

УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ

ТЕХНОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ

ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ
<p>1. Датум и орган који је именовao комисију:</p> <p>14.11.2014. год., Наставно-научно веће Технолошког факултета, Универзитета у Новом Саду</p>
<p>2. Састав комисије са назнаком имена и презимена сваког члана, звања, назива уже научне области за коју је изабран у звање, датума избора у звање и назив факултета, установе у којој је члан комисије запослен:</p> <p>Проф. др Миле Клашња, редовни професор, Биотехнологија, 15.03.2006., Технолошки факултет, Нови Сад</p> <p>Проф. др Марина Шћибан, редовни професор, Биотехнологија, 13.02.2014., Технолошки факултет, Нови Сад</p> <p>Проф. др Мирјана Антов, редовни професор, Биотехнологија, 01.07.2011., Технолошки факултет, Нови Сад</p> <p>Проф. др Зорица Кнежевић-Југовић, редовни професор, 22.01.2014., Биотехнологија, Технолошко-металуршки факултет, Београд</p>
II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ
<p>1. Име, име једног родитеља, презиме:</p> <p>Јелена, Миленко, Продановић</p>
<p>2. Датум рођења, општина, држава:</p> <p>20.03.1981., Лозница, Србија</p>
<p>3. Назив факултета, назив студијског програма дипломских академских студија – мастер и стечени стручни назив:</p> <p>Технолошки факултет Нови Сад, фармацевтско инжењерство, дипломирани инжењер технологије</p>
<p>4. Година уписа на докторске студије и назив студијског програма докторских студија:</p> <p>2007. година, студијски програм Прехрамбено-биотехнолошке науке</p>

III НАСЛОВ ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Природни коагуланти из зрна пасуља (*Phaseolus vulgaris*) у обради воде

IV ПРЕГЛЕД ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Докторска дисертација је написана јасно и прегледно, и садржи све неопходне делове научно-истраживачког рада који су организовани у следећа поглавља:

- ❖ Увод и циљ рада (стр. 1)
- ❖ Преглед досадашњих истраживања (стр. 2 – 43)
- ❖ Експериментални део (стр. 44 – 53)
- ❖ Резултати и дискусија (стр. 54 – 144)
- ❖ Закључак (стр. 145 – 149)
- ❖ Литература (стр. 150 – 157)

Рад има 157 страна А4 формата, 95 слика, 32 табеле и 119 литературних навода. Поред тога рад садржи Кључну документацијску информацију са изводом на српском и енглеском језику.

V ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ:

У првом поглављу докторске дисертације, **Увод и циљ рада**, истиче се значај воде за људску заједницу, затим се наводе врсте честица које се налазе у водама у природи и поступци за њихово уклањање. Укратко су објашњени поступци коагулације и флокулације, као најчешће примењиване методе за бистрење воде, наводе се средства која се стандардно примењују у те сврхе уз опаску да она имају бројне недостатке, и да се у научној заједници тежи проналаску алтернативних коагуланата/флокуланата који би их заменили, па се у последње две деценије интензивно истражују коагуланти добијени из природних извора, тј. природни коагуланти. Као циљ рада наводи се испитивање могућности добијања природних коагуланата из зрна пасуља као лако доступног и обновљивог извора. Циљ истраживања је јасно формулисан и омогућава доношење конкретних закључака.

Поглавље **Преглед досадашњих истраживања** садржи три подпоглавља. У оквиру првог подпоглавља *Теорија коагулације и флокулације* појашњено је од чега, и на који начин, зависи стабилност честица у води, објашњени су феномени коагулације и флокулације кроз механизме путем којих се одвијају и наведени и објашњени фактори који утичу на коагулацију и флокулацију. У делу *Предности и недостаци традиционалних коагуланата и флокуланата* су изнете позитивне стране примене коагуланата на бази соли метала и синтетских органских полимера у обради воде, а потом су дати преглед и резултати истраживања везаних за негативне стране њихове примене, са посебним освртом на оне које се односе на штетно дејство остатака ових коагуланата/флокуланата у обрађеној води на здравље људи. На крају другог поглавља, у делу *Природни коагуланти*, дат је детаљан преглед досадашњих истраживања везано за биљне изворе природних коагуланата и њихову екстракцију, њихов утицај на параметре воде која се обрађује, начине пречишћавања природних коагуланата, карактеризацију и механизам њиховог дејства, параметре који утичу на њихову ефикасност, рок трајања природних коагуланата, примену природних коагуланата за обраду различитих вода и отпадних вода, поређење ефикасности природних и традиционалних коагуланата и размотрене су карактеристике пасуља као могућег извора природних коагуланата.

Треће поглавље, **Експериментални део**, подељено је на седам делова. У првом делу, *Екстракција природних коагуланата из зрна пасуља*, објашњен је поступак екстракције природних коагуланата из зрна пасуља, који је примењиван у раду. У следећем делу, *Пречишћавање природних коагуланата из зрна пасуља* детаљно су објашњени примењени поступци пречишћавања и фракционисања природних коагуланата изолованих из зрна пасуља: хроматографија на измењивачима јона, ултрафилтрација, издвајање липидних материја екстракцијом са угљен-диоксидом у суперкритичном стању. У деловима *Модел вода* и *Отпадне воде* дефинисан је начин припреме модел вода и отпадних вода у којима је утврђивана коагулациона активност природних коагуланата изолованих из зрна пасуља, а поступак одређивања коагулационе активности је описан у делу *Тестови коагулације*. У шестом делу, *Аналитичке методе*, је дат преглед параметара који су одређивани у оквиру експеримената и аналитичких метода коришћених у раду, а последње подпоглавље, *Метода одзивне површине*, садржи опис методе одзивне површине, примењене за статистичку обраду експерименталних података. Примењене методе анализе и статистичке обраде података у потпуности су адекватне и примерене истраживачком задатку.

Поглавље **Резултати и дискусија** је подељено на тринаест целина. У свакој од целина јасно су приказани и објашњени резултати добијени након изведених експеримената. У првом делу, *Утицај различитих параметара на екстракцију природних коагуланата из зрна пасуља*, приказани су резултати утицаја времена трајања екстракције, температуре при екстракцији, врсте примењеног екстрагенса и примене филтрације на коагулациону активност екстраката добијених из зрна пасуља. Потом су у следећем делу, *Састав екстракта зрна пасуља*, приказани хемијски састави екстраката из зрна пасуља добијених екстракцијом на различите начине: екстракцијом из целог зрна пасуља са дестилованом водом у трајању од 10 минута и 3 сата, екстракцијом из целог зрна пасуља са дестилованом водом, 0,5 М NaCl и 1 М NaCl у трајању од 10 минута и екстракцијом из целог зрна пасуља, језгра пасуља и покожице пасуља са 0,5 М NaCl у трајању од 10 минута. У следећем делу, *Коагулациона својства екстраката опне, језгра и целог зрна пасуља*, испитана је коагулациона активност екстраката добијених екстракцијом из различитих делова зрна пасуља и целог зрна пасуља како би се утврдила дистрибуција коагулантних материја у зрну пасуља. У четвртном подпоглављу, *Трајност и чување сировог екстракта пасуља*, приказани су резултати испитивања утицаја два различита начина чувања (у замрзивачу и у фрижидеру на +4°C) сирових екстраката пасуља на њихову коагулациону активност. Затим су у петом делу, *Утицај различитих параметара на коагулацију природним коагулантима из пасуља*, приказани резултати испитивања утицаја различитих средстава за подешавање рН вредности модел воде и дужине брзог и спорог мешања на коагулациону активност екстракта пасуља. Такође, утврђено је оптимално време таложења и испитан утицај рН вредности модел воде и односа почетне мутноће модел воде и примењене дозе коагуланта на коагулациону активност екстраката пасуља. У следећој целини, *Пречишћавање природних коагуланата из зрна пасуља јоноизмењивачком хроматографијом*, су приказани резултати пречишћавања протеина дијализата који је добијен из сировог екстракта пасуља, на различитим јоноизмењивачким смолама: Wofatit, Amberlite™ IR 120Na, Amberlite™ IRA 958Cl и Amberlite™ IRA 900Cl. Пречишћавање је извођено шаржно и колонском хроматографијом. Подпоглавље шест, *Пречишћавање природних коагуланата из зрна пасуља фракционисањем ултрафилтрацијом*, садржи резултате пречишћавања сировог екстракта пасуља његовим фракционисањем ултрафилтрацијом на мембранама чији је MWCO износио 5, 10 и 30 kDa. Следећи део, *Пречишћавање природних коагуланата из зрна пасуља издвајањем неполарних компоненти суперкритичном екстракцијом са CO₂*, садржи резултате утицаја издвајања неполарних материја из самлевог зрна пасуља на коагулациону активност екстраката који се након тога добијају из њега екстракцијом са дестилованом водом и раствором NaCl. Девето подпоглавље, *Утицај садржаја различитих јона на коагулациону активност природних коагуланата из зрна пасуља*, се бави анализом утицаја присуства различитих двовалентних и једновалентних јона на коагулациону активност природних коагуланата из зрна пасуља и механизмом дејства ових природних коагуланата. Десето подпоглавље, *Утицај природних коагуланата из зрна пасуља на садржај органских материја у обрађеној води*, се бави анализом утицаја природних коагуланата изолованих из пасуља на садржај органских

материја у третираној води. У следећа два дела, *Примена екстракта пасуља за обраду различитих отпадних вода* и *Примена природних коагуланата из пасуља у комбинацији са алуминијумом као традиционалним коагулантом*, су приказани резултати обраде отпадних вода од производње биоетанола ферментацијом на различитим хранљивим подлогама природним коагулантима из пасуља, и резултати примене природних коагуланата из пасуља као помоћних коагуланата алуминијум-сулфату. У последњем подпоглављу у оквиру овог дела тезе, *Карактеризација и могућност примене исцрпљеног пасуља након екстракције природних коагуланата*, су приказани резултати анализе хемијског састава пасуља који преостане након екстракције природних коагуланата, и тиме испитана могућност његове даље примене као додатка сточној храни. Сви добијени резултати јасно су приказани, објашњени и поткрепљени одговарајућим литературним наводима.

У поглављу **Закључак** резултати рада су јасно сумирани и систематизовани.

Поглавље **Литература** садржи 119 литературних навода који су прегледно систематизовани. Цитирана литература је релевантна и значајно доприноси расветљавању проблематике којом се аутор бави.

VI СПИСАК НАУЧНИХ И СТРУЧНИХ РАДОВА КОЈИ СУ ОБЈАВЉЕНИ ИЛИ ПРИХВАЋЕНИ ЗА ОБЈАВЉИВАЊЕ НА ОСНОВУ РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА У ОКВИРУ РАДА НА ДОКТОРСКОЈ ДИСЕРТАЦИЈИ

Кандидаткиња је публиковала укупно 46 научних радова и саопштења. Од тога је 1 рад категорије М21, 6 радова категорије М23, 3 рада категорије М24, 5 радова категорије М51, 3 рада категорије М52, 1 рад категорије М53, 14 радова категорије М33, 6 радова категорије М34, 4 рада категорије М63 и 3 рада категорије М64. Следећих седамнаест радова су директно проистекли из рада на докторској дисертацији:

1. Mirjana G. Antov, Marina B. Šćiban, **Jelena M. Prodanović**: Evaluation of the efficiency of natural coagulant obtained by ultrafiltration of common bean seed extract in water turbidity removal, *Ecological Engineering*, 49, 48-52, (2012).
2. **Jelena M. Prodanović**, Marina B. Šćiban, Mirjana G. Antov, Jelena M. Dodić: Comparing the use of common bean extracted natural coagulants with centrifugation in the treatment of distillery wastewaters, *Romanian Biotechnological Letters*, 16(5), 6638-6647, (2011).
3. Vesna M. Vasić, **Jelena M. Prodanović**, Dragana V. Kukić, Marina B. Šćiban, Mirjana G. Antov, Darjana Ž. Ivetić: Application of membrane and natural coagulants for stillage purification, *Desalination and Water Treatment*, 51(1-3), 437-441, (2013).
4. **Jelena M. Prodanović**, Mirjana G. Antov, Marina B. Šćiban, Bojana B. Ikonić, Dragana V. Kukić, Vesna M. Vasić, Darjana Ž. Ivetić: The fractionation of natural coagulant extracted from common bean by use of ultrafiltration membranes, *Desalination and Water Treatment*, 51(1-3), 442-447, (2013).
5. Marina B. Šćiban, Mirjana A. Vasić, **Jelena M. Prodanović**, Mirjana G. Antov, Mile T. Klačnja: The investigation of coagulation activity of natural coagulants extracted from different strains of common bean, *Acta Periodica Technologica*, 41, 141-147, (2010).
6. Dragana V. Kukić, Marina B. Šćiban, Aleksandra N. Tepić, **Jelena M. Prodanović**: Influence of the composition of common bean extracts on their coagulation ability, *Acta Periodica Technologica*, 42, 71-79, (2011).
7. Uroš D. Miljić, **Jelena M. Prodanović**, Marina B. Šćiban: Investigation of the basic parameters of the coagulation and flocculation process with the bean seed extracts, *Food Processing, Quality & Safety*, 36(1-2), 41-45, (2009).

8. **Jelena M. Prodanović**, Marina B. Šćiban, Mile T. Klačnja: The usage of the aluminium sulfate and natural coagulants for water clarification, XIII International Eco-Conference, Novi Sad, Serbia, 23.-26. September 2009., Proceedings: Environmental protection of urban and suburban settlements, 91-98.
9. **Jelena Prodanović**, Marina Šćiban, Mirjana Antov: Improvement of wastewater treatment by use of natural coagulants, 1st Climate Change, Economic Development, Environment and People Conference, Novi Sad, Serbia, 14.-16. September 2011., Proceedings of 1st Climate Change, Economic Development, Environment and People Conference, 241-250.
10. **Jelena M. Prodanović**, Marina B. Šćiban, Dragana V. Kukić, Vesna M. Vasić: The influence of elution parameters on separation of natural coagulant proteins extracted from common bean on anion exchange resin, International science conference „Reporting for sustainability“, Bečići, Montenegro, 7.-10. May 2013., Conference Proceedings, 295-299.
11. **Jelena M. Prodanović**, Mirjana G. Antov, Marina B. Šćiban, Dragana V. Kukić, Vesna M. Vasić: Coagulation activity of proteins (from common bean) fractionated on anion exchange resin, XVII International Eco-Conference, Novi Sad, Serbia, 25.-28. September 2013., Proceedings: Environmental protection of urban and suburban settlements, 345-352.
12. **Jelena M. Prodanović**, Marina B. Šćiban, Mirjana G. Antov: The partial purification of natural coagulant extracted from common bean on IRA 958 Cl anion exchange resin: The optimization of resin binding conditions, XXII Congress of Chemists and Technologists of Macedonia, Ohrid, Macedonia, 5.-9. September 2012., Book of Abstracts, 320.
13. **Jelena M. Prodanović**, Marina B. Šćiban, Mirjana G. Antov, Dragana V. Kukić, Vesna M. Vasić: Coagulation efficiency of natural coagulants obtained from common bean under different conditions, Sixteenth Annual Conference YUCOMAT 2014, Herceg Novi, Montenegro, 1. – 5. September 2014., Programme and The Book of Abstracts, 107.
14. Marina B. Šćiban, Mirjana G. Antov, **Jelena M. Prodanović**: Ispitivanje koagulacione aktivnosti prirodnih koagulanata iz semena pasulja, soje i sojine sačme, XLVII savetovanje Srpskog hemijskog društva, Beograd, Srbija, 21. mart 2009., Knjiga radova, 190-195.
15. Marina B. Šćiban, Mirjana G. Antov, **Jelena M. Prodanović**, Mile T. Klačnja, Dragana V. Kukić: Delimično prečišćavanje prirodnih koagulanata iz zrna pasulja primenom hromatografije sa izmenom jona na IRA 900, XLIX savetovanje Srpskog hemijskog društva, Kragujevac, Srbija, 13.-14. maj 2011., Knjiga radova, 155-158.
16. Marina Šćiban, Mirjana Antov, **Jelena Prodanović**: Prirodni koagulant - novi koncept ekološkog tretmana voda, Nacionalna konferencija sa međunarodnim učešćem: Biotehnologija za održivi razvoj, Beograd, Srbija, 24.-26. novembar 2010., Knjiga izvoda radova, 36-37.
17. Sanja Teodosin, **Jelena Prodanovic**, Marina Sciban: Comparing the effectiveness of coagulation with bean extracts obtained by extraction with water and NaCl solution, 5th Scientific Conference "Students Encountering Science", Banja Luka, Bosna i Hercegovina, 22.-25. November 2012., Abstract Book, 35.

VII ZAKЉUČICI OДНОСНО РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА

На основу резултата испитивања природних коагуланата добијених из зрна пасуља (*Phaseolus vulgaris*), приказаних у оквиру ове дисертације, изведени су следећи закључци.

- Испитивањем утицаја различитих параметара на екстракцију природних коагуланата из зрна пасуља утврђено је да је довољно време екстракције 10 минута, на температури 20°C, а филтрација добијене суспензије је обавезан корак приликом припреме екстраката.

- Испитивање утицаја примењеног екстрагенса на коагулациону активност добијених екстраката је урађено за екстракт добијен екстракцијом са дестилованом водом и за екстракт добијен екстракцијом са 0,5 mol/l раствором NaCl. Коагулациона активност ова два екстракта је праћена у модел водама различитих почетних мутноћа и pH вредности.

Екстракти су показали извесну разлику приликом коагулације, различит садржај појединих компоненти, а постојала је разлика и у њиховом изгледу. С обзиром на то да су и водени и NaCl-екстракт, у зависности од услова средине, показали добру коагулациону активност, у даљим испитивањима је рађено и са једним и са другим екстрактом.

- Анализа састава екстраката добијених екстракцијом са 0,5 mol/l раствором NaCl из целог зрна пасуља, из језгра, и из покожице пасуља је показала да је садржај укупних шећера, протеина и фенолних материја највећи у екстракту из целог зрна пасуља, а најнижи у екстракту из покожице. Садржај фитинске киселине је највећи у екстракту покожице.

Испитивањем коагулационих својстава ових екстраката у модел водама различитих pH вредности, утврђено је да је у смислу уклањања мутноће најефикаснији сирови екстракт језгра пасуља, а најмање ефикасан сирови екстракт покожице пасуља. На основу ових резултата је закључено да материје из покожице на неки начин ометају коагулациону активност материја из језгра.

Најбољи резултат, што се тиче утицаја на садржај органских материја у третираној води, је постигнут након примене сировог екстракта покожице, што у овом случају није од значаја због поменуте ниске коагулационе активности овог екстракта. Уклањањем покожице из пасуља постиже се побољшање коагулационе активности, док је повећање садржаја органских материја у обрађеној води само донекле умањено, али с обзиром на то да је поступак њеног уклањања компликован, екстракција је у даљем раду извођена из целог зрна пасуља.

- С обзиром да је утврђено да екстракту чуваном у фрижидеру (на +4°C) након пар дана опада коагулациона активност, што се објашњава променама у његовом саставу услед декомпозиције органских материја од стране микроорганизама, припремљени коагуланти су у даљем раду замрзавани, и тако чувани до самог извођења експеримената. Током рада који је уследио након ових експеримената, а који је трајао у дужем временском периоду (2 – 3 године), није примећена значајнија промена ефикасности тако чуваних коагуланата.
- Након испитивања утицаја различитих параметара на коагулациону активност природних коагуланата из зрна пасуља, за даљи рад је изабрано трајање брзог мешања од 1 минут, дужина спорог мешања од 30 минута и време таложења 1 час.
- На основу резултата испитивања оптималне дозе коагуланта у односу на почетну мутноћу и pH вредност модел воде, за оба испитивана екстракта пасуља се може рећи да су ефикаснији у модел водама велике почетне мутноће (200 NTU). У овим модел водама, екстрактима више одговара нижа pH вредност (pH 6), када при веома ниским дозама постижу максимум ефикасности. Уколико се ради о модел водама мале почетне мутноће, тада коагулантима више одговара висока pH вредност (pH 10), али тада се коагулациона активност пре, или већим делом, може приписати делимичном издвајању Ca(OH)₂ него самој активности коагуланата. Средње pH вредности (pH 8) не одговарају коагулантима који се налазе у екстрактима пасуља.
- Пре пречишћавања природних коагуланата из зрна пасуља јоноизмењивачком хроматографијом, протеини су из екстраката зрна пасуља издвојени таложењем са амонијум-сулфатом. Испитивањем везивања протеина из добијених дијализата на јоноизмењивачке смоле Wofatit, Amberlite™ IR 120Na, Resinex TPX 4500, Amberlite™ IRA 400Cl, Amberlite™ IRA 958Cl и Amberlite™ IRA 900Cl, утврђено је да јоноизмењивачка смола Amberlite™ IRA 900Cl има највећи капацитет за њихово везивање.

Пречишћавање протеина на јоноизмењивачу Amberlite™ IRA 900Cl је изведено колонском хроматографијом, при чему је елуирање везаних протеина извођено у два режима рада: континуално и дисконтинуално. Оптимизација елуирања у континуалним условима је извођена кроз елуирање у линеарном и више различитих експоненцијалних градијената концентрације раствора NaCl, како би се постигло што боље раздвајање протеина. Са добијених елуционих

дијаграма, на којима је упоредо приказана концентрација протеина у добијеним фракцијама и њихова коагулациона активност, уочено је да је поклапање протеинских и коагулационих пикова само делимично, односно велики садржај протеина није обавезно значио и високу коагулациону активност, и обрнуто. Такође, добијени елуциони дијаграми су указали да дијализат добијен из екстракта семена пасуља садржи већи број протеина који су веома слични по наелектрисању, па се на овај начин не могу у потпуности добро раздвојити.

На основу елуционог дијаграма добијеног елуирањем протеина са јоноизмењивачке смоле у експоненцијалном градијенту концентрације раствора NaCl од 0,6 mol/l – 1,3 mol/l за време од 60 минута и уз претходно испирање јоноизмењивачке смоле 0,6 mol/l раствором NaCl, одређене су концентрације раствора NaCl којима је у следећем кораку изведено ступњевито елуирање протеина у дисконтинуалним условима. Оваквим елуирањем је добијено 6 фракција за које је утврђено да имају веома слично коагулационо понашање и које су постигле високу коагулациону активност, са максимумима од 87,7% до 92,8%. У тестовима коагулације у којима се коагулациона активност кретала око максималне за дату фракцију, образовале су се веома крупне флокуле, видљиве голим оком, које су се и таложиле доста брзо.

Пречишћавањем природних коагуланата из семена пасуља на јоноизмењивачкој смоли Amberlite™ IRA 900Cl се добијају фракције високе коагулационе активности, али и дијализат чијим су пречишћавањем колонском јоноизмењивачком хроматографијом добијене те фракције је такође постигао активност око 80%. Дијализат садржи исталожене протеине, па његова коагулациона активност потврђује претпоставку да су протеини у екстракту пасуља активни коагуланти. Међутим, како је и супернатант, добијен након одвајања талога протеина, показао високу коагулациону активност, закључено је да и неке друге материје, непротеинске природе, које су присутне у екстракту из зрна пасуља имају коагулациону способност. С обзиром на резултате анализе екстракта, које показују да екстракти пасуља садрже висок проценат угљених хидрата, од којих највећи део чини скроб, и на литературне податке који говоре у прилог коагулационе активности угљених хидрата, и међу њима скроба, може се претпоставити да управо они дају високу коагулациону активност супернатанту. Такође, пасуљ садржи изванредан проценат растворљивих влакана, чији је чест конституент галактуронска киселина у свом полимеризованом облику, а она се сматра високо активном у смислу коагулације/флокулације.

У погледу утицаја на садржај органских материја у третираној води, сирови екстракт пасуља и супернатант добијен након таложења протеина из сировог екстракта су довели до готово истог повећања садржаја органских материја од око 50%, док се након примене дијализата садржај органских материја није значајније повећао. С друге стране, свих шест фракција добијених колонском хроматографијом су довеле до значајног (око 70%) смањења садржаја органских материја у третираној води. На основу оваквих резултата закључено је да се пречишћавањем сировог екстракта пасуља методом изољавања протеина побољшава његова коагулациона активност, а проблем повећања садржаја органских материја након коагулације, увелико превазилази. Даљим пречишћавањем протеина из дијализата њиховим фракционисањем јоноизмењивачком хроматографијом на Amberlite™ IRA 900Cl добијају се пречишћене фракције које задржавају одличну коагулациону активност и не повећавају садржај органских материја у обрађеној води, већ га, напротив, значајно снижавају.

- Како би се из сировог екстракта уклониле материје које немају коагулациону активност, а доприносе садржају органских материја у обрађеној води, он је фракционисан ултрафилтрацијом. На тај начин су добијене четири фракције: I фракција $M < 5$ kDa, II фракција $5 < M < 10$ kDa, III фракција $10 < M < 30$ kDa и IV фракција $M > 30$ kDa. Ове фракције су затим биле примењене као коагуланти у модел води при истим условима као сирови екстракт. I, II, па чак и III фракција су показале ниску коагулациону активност, док је IV фракција постигла високу ефикасност уклањања мутноће, блиску оној коју је показао сирови екстракт од кога су фракције добијене. Овакви резултати упућују на закључак да су главни носиоци коагулационе активности у сировом екстракту пасуља молекули чија је молекулска маса изнад 30 kDa, док молекули нижих молекулских маса не поседују значајнију способност уклањања суспендованих честица. Истовремено, IV фракција је много мање утицала на садржај органских материја у третираној води у односу на сирови екстракт.

- Издвајање неполарних материја из зрна пасуља нема значајнији утицај на ефикасност бистрења екстракта који се након тога добијају из пасуља, што се може објаснити малим садржајем липида у испитиваној сорти пасуља (1,44%). Стога, није потребан корак делипидације пре екстракције како би се издвојиле липидне материје, што свакако представља предност и са економског и са аспекта заштите животне средине у односу на неке друге изворе природних коагуланата, као што је *Moringa oleifera*, код којих је делипидација неопходан корак пре екстракције природних коагуланата.
- На основу резултата везаних за фракционисање и пречишћавање природних коагуланата из зрна пасуља може се закључити да се од метода разматраних у оквиру рада најбољи резултати постижу:
 - а) таложењем протеина исољавањем, дијализом талога и затим фракционисањем протеина дијализата јоноизмењивачком хроматографијом,
 - б) таложењем протеина исољавањем и затим дијализом талога, и
 - в) ултрафилтрацијом на мембрани са MWCO вредношћу 30000 Da.

Најбољи резултати се постижу комбинацијом метода пречишћавања под а), међутим овај поступак може бити скуп за припрему већих количина природних коагуланата, те стога треба узети у обзир и методе под б) и в) као опције за пречишћавање. Што се тиче ове две методе, нешто бољи резултати се постижу таложењем протеина и дијализом талога, али не сме се сметнути с ума да се таложење изводи додатком значајне количине амонијум-сулфата, који се затим из талога уклања дијализом. Код припреме већих количина коагуланта то може бити непожељно са еколошке стране. Дакле, пречишћавање сировог екстракта је свакако пожељно као корак у припреми природног коагуланта добијеног из зрна пасуља, али за коначан избор методе пречишћавања потребно је урадити детаљну анализу предложених поступака, како са економског, тако и са еколошког становишта.

- Испитивањем утицаја различитих јона на коагулациону активност сировог екстракта пасуља у модел води, утврђено је да је неопходно присуство двовалентних катјона да би се одвијала коагулација, односно у присуству само једновалентних катјона, коагулација изостаје. С обзиром на изоелектричне тачке суспензије каолина и сировог екстракта пасуља (2,56 и 3,61, респективно), и рН вредности на којима су изведена испитивања (рН 5,5 и 11), претпостављен је механизам коагулације: двовалентни катјони су неопходни као посредници за образовање веза било између негативно наелектрисаних молекула коагуланта и негативно наелектрисаних честица каолина, када се коагулација одвија по механизму повезивања мостовима, било између самих негативно наелектрисаних молекула коагуланта, када се образује мрежаста структура у коју се „хватају“ честице каолина, па се коагулација одвија по механизму *sweep* коагулације. Такође, на основу изнетих резултата је закључено да су доминантни коагуланти у екстракту пасуља анијонски полиелектролити.
- Применом сировог екстракта пасуља за обраду отпадних вода од производње биоетанола ферментацијом на различитим хранљивим подлогама припремљеним од међупроизвода и нуспроизвода производње шећера, утврђено је да се на овај начин у отпадној води од производње биоетанола на подлози од екстракционог сока и меласе постиже смањење ХПК од 68,8% и 60%, респективно. У отпадној води од производње биоетанола на подлози од ретког и густог сока сирови екстракт пасуља је постигао слабо смањење ХПК, око 15%. Поређењем резултата добијених за примену екстракта пасуља за смањење садржаја органских материја у испитиваним цибрама са учинком центрифугирања као методе њихове обраде, може се закључити да се природни коагуланти екстраховани из пасуља могу успешно применити уместо центрифугирања за обраду цибре екстракционог сока и меласне цибре.
- Испитивањем могућности примене сировог екстракта пасуља као помоћног коагуланта алуминијум-сулфату у обради модел воде почетне мутноће 35 NTU, утврђено је да на рН 7,3 при нижим примењеним дозама алуминијум-сулфата (12,8 mg/l и 25,7 mg/l) додаток сировог екстракта повећава коагулациону активност за око 15%. При већој дози алуминијум-сулфата (128,4 mg/l), његова коагулациона активност је већ доста висока, па додаток екстракта пасуља само незнатно повећава коагулациону активност. Применом екстракта пасуља као помоћног

коагуланта се доза алуминијум-сулфата може смањити за 50% (са 25,7 mg/l на 12,7 mg/l), а да се постигне приближно једнака ефикасност бистрења.

- С обзиром да одређена количина протеина заостаје у пасуљу након екстракције, а присуство нерастворљивих влакана би повољно утицало на дигестивни тракт како преживара, тако и животиња које нису преживари, пасуљ заостао након екстракције са дестилованом водом може бити коришћен као додатак сточној храни, што би представљало додатну вредност поступка добијања природних коагуланата, а пасуљ након екстракције са раствором NaCl би требало додатно испитати како би се утврдио садржај соли, односно да ли је он толики да би онемогућавао примену овог остатка пасуља као додатка сточној храни.

VIII ОЦЕНА НАЧИНА ПРИКАЗА И ТУМАЧЕЊА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА

Докторска дисертација дипл. инж. Јелене Продановић, под насловом „**Природни коагуланти из зрна пасуља (*Phaseolus vulgaris*) у обради воде**” произашла је из обимног лабораторијског истраживања. Резултати који су добијени у оквиру овог рада приказани су јасно и прегледно у табелама и на графицима. Тумачењем добијених резултата и њиховим повезивањем са резултатима других аутора изведени су одговарајући закључци, који пружају корисне информације за будућа истраживања у области примене природних коагуланата добијених из зрна пасуља за обраду различитих вода и отпадних вода.

IX КОНАЧНА ОЦЕНА ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ

1. Да ли је дисертација написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме

Да. Докторска дисертација је у потпуности написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме.

2. Да ли дисертација садржи све битне елементе

Да. Дисертација садржи све битне елементе који се захтевају за радове овакве врсте.

3. По чему је дисертација оригиналан допринос науци

У докторској дисертацији испитана је могућност примене природних коагуланата екстрахованих из зрна пасуља за бистрење воде и отпадних вода поступком коагулације и флокулације. Прегледом доступне литературе је утврђено да је тема природних коагуланата актуелна последњих година, али природни коагуланти из зрна пасуља нису испитивани за ове сврхе. Осим што је установљена њихова добра коагулантна способност у модел води, утврђено је да се могу успешно применити и за обраду отпадних вода, као и у комбинацији са конвенционалним хемијским коагулантима. Примена ових природних коагуланата се може унапредити пречишћавањем сировог екстракта зрна пасуља, а за пречишћавање је примењено више техника које су међусобно упоређене. Такође, утврђено је да се остаток пасуља након екстракције природних коагуланата може користити као додатак сточној храни, што је додатна вредност поступка добијања природних коагуланата из ове сировине.

Оригинални резултати из области коју обухвата ова дисертација објављени су кроз радове у научним часописима и саопштени на међународним скуповима, чиме се потврђује да ова докторска дисертација представља оригиналан допринос науци.

4. Недостаци дисертације и њихов утицај на резултат истраживања
Недостаци докторске дисертације нису уочени.
X ПРЕДЛОГ:
На основу укупне оцене дисертације, комисија предлаже:
Комисија позитивно оцењује докторску дисертацију дипл. инж. Јелене Продановић, под насловом: „Природни коагуланти из зрна пасуља (<i>Phaseolus vulgaris</i>) у обради воде” и предлаже да се Извештај о оцени докторске дисертације прихвати, а кандидаткињи одобри јавна одбрана рада.

председник комисије

др Миле Клашња, редовни професор,
Технолошки факултет Нови Сад

ментор, члан комисије

др Марина Шћибан, редовни професор,
Технолошки факултет Нови Сад

члан комисије

др Мирјана Антов, редовни професор,
Технолошки факултет Нови Сад

члан комисије

др Зорица Кнежевић-Југовић, редовни професор,
Технолошко-металуршки факултет Београд