

**НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ -
БИОЛОШКОГ ФАКУЛТЕТА**

На V редовној седници Наставно-научног већа Универзитета у Београду- Биолошког факултета, одржаној 08. 03. 2024. године, на основу молбе ментора, др Јасмине Никодиновић-Рунић, научног саветника Универзитета у Београду-Института за молекуларну генетику и генетичко инжењерство, и др Бранка Јовчића, редовног професора Универзитета у Београду-Биолошког факултета, одређена је Комисија за преглед и оцену докторске дисертације **Бране П. Пантелића**, истраживача сарадника Универзитета у Београду-Института за молекуларну генетику и генетичко инжењерство, под насловом „**Изолација бактерија и карактеризација њихових ензима са циљем развијања биокатализатора за биодеградацију пластике**“, у саставу:

1. др Сандра Војновић, научни саветник, Универзитет у Београду-Институт за молекуларну генетику и генетичко инжењерство;
2. др Горан Вукотић, доцент, Универзитет у Београду-Биолошки факултет.
3. др Веселин Маслак, ванредни професор, Универзитет у Београду-Хемијски факултет;

Комисија је прегледала урађену докторску дисертацију кандидата и Наставно-научном већу Универзитета у Београду-Биолошког факултета подноси следећи

ИЗВЕШТАЈ

Општи подаци о докторској дисертацији

Докторска дисертација **Бране П. Пантелића** под називом „**Изолација бактерија и карактеризација њихових ензима са циљем развијања биокатализатора за биодеградацију пластике**“ представља оригинално научно истраживање чији је експериментални део реализован у Групи за еко-биотехнологију и развој лекова, Универзитет у Београду-Институт за молекуларну генетику и генетичко инжењерство, у оквиру Horizon 2020 пројекта *BioICEP* (Ев. бр. 870292) финансираног од стране Европске комисије и Програма рада од стране Министарства науке, технолошког развоја и иновација Републике Србије (2024: 451-03-66/2024-03/200042, 2023: 451-03-47/2023-01/200042) као и Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије (2022: 451-03-68/2022-14/200042, 2021: 451-03-9/2021-14/200042, 2020: 451-03-68/2020-14/200042)

Докторска дисертација је написана на 114 страна и подељена је на 6 поглавља: УВОД (13 страна), ЦИЉ ИСТРАЖИВАЊА (1 страна), НАУЧНИ РАДОВИ

ПРОИЗАШЛИ ИЗ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ (75 страна), ДИСКУСИЈА (11 страна), ЗАКЉУЧЦИ (1 страна) и ЛИТЕРАТУРА (13 страна). У оквиру докторске дисертације налазе се 4 научна рада у целости, 3 слике и 1 табела. Дисертација садржи и следеће непагиниране стране које обухватају: насловне стране на српском и енглеском језику, податке о менторима и члановима Комисије, изјаве захвалности, сажетак докторске дисертације са кључним речима на српском и енглеском језику, листу скраћеница, садржај, биографију и изјаве кандидата (Изјава о ауторству, Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторске дисертације и Изјава о коришћењу).

Анализа докторске дисертације

Прво поглавље докторске дисертације, **УВОД**, подељено је на пет потпоглавља која обухватају релевантне литературне податке који доприносе разумевању значаја теме докторске дисертације. У првом потпоглављу под насловом **Пластика и пластични отпад** кандидат је детаљно описао кључне карактеристике овог материјала и његов утицај на савремено друштво. Посебно је истакао значај пластике у различитим индустријама, узимајући у обзир њену издржљивост, хемијску инертност, хидрофобност и ниску цену. Анализирао је најчешће коришћене врсте пластике, попут поли(етилена) (ПЕ), поли(пропилена) (ПП), поли(стирена) (ПС), поли(етилентерефталата) (ПЕТ), поли(уретана) (ПУ) и других, наглашавајући да се преко 98% пластике производи из необновљивих фосилних ресурса.

У другом потпоглављу, **Стратегије смањивања пластичног отпада**, кандидат је систематизовано представио кључне стратегије за смањење акумулације пластичног отпада, фокусиравши се на основне концепте управљања пластичним отпадом. Приказао је постепено одустајање од спаљивања пластике у корист одрживијих метода, попут механичког, хемијског и биолошког рециклирања. Укратко је описао механичко рециклирање пластике, истражујући процес физичког уситњавања и обраде пластичних материјала. Затим је истражио хемијско рециклирање, представљајући различите технике као што су пиролиза, хидролиза, метанолиза и гликолиза. Кандидат је посебно истакао "*upcycling*" као концепт који захтева мањи утрошак енергије а као резултат има једињења са додатом вредношћу. У погледу хемијског рециклирања, кандидат је препознао изазове, укључујући економске и еколошке факторе, а затим истражио иновативне приступе који захтевају мање ресурса и енергије. Такође је указао на значај биокатализе као алтернативе, описујући молекуларне механизме разградње пластичних полимера од стране дензима и микроорганизама. Закључно, кандидат је нагласио напоре усмерене ка замени пластике одрживим материјалима, укључујући биоразградиву биопластику. Овај преглед приступа смањењу пластичног отпада сведочи о холистичком приступу кандидата и његовом разумевању комплексности проблема, као и активном учешћу у истраживању одрживих решења.

У трећем потпоглављу, **Биотехнолошки третман пластичног отпада**, кандидат је дао дубоко разрађен приказ еволуције биокатализе као кључне стратегије у суочавању са проблемом пластичног отпада. Затим је детаљно истражио механизме разградње пластике у спољашњој средини које укључујује синергистичко деловање абиотичких и биотичких фактора, уз нагласак на улогу микроорганизама. Поред тога, кандидат пружа

увид у разноврсност ензима попут естераза, кутиназа, липаза, лаказа и пероксидаза, који су кључни актери у процесима разградње пластике. Даје анализу биоразградивости пластике, са фокусом на нехидролизабилне (ПЕ, ПП, ПС) и хидролизабилне полимере (ПЕТ и ПУ), и указује на значајну предност хидролизабилних полимера у биотехнолошким приступима. Кроз детаљан приказ микроорганизама способних за разградњу пластике, представља и податке о ензимима активним на пластици. Кандидат истиче кључне аспекте биокатализе као одрживе и економски исплативе стратегије за третман пластичног отпада. Кроз следећа четири потпоглавља кандидат ставља акценат на микроорганизме и ензиме истакнуте у разградњи ПЕТ и ПУ. Осврће се на бактерију *Ideonella sakaiensis* и ензим LCC коришћен у једином индустријском процесу за разградњу ПЕТ. Додатно, јасно истиче да услед комплексне структуре ПУ тренутно не постоји ефикасан биотехнолошки процес за разградњу ове врсте пластичних полимера и указује се на потребу за додатним истраживањима која би укључивала различите комбинације ензима микроорганизама.

У четвртом поглављу, **Биопластика**, кандидат је описао стратегију смањења пластичног отпада кроз замену тешко разградивих материјала одрживим и биоразградивим алтернативама. Кандидат дефинише биопластику као полимере изведене из биомасе или мономера пореклом из ње и представља најчешће коришћене врсте биопластике поли(хидроксиалканоате), поли(капролактон), поли(бутилен-сукцинат), поли(млечну киселину) и поли(винил-алкохол). Истиче да иако представља само 1,5% укупне светске производње пластике, биопластика се сматра одрживом алтернативом. Коначно, кандидат наглашава да нека истраживања истичу потенцијалне проблеме биопластике с обзиром да нису све врсте биопластике биоразградиве и представљају могућност контаминације отпадних токова других пластика.

У петом потпоглављу, **Биолошка валоризација пластичног отпада**, кандидат се осврће на начине коришћења пластичног отпада у производњи једињења и материјала са додатом вредношћу. Представља методе које обухватају пиролизу пластичних материјала, као што су ПС и ПЕТ, где су производи пиролизе усмерени ка производњи биопластике уз помоћ микроорганизама. Додатно, представља истраживања која су искористила ПЕТ и ПУ за добијање високо вредних једињења, као што су ПХА, муконска киселина, и друга једињења са додатом вредношћу, као и стратегије у којима генетички модификовани микроорганизми конвертују мономере пластике у медицински значајна једињења. Ипак, наводећи пример ензимске разградње ПЕТ која се показала као потенцијално неодржива алтернатива, кандидат упозорава на потребу за детаљним анализама животног циклуса ових процеса како би се обезбедила одрживост биотехнолошких стратегија валоризације пластичног отпада.

У поглављу **ЦИЉЕВИ ИСТРАЖИВАЊА** циљеви докторске дисертације су приказани јасно и концизно. Узимајући у обзир потенцијал употребе биотехнолошких метода за смањење пластичног отпада, кандидат поставља идентификовање и карактеризацију потенцијалних биокатализатора, како бактеријских сојева, тако и њихових ензима који се могу употребити у процесима разградње и валоризације пластичног отпада као главни циљ докторске дисертације. Додатно, наглашава да је акценат стављен на ПЕТ и ПУ као полимере погодне за хидролизу од стране микроорганизама. Поред главног дефинише и шест специфичних циљева докторске дисертације:

1. Утврдити потенцијал колекције микроорганизама Групе за еко-биотехнологију и развој лекова (ИМГГИ) из загађених и незагађених станишта за разградњу пластике;
2. Испитати механизам разградње ПЕТ од стране микроорганизама који су показали највећи потенцијал за разградњу;
3. Утврдити који ензими одабраних сојева су укључени у разградњу ПЕТ;
4. Испитати механизам разградње ПУ од стране микроорганизама који су показали највећи потенцијал за разградњу;
5. Утврдити који ензими одабраних сојева су укључени у разградњу ПУ и ефекат разградње на централни метаболизам;
6. Успоставити систем за претварање различитих пластичних полимера у једињења са додатом вредношћу- поли(хидроксибутират) и ундецилпродигиозин.

У оквиру поглавља **НАУЧНИ РАДОВИ ПРОИЗАШЛИ ИЗ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ** приложена су четири научна рада. У првом научном раду, под насловом „A novel *Bacillus subtilis* BPM12 with high bis(2 hydroxyethyl)terephthalate hydrolytic activity efficiently interacts with virgin and mechanically recycled polyethylene terephthalate“ кандидат приказује изолацију и карактеризацију новог соја, *Bacillus subtilis* BPM12, са потенцијалом разградње ПЕТ пластике. Овај сој показао је високу ефикасност разградње БХЕТ при широком опсегу температура и рН вредности. Поред тога, кандидат је додатно окарактерисао разградњу ПЕТ мономера и олигомера од стране овог соја и показао добро познавање хроматографских метода. Употребом одговарајућих техника генетичког инжењерства идентификовао је ензим Bpm12CE као кључни ензим укључен у разградњу градивних јединица ПЕТ. Додатно, истраживање је обухватило и механички рециклиране ПЕТ филмове, с открићем да сој *B. subtilis* BPM12 успешно формира биофилм на површинама филмова. Финално, кандидат наглашава предности употребе овог соја који има урођену способност разградње градивних јединица ПЕТ и формирања биофилма као експресионе платформе за различите ензиме који разграђују ПЕТ.

У другом научном раду, под насловом „Set of small molecule polyurethane (PU) model substrates: Ecotoxicity evaluation and identification of PU degrading biocatalysts“, кандидат се осврће на разградњу ПУ и проблеме везане за одређивање ефикасности разградње ове врсте полимера. Употребом модел једињења која садрже и уретанску и естарску везу, из колекције од 220 бактеријских сојева идентификује нови бикотализатор за разградњу ПУ- *Amycolatopsis mediterranei* ISP5501. Затим, кандидат детаљно описује механизам хидролизе уретанске везе од стране овог соја наглашавајући важност јасне дистинкције између хидролизе уретанске или естарске везе током разградње ПУ. Даље, кандидат представља биоинформатичку анализу која за резултат има идентификовање неколико естераза за које се претпоставља да учествују у овом процесу. Коначно, доказује а *A. mediterranei* ISP5501 може да разграђује и различите врсте комерцијално доступних ПУ материјала, смањујући просечну молекулску масу за 13,5%.

У трећем научном раду, под насловом „Proteomic examination of polyester-polyurethane degradation by *Streptomyces* sp. PU10: Diverting polyurethane intermediates to secondary metabolite production“ кандидат је испитивао ефекте ПУ на заједнице микроорганизама у земљишту током 18 месеци, откривајући да је ПУ отпад има маргиналне ефекте на укупну разноврсност присутних микроорганизама. Међутим,

бактеријски сој *Streptomyces* sp. PU10, изолован из оваквог, ПУ-обогаћеног земљишта, показао се изузетним у разградњи ПУ дисперзије „Импранил“ са преко 96% разградње. Кандидат је идентификовао и протеине укључене у разградњу и метаболичке промене које се јављају у овом соју са Импранилом као јединим извором угљеника, користећи квантитативну протеомику. Предложени механизам разградње имплицирао је деловање три ензима: естеразе, амидазе и оксидазе. Надаље, помоћу података о промени експресије унутарћелијских ензимима доказано је да се интермедијери разградње ПУ инкорпорирају у метаболизам *Streptomyces* sp. PU10 преко пута катаболизма масних киселина и усмеравају ка биосинтези поликетиди. На основу ових резултата кандидат је предложио употребу *Streptomyces* сојева за валоризацију пластичних материјала у потенцијално медицински значаје секундарне метаболите.

Закључно, у четвртном раду, под насловом „Upcycling Biodegradable PVA/Starch Film to a Bacterial Biopigment and Biopolymer“ кандидат представља систем за валоризацију пластичног отпада употребом сојева *Streptomyces* sp. JS520 и *Ralstonia eutropha* H16. Биопластични филмови сачињени од скроба и поли(винил-алкохола) коришћени су као извор угљеника за ове сојеве који су производили вредни биополимер поли(хидроксибутират) и анти-канцер агенс ундецилпродигиозин. Упркос ниским приносима од 8% суве ћелијске масе за поли(хидроксибутират) и 5,3 g/l ундецилпродигиозина кандидат подсећа да резултати из овог рада представљају само доказ концепта и да се приноси оба једињења могу знатно побољшати даљом оптимизацијом.

У оквиру поглавља **ДИСКУСИЈА** кандидат је на јасан и садржајан начин сумирао резултате докторске дисертације приказане у оквиру четири приложена научна рада и анализирао их у контексту 206 релевантних литературних података коришћених у овој докторској дисертацији. У својој анализи, кандидат је показао изузетну зрелост и аналитичку способност, интерпретирајући своје налазе у светлу постојеће литературе. Такође, показао је дубоко разумевање и способност да артикулише потенцијални утицај ових резултата на развијање биотехнолошких метода за збрињавање пластичног отпада.

У поглављу **ЗАКЉУЧЦИ** кандидат је на јасан начин престабио закључке ове докторске дисертације кроз 7 појединачних закључака којима је потврђено да су остварени сви постављени циљеви ове докторске тезе.

1. *B. subtilis* BPM12 се може користити у биотехнолошкој разградњи ПЕТ с обзиром да има активност на мономерима и олигомерима који улазе у састав ПЕТ, изазива морфолошке промене на ПЕТ филмовима и везује се за површину рециклираног и нерциклираног ПЕТ;

2. Карбоксилестераза названа Bpm12CE има кључну улогу у разградњи ПЕТ мономера и олигомера, чинећи *B. subtilis* BPM12 погодном платформом за експресију различитих ПЕТаза;

3. *A. mediterranei* ISP5501 се може користити у биотехнолошкој разградњи ПУ с обзиром да специфично хидролизује уретанску (карбаматну) везу у једињењима ниске молекулске масе и разграђује како полиестарске тако и полиетарске ПУ;

4. *Streptomyces* sp. PU10 се може користити у биотехнолошкој разградњи ПУ с обзиром да се показао као један од најпотентнијих сојева за разградњу полиестарске ПУ дисперзије Импранила;

5. Разградња ПУ од стране *Streptomyces* sp. PU10 укључује синергистичко дејство више ензима: естераза Est_PU10 је задужена за највећи део разградње кроз хидролизу естарских веза, амидаза Am_PU10 хидролизује уретанску (карбаматну) везу у интермедијерима разградње, док оксидаза Oхг_PU10 доприноси разградњи до сада још непознатим механизмом;

6. Приликом разградње ПУ, *Streptomyces* sp. PU10 инкорпорира продукте разградње у примарни метаболизам кроз пут катаболизма масних киселина, које затим каналише ка биосинтези поликетида, међу којима је и ундецилпродигиозин;

7. Употребом *Ralstonia eutropha* H16 и *Streptomyces* sp. JS520 биоразградиви скроб/ПВА филмови могу се превести у ПХБ и ундецилпродигиозин, пружајући начин валоризације отпадне биопластике у једињења са додатом вредношћу.

Радови и конгресна саопштења из докторске дисертације

Б1. Радови у часописима међународног значаја

1. **Pantelic, B.**, Ponjavic, M., Jankovic, V., Aleksic, I., Stevanovic, S., Murray, J., Fournet, M.B., Nikodinovic-Runic, J., 2021. Upcycling biodegradable PVA/starch film to a bacterial biopigment and biopolymer, *Polymers*, 13 3692.
[doi: 10.3390/polym13213692](https://doi.org/10.3390/polym13213692)
(M21, IF₂₀₂₁ 4.96, Oblast: 16/90 Polymer Science)
2. **Pantelic, B.**, Skaro Bogojevic, S., Milivojevic, D., Ilic-Tomic, T., Lončarević, B., Beskoski, V., Maslak, V., Guzik, M., Makryniotis, K., Taxeidis, G., 2023. Set of Small Molecule Polyurethane (PU) Model Substrates: Ecotoxicity Evaluation and Identification of PU Degrading Biocatalysts, *Catalysts*, 13 278.
[doi: 10.3390/catal13020278](https://doi.org/10.3390/catal13020278)
(M22, IF₂₀₂₁ 4.50, Oblast: 71/165 Chemistry, Physical)
3. **Pantelic, B.**, Araujo, J.A., Jeremic, S., Azeem, M., Attallah, O.A., Siaperas, R., Mojicevic, M., Chen, Y., Fournet, M.B., Topakas, E., 2023. A novel *Bacillus subtilis* BPM12 with high bis (2 hydroxyethyl) terephthalate hydrolytic activity efficiently interacts with virgin and mechanically recycled polyethylene terephthalate, *Environmental Technology & Innovation*, 32 103316.
[doi: 10.1016/j.eti.2023.103316](https://doi.org/10.1016/j.eti.2023.103316)
(M21, IF₂₀₂₁ 7.75, Oblast: 18/161 Biotechnology & Applied Microbiology)
4. **Pantelic, B.**, Siaperas, R., Budin, C., de Boer, T., Topakas, E., Nikodinovic-Runic, J., 2024. Proteomic Examination of Polyester-Polyurethane Degradation by *Streptomyces* sp. PU10: Diverting Polyurethane Intermediates to Secondary Metabolite Production, *Microbial Biotechnology*, 00, e14445.
[doi: 10.1111/1751-7915.14445](https://doi.org/10.1111/1751-7915.14445)
(M21, IF₂₀₂₂ 5.70, Oblast: 26/159 Biotechnology & Applied Microbiology)

Б2. Конгресна саопштења на скуповима међународног значаја

1. **Pantelic, B.**, Azeem, M., Jeremic, S., Mojicevic, M., Milovanovic, J., Chen, Y., Brennan Fournet, M., Nikodinovic-Runic, J., Mimicking recycling process through multiple extrusion of polyethylene terephthalate (PET) affects the enzymatic degradation of the polymer. Biocatalysis for the Biological Transformation of Polymer Science, Cologne, Germany, 27-29 June 2022, Book of Abstracts, p. 66 (M34)
2. **Pantelic, B.**, Skaro Bogojevic, S., Siaperas, R., Maslak, V., Topakas, E., Nikodinovic-Runic, J., Searching for novel microorganisms and enzymes for polyurethane degradation. 9th International Conference of MIKROBIOKOSMOS "Beneficial Microbes at the Heart of Mikrobiokosmos", Athens, Greece, December 16-18, 2021. Book of Abstracts, p. 166 (M34)
3. **Pantelic, B.**, Milovanovic, J., Jankovic, V., Djapovic, M., Maslak, M., Nikolaivits, E., Siaperas, R., Topakas, E., Nikodinovic-Runic, J., Towards novel polyethylene terephthalate (PET)-ases: Whole-cell biotransformation of PET-related substrates. 15th International Symposium on Biocatalysis and Biotransformations, Graz, Austria, July 19-22, 2021. Book of Abstracts, p. 386. (M34)
4. **Pantelic, B.**, Mojicevic, M., Taxeidis, G., Nikolaivits, E., Djapovic, M., Milovanovic, J., Nikodinovic-Runic, J., Selective degradation of polyethylene terephthalate (PET) - related substrates by *Penicillium* sp. MM41. European Federation of Biotechnology 2021. Virtual Conference, May 10-14, 2021. (M34)

Провера оригиналности докторске дисертације

Докторска дисертација кандидата **Бране П. Пантелића**, број индекса М3004/2019, послата је у Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ дана 11. 03. 2024. године на софтверску проверу оригиналности коришћењем програма iThenticate. Извештај који садржи резултате провере оригиналности пристигао је истог дана. Електронском провером оригиналности докторске дисертације кандидата Бране Пантелића утврђено је да подударане текста износи 7%. Детаљним увидом у Извештај утврђено је да су појединачна подударанја пре свега последица цитирања библиографских података, навођења личних имена и афилијација ментора, чланова комисије и аутора, скраћеница и пуних назива молекула на српском и енглеском језику.

Уочена преклапања краћих делова у оквиру различитих реченица нису повезана и не чине логичку целину и у складу су са чланом 9. Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду („Гласник Универзитета у Београду“, број 201/18).

Када се све изнето узме у обзир, извештај указује на оригиналност докторске дисертације кандидата **Бране П. Пантелића**, под насловом „**Изолација бактерија и карактеризација њихових ензима са циљем развијања биокатализатора за биодеградацију пластике**“, те се прописани поступак припреме за њену одбрану може наставити.

Мишљење и предлог Комисије

Докторска дисертација кандидата **Бране П. Пантелића**, истраживача сарадника Универзитета у Београду-Института за молекуларну генетику и генетичко инжењерство, под насловом "**Изолација бактерија и карактеризација њихових ензима са циљем развијања биокатализатора за биодеградацију пластике**", представља оригинални научно-истраживачки рад и значајан напредак у области развоја биотехнолошких стратегија за решавање проблема пластичног отпада. Кандидат је успешно идентификовао три бактеријска соја способна за разградњу ПЕТ и ПУ, отварајући нове перспективе за ефикасно и еколошки одрживо збрињавање пластичног отпада. Кроз идентификацију ензима одговорних за ову активност и релевантних метаболичких путева, ова дисертација доприноси разумевању биолошких механизма који се налазе у основи разградње пластике. Додатно, кроз описане системе за валоризацију пластичног отпада пружа и пут ка економској исплативости оваквих процеса. Свеукупно овај рад представља значајан корак у развијању одрживих технологија усмерених ка решавању важних еколошких проблема данашњице.

Комисија сматра да докторска дисертација **Бране П. Пантелића** на основу постављених циљева, примењених методолошких приступа, добијених резултата и њиховог тумачења, представља изузетан допринос развоју биотехнолошких стратегија за разградњу и валоризацију пластичних материјала.

На основу приложеног, Комисија са задовољством предлаже Наставно-научном већу Биолошког факултета Универзитета у Београду да прихвати овај Извештај и одобри кандидату **Брани П. Пантелићу** јавну одбрану докторске дисертације под насловом „**Изолација бактерија и карактеризација њихових ензима са циљем развијања биокатализатора за биодеградацију пластике**“.

У Београду, 12.3.2024. године.

КОМИСИЈА:

др Сандра Војновић, научни саветник,
Универзитет у Београду-Институт за молекуларну генетику и генетичко инжењерство

др Веселин Маслак, ванредни професор,
Универзитет у Београду-Хемијски факултет

др Горан Вукотић, доцент,
Универзитет у Београду-Биолошки факултет