

ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ		
<p>1. Датум и орган који је именовео комисију: На 117. електронској седници Наставно-научног већа Технолошког факултета Нови Сад (период одржавања 27-30.08.2021.) именована је Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације кандидата маг. инж. технол. Оље Шовљански под насловом „Микробиолошка преципитација карбоната – од одабира индуктора до испитивања биопроцесних параметара”.</p>		
<p>2. Састав комисије у складу са Правилима докторских студија Универзитета у Новом Саду:</p>		
1.	<p>Др Татјана Вулић</p> <hr/> <p>презиме и име</p>	<p>редовни професор</p> <hr/> <p>звање</p>
	<p>Технолошки факултет Нови Сад</p> <hr/> <p>установа у којој је запослен-а</p>	<p>Хемијско инжењерство, 25.05.2017.</p> <hr/> <p>ужа научна област и датум и б р а</p>
		<p><b>председник</b></p> <hr/> <p>функција у комисији</p>
2.	<p>Др Синиша Марков</p> <hr/> <p>презиме и име</p>	<p>редовни професор</p> <hr/> <p>звање</p>
	<p>Технолошки факултет Нови Сад</p> <hr/> <p>установа у којој је запослен-а</p>	<p>Биотехнологија, 15.10.2012.</p> <hr/> <p>ужа научна област и датум избора</p>
		<p><b>ментор</b></p> <hr/> <p>функција у комисији</p>
3.	<p>Др Лато Пезо</p> <hr/> <p>презиме и име</p>	<p>научни саветник</p> <hr/> <p>звање</p>
	<p>Институт за општу и физичку хемију</p> <hr/> <p>у т а н о в а у којој је запослен-а</p>	<p>Квалитет и безбедност хране биљног порекла, 28.10.2020.</p> <hr/> <p>ужа научна област и датум избора</p>
		<p><b>члан</b></p> <hr/> <p>функција у комисији</p>
4.	<p>Др Јована Граховац</p> <hr/> <p>презиме и име</p>	<p>ванредни професор</p> <hr/> <p>звање</p>
	<p>Технолошки факултет Нови Сад</p> <hr/> <p>установа у којој је запослен-а</p>	<p>Биотехнологија, 01.10.2017</p> <hr/> <p>ужа научна област и датум избора</p>
		<p><b>члан</b></p> <hr/> <p>функциј у комисији</p>
5.	<p>Др Ана Томић</p> <hr/> <p>презиме и име</p>	<p>научни сарадник</p> <hr/> <p>звање</p>
	<p>Технолошки факултет Нови Сад</p> <hr/> <p>установа у којој је запослен-а</p>	<p>Прехрамбена биотехнологија, 20.02.2020.</p> <hr/> <p>ужа научна област и датум избора</p>
		<p><b>члан</b></p> <hr/> <p>функција у комисији</p>

