастер биохемичар, успешно одговорила на све задате/постављене циљеве.

Ова дисертација представља комплетан истраживачки процес, од изоловања микроорганизама који показују висок степен пектинолитичке активности до потпуне карактеризације гена и ензима одговорних за ову активност, клонирања гена у експресионе векторе, пречишћавања ензима и примене два рекомбинантна ензима у индустрији. Рекомбинантни ензим ПГ II, пореклом из *A. tubingensis* FAT43, по први пут у свету је успешно експримован у систему *P. pink*. Ензим је детаљно биохемијски и функционално окарактерисан, при чему је показано да је стабилан у широком опсегу рН и температуре. Такође, рекомбинантно произведени ензим BvPelB из *B. velezensis* 16B, показује активност у ширем рН и температурном опсегу, што га чини изузетно погодним за формулацију нових, функционалних прехранбених производа. Оба ензима су показала високу ефикасност у ензимској обради воћних сокова, што је довело до повећања приноса, боље бистрине, веће стабилности и побољшане антиоксидативне активности. Поред тога, истраживање је указало на могућност коришћења преостале воћне пулпе као секундарне сировине, што представља значајан корак ка одрживој биотехнологији и рационалном искоришћавању ресурса. Резултати добијени у овој докторској дисертацији представљају значајан допринос науци не само на националном већ и на светском нивоу јер неки од њих су остварени по први пут у свету. О квалитету резултата говори и висок импакт фактор часописа у којима су објављени. Неки од можда најзначајних резултата још нису публиковани у научним часописима. Такође треба нагласити да је кандидаткиња користила велики број разноврсних (од микробиолошких, биохемијских до метода рекомбинантне ДНК и експресије рекомбинантних протеина у различитим експресионим системима) што такође указује на квалитет и ширину ове докторске дисертације. Оно што ову докторску дисертацију чини још значајнијом јесте практична примена добијених резултат у индустрији. Поред тога ова докторска дисертација је поставила темеље за даљи рад на откривању, карактеризацији, рекомбинантној производњи и примени нових пектинолитичких ензима који би ушли у састав ензимских комплекса за третман воћних сокова.

Имајући у виду све наведене резултате и научне доприносе, а у складу са Законом о високом образовању, Статутом Универзитета у Београду – Хемијског факултета, Комисија сматра да су испуњени сви услови за одбрану докторске дисертације и са задовољством предлаже Наставно-научном већу Универзитета у Београду – Хемијског факултета да прихвати и одобри докторску дисертацију Марије Павловић, под насловом „Примена нових рекомбинантних пектинолитичких ензима у побољшању карактеристика воћних сокова”, у поступку за стицање академског звања доктора биохемијских наука.

У Београду, 2025. године

Чланови комисије:

др Милан Којић, научни саветник

Института за вирусологију, вакцине и серуме „Торлак“

др Марија Гавровић-Јанкуловић, редовни професор

Универзитет у Београду - Хемијски факултет

др Милан Николић, ванредни професор

Универзитет у Београду - Хемијски факултет