<p><b>II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ</b></p> <p>1. Име, име једног родитеља, презиме: <b>Оља, Љубомир, Шовљански</b></p> <p>2. Датум рођења, општина, држава: <b>24.01.1993., Нови Сад, Република Србија</b></p> <p>3. Назив факултета, назив претходно завршеног нивоа студија и стечени стручни/академски назив: <b>Технолошки факултет Нови Сад, Биотехнологија, мастер инжењер технологије</b></p> <p>4. Година уписа на докторске студије и назив студијског програма докторских студија: <b>2017. година, Биотехнологија</b></p>
<p><b>III НАСЛОВ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:</b></p> <p><b>„Микробиолошка преципитација карбоната – од одабира индуктора до испитивања биопроцесних параметара”</b></p>
<p><b>IV ПРЕГЛЕД ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:</b> Навести кратак садржај са назнаком броја страница, поглавља, слика, схема, графикона и сл.</p> <p>Докторска дисертација је написана на српском језику, латиничним писмом на 207 страница А4 формата, са 54 слике, 29 табела и 225 литературних навода. Кључна документацијска информација је написана на српском и енглеском језику и приложена је након насловне стране.</p> <p>Списак поглавља:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Увод (стр. 1-2)</li> <li>2. Циљеви истраживања (стр. 3-4)</li> <li>3. Преглед литературе (стр. 5-61)</li> <li>4. Материјал и методе (стр. 62-94)</li> <li>5. Резултати и дискусија (стр. 95-166)</li> <li>6. Закључци (стр. 167-171)</li> <li>7. Литература (стр. 172-185)</li> <li>8. Прилози (стр. 185-207)</li> </ol> <p>Поред наведеног дисертација садржи: Захвалницу, Списак слика, Списак табела, Садржај и Резиме на српском и енглеском језику, који претходе основном тексту и посебно су пагинирани. На крају налази се План третмана података.</p>
<p><b>V ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:</b></p> <p>У <b>Уводном делу</b> докторске дисертације истиче се важност изоловања и карактеризације нових сојева који припадају групи бактерија са биокалцификујућим потенцијалом. С обзиром на то да стопа акумулације калцијума и неорганичног депозита у земљишту и подземним водама експоненцијално расте, чиме се ремети равнотежа у циклусу кружења елемената у природи, посебно је наглашена потреба за ефикасним процесом биокалцификације кроз примену бактеријски индукованог процеса преципитације калцијум карбоната (БИПК). Овакав приступ би отворио могућност инжењерског концепта у биоремедијацијским третманима различитих матрикса (земљиште, отпадне воде, цементни материјали, итд.).</p> <p>У поглављу <b>Циљеви истраживања</b> дефинисан је основни циљ истраживања докторске дисертације који подразумева испитивање потенцијала примене уреолитичких бактеријских изолата из алкалних, калцитних земљишта у процесу бактеријски индуковане преципитације калцијум карбоната, као и специфични циљеви истраживања неопходни за његову реализацију.</p> <p>На почетку поглавља <b>Преглед литературе</b> детаљно је описан процес биокалцификације. Посебна пажња посвећена је прегледу актуелне литературе и досадашњих достигнућа у проучавању бактерија са биокалцификујућим потенцијалом, од којих је издвојена улога уреолита. Истакнут је значај разумевања и испитивања постојања експресије уреолитичких гена у геному уреолитичких бактерија, енергетски систем који се постиже усвајањем урее, као и неопходност праћења специфичних кинетичких путања процеса уреолитичке и бактеријски индуковане преципитације</p>

карбоната. Пример модел организма за који се у научно релеватној литератури везује ефикасан процес индукције преципитације кроз уреолizu јесте *Sporosarcina pasteurii*, што је посебно наглашено у овом поглављу. Поред тога, систематично су наведени досадашњи изолати бактерија са високоефикасном применом у процесима БИПК, уз наглашавање потребе за изоловањем нових сојева са потенцијално већом ефикасношћу. Такође, дати су основни појмови и кораци у биотехнолошкој примени бактерија са биокалцификујућим потенцијалом. Посебан део Прегледа литературе је одвојен за приказ значаја предиктивних математичких система у еколошкој микробиологији, који омогућавају и олакшавају разумевање микробиолошког доприноса и понашања у различитим природним и инжењерским системима. Свеобухватним прегледом релевантне литературе указано је на чињеницу да испитивање потенцијала уреолитичких бактеријских изолата у процесу бактеријски индуковане преципитације калцијум карбоната до сада није била предмет истраживања.

Поглавље **Материјали и методе** је конципирано тако да обухвати све примењене методе, технике, хемикалије и лабораторијске уређаје коришћене у свим сегментима докторске дисертације. Ово поглавље подељено је на осам основних потпоглавља: (1) Изоловање и селекција бактерија са биокалцификујућим потенцијалом; (2) Одабир бактеријских изолата са биокалцификујућим потенцијалом; (3) Испитивање улоге бактеријских ћелија одабраних изолата у процесу бактеријски индуковане преципитације карбоната; (4) Одрживост и стабилност бактеријских култура одабраних изолата; (5) Праћење процеса уреолize и дефинисање кинетичких модела; (6) Праћење процеса бактеријски индуковане преципитације карбоната и дефинисање кинетичких модела; (7) Карактеризација преципитата индукован активношћу бактеријских изолата; (8) скрининг услова средине и садржаја хранљиве подлоге за ефикасан процес преципитације калцијум карбоната. Сви набројани кораци су праћени математичком обрадом података, која је детаљно описана у овом делу докторске дисертације. Сви подаци у оквиру овог поглавља су детаљно приказани осигуравајући поновљивост експеримената.

У поглављу **Резултати и дискусија** приказани су сумирани резултати појединих фаза истраживања, као и резултати математичке обраде података. Резултати истраживања су приказани табеларно или на сликама и образложени на јасан, методолошки разумљив и прегледан начин. Поглавље Резултати и дискусија подељено је на осам потпоглавља:

- У потпоглављу **Изоловање и примарна селекција бактеријских изолата** приказани су резултати изоловања спорогених, алкалорезистентних/алкалофилних бактерија са четири локације у околини Новог Сада. Овај корак урађен је помоћу новоформиране специфичне шеме изоловања циљаних бактерија из калцитног, алкалног земљишта. Додатно, ово потпоглавље је обухватило груписање издвојених бактеријских изолата на основу температурног и рН профила, као и испитивање потенцијала денитрификације. Оба сегмента су праћена и нумеричком и експерименталном верификацијом математичких модела који су добијени на основу експерименталних резултата овог потпоглавља.
- У потпоглављу **Одабир бактеријских изолата са биокалцификујућим потенцијалом** приказани су резултати селекције природних изолата применом математичке обраде података која је била базирана на кључним физиолошким особинама тестираних бактерија. Идентификација одабраних пет изолата урађена је помоћу две методе: VITEK2 Compact система и MALDI-TOF спектрометрије, како би се извршило идентификовање до нивоа бактеријске врсте. Амплификација *ureC* гена помоћу PCR методе код одабраних изолата праћена је дискусијом о значају постојања функционалног оперона за уреазни ензим. Додатно, извршено је испитивање морфолошких и еколошких карактеристика бактерија релевантних за процес БИПК.
- У потпоглављу **Испитивање улоге бактеријске ћелије одабраних изолата у процесу БИПК** представљени су резултати испитивања специфичног доприноса појединачних ћелија у току преципитације, а који су подељени на четири основне целине: (1) физичке карактеристике ћелије; (2) карактеристике ћелијске површине (зида и мембране); (3) улога калцијума у формирању биофилма током БИПК; (4) допринос ћелијске активности рН промена у систему.
- У оквиру потпоглавља **Одрживост и стабилност бактеријске културе одабраних изолата** приказани су резултати испитивања степена спорулације одабраних бактеријских врста, при различитим, иницијалним рН вредностима хранљиве подлоге. Осим тога, приказани су резултати продуктивности алтернативне хранљиве подлоге, уз образложење и економског аспекта примене

нове подлоге, као и могућности да се иста подлога примене за продукцију биомасе и циљани процес БИПК. Такође, представљени су и анализирани резултати испитивања одрживости бактеријске културе у виду суспензије припремљене у стерилној дестилованој води са различитим рН вредностима. У оквиру овог корака испитиване су и различите температуре средине (-18, 4, 22 °C), што је омогућило сагледавање потенцијала складиштења култура на економски и енергетски оправданији начин, уз неопходну одрживост и стабилност припремљене бактеријске суспензије.

- У потпоглављу **Праћење процеса уреолize и дефинисање кинетичких модела** дати су резултати испитивања ефикасности процеса хидролизе урее, као и два нуспроцеса: промене рН вредности система и умножавање биомасе одабраних изолата. Осим приказаних резултата лабораторијског рада, приказано је и кинетичко моделовање сва три испитивана процеса. Такође, дати су и анализирани сви параметри квалитета кинетичких модела, како би се проценио степен уклапања експерименталних резултата са предиктивним капацитетом математичких анализа.
- У потпоглављу **Праћење процеса БИПК и дефинисање кинетичких модела** дати су резултати испитивања ефикасности настајања преципитата, као и два нуспроцеса: промене рН вредности система и концентрације слободног калцијума у систему са одабраним бактеријама. Осим приказаних резултата лабораторијског рада, приказано је и кинетичко моделовање сва три испитивана процеса. Такође, дати су и анализирани сви параметри квалитета кинетичких модела, како би се проценио степен уклапања експерименталних резултата са предиктивним капацитетом математичких анализа.
- У потпоглављу **Карактеризација преципитата** дати су резултати структурне анализе преципитата добијених у претходном експерименталном кораку (Праћење процеса БИПК и дефинисање кинетичких модела), након првог и четрнаестог дана инкубације. Анализе су урађене помоћу следећих метода: FT-IR, XRD, RAMAN, DTA/TGA, SEM. Осим тога, након приказа резултата минералoшких, фазних и текстуалних карактеристика преципитата, дато је поређење добијених преципитата у циљу уочавања зависности од периода инкубирања и бактеријског соја.
- Потпоглавље **Скрининг услова средине и садржаја хранљиве подлоге у току БИПК** обухватило је испитивање 12 фактора средине кроз експериментални план по Плакет-Бурману, а добијени резултати су послужили за математичку анализу значајности тестираних фактора на ефикасност процеса БИПК, добијање адекватних модела вештачких неуронских мрежа, као и за вишекритеријумску оптимизацију. У циљу одабира бактерије са највећим потенцијалом за ефикасан БИПК, сви тестирани изолати су поређени кроз циљане нивое пет одабраних излаза система.

Свако од споменутих потпоглавља пратила је упоредна анализа природних изолата са референтним сојем *Sporosarcina pasteurii* DSM 33, док су у одређеним корацима биле неопходне и негативне контроле процеса у виду следећих сојева: *Pseudomonas stutzeri* ATCC 17785, *Bacillus pseudofirmus* DSM 8715 и *B. cohnii* DSM 6307.

У поглављу **Закључци** су јасно и концизно формулисани закључци који су проистекли из истраживања спроведених у оквиру докторске дисертације. Сви изведени закључци су у складу са постављеним циљевима истраживања и утемељени су на приказаним резултатима.

Поглавље **Литература** садржи 255 литературна навода, а коришћена литература је адекватна, актуелна и у потпуности обухвата релевантне изворе везане за тематику истраживања.

У поглављу **Прилози** су дати сви неопходни подаци за математичке прорачуне, помоћне табеле и статистички параметри неопходни за разумевање свих резултата докторске дисертације приказаних у поглављу Резултати и дискусија. Додатно, постојеће слике у овом потпоглављу допуњују резултате математичке обраде појединих резултата.

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

Таксативно навести називе радова, где и када су објављени. Прво навести најмање један рад објављен или прихваћен за објављивање у складу са *Правилма докторских студија Универзитета у Новом Саду* који је повезан са садржајем докторске дисертације. У случају радова

прихваћених за објављивање, таксативно навести називе радова, где и када ће бити објављени и приложити потврду уредника часописа о томе.

**M<sub>21</sub> - Рад у водећем међународном часопису**

1. **Оља Шовљански**, Ана Томић, Лато Пезо, Синиша Марков (2020): Temperature and pH growth profile prediction of newly isolated bacterial strains from alkaline soils, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(3): 1155-1163, <https://doi.org/10.1002/jsfa.10124>.

SCI lista: *Food Science and Technology* (2019) 41/139 (impact f. = 2,945)

**M<sub>22</sub> - Рад у истакнутом међународном часопису**

2. **Оља Шовљански**, Лато Пезо, Јована Станојев, Бранимир Бајац, Сабина Ковач, Елвира Тот, Иван Ристић, Ана Томић, Александра Ранитовић, Драгољуб Цветковић, Синиша Марков (2021): Comprehensive profiling of microbiologically induced CaCO<sub>3</sub> precipitation by ureolytic *Bacillus* isolates from alkaline soils, *Microorganisms*, 9(8), 1691, <https://doi.org/10.3390/microorganisms9081691>

SCI lista: *Microbiology* 52/137 (2020) (impact f. = 4,128)

**M<sub>23</sub>- Рад у међународном часопису**

3. **Оља Шовљански**, Ана Томић, Лато Пезо, Александра Ранитовић, Синиша Марков (2020): Prediction of denitrification capacity of alkalotolerant bacterial isolates from soil - an artificial neural network model, *Journal of the Serbian Society of Chemistry*, 85(11), 1417-1427, <https://doi.org/10.2298/JSC200404029S>

SCI lista: *Chemistry, Multidisciplinary* 142/178 (2020) (impact f. = 1,144)

4. **Оља Шовљански**, Лато Пезо, Ана Томић, Александра Ранитовић, Драгољуб Цветковић, Синиша Марков (2020): Operating parameter optimization of cell surface hydrophobicity test for ureolytic bacteria, *Journal of the Serbian Chemical Society*, 86(5), 533-545, <https://doi.org/10.2298/JSC200813082S>

SCI lista: *Chemistry, Multidisciplinary* 142/178 (2020) (impact f. = 1,144)

5. **Оља Шовљански**, Лато Пезо, Ана Томић, Александра Ранитовић, Драгољуб Цветковић, Синиша Марков (2021): Contribution of bacterial cells as nucleation centers in microbiologically induced CaCO<sub>3</sub> precipitation – A mathematical modelling approach, *Journal of Basic Microbiology*, 1-14. <https://doi.org/10.1002/jobm.202100275>

SCI lista: *Microbiology* 104/137 (2020) (impact f. = 2,156)

**M<sub>34</sub>- Саопштење са међународног скупа штампано у изводу**

6. **Оља Шовљански**, Ана Томић, Александра Ранитовић, Драгољуб Цветковић, Синиша Марков (2020): Examination of cell surface hydrophobicity of ureolytic bacteria isolated from soil, *FEMS Online Conference on Microbiology*, 28-31th October 2020, Belgrade, Serbia

**M<sub>63</sub>- Саопштења са скупа националног значаја штампано у целости**

7. **Оља Шовљански**, Ана Томић, Лато Пезо, Синиша Марков (2021): Ефикасност денитрификације алкалофилних бактерија изолованих из калцитног земљишта, Меморијални скуп Милена Далмација, 1-2.4.2021. Novi Sad, Srbija

**M<sub>64</sub>- Саопштење са скупа националног значаја штампано у изводу**

8. Чила Холперт, **Оља Шовљански**, Ана Томић, Синиша Марков (2019): Screening of new alkalophilic bacterial strains from soil, 7. Конференција младих хемичара, 2.11.2019. Beograd, Srbija, *Book of abstracts str.* 14

## VII ЗАКЉУЧЦИ ОДНОСНО РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА:

Ово истраживање је проистекло из потребе за новим, ефикасним биоагенсима са биокалцификујућим потенцијалом, а у циљу примене у процесима бактеријски индуковане преципитације калцијум карбоната. Од примарног корака изоловања и карактеризације бактерија са биокалцификујућим потенцијалом, процене њиховог капацитета и улоге у циљаном процесу до вишекритеријумске оптимизације најбољег изолата, представљен је свеобухватни истраживачки концепт експерименталних корака код одабира ефикасних биоагенса за даљу инжењерску примену у процесима биоремедијације, грађевинског, геотехничког и еколошког инжењерства. Успешно је спроведено испитивање улоге ћелије у БИПК на лабораторијском нивоу што представља добру основу за истраживање у реалним условима средине у којој ће се вршити процес биоремедијације.

Добијени резултати се могу сумирати у оквиру следећих закључака:

- Као први корак ове докторске дисертације формирана је шема за изоловање и селекцију алкалорезистентних/алкалофилних, спорогених бактерија са потенцијалом формирања неорганског преципитата на подлогама на бази урее;
- Током поступка изоловања циљаних бактерија из земљишних система издвојено је 43 изолата која су на основу макроморфолошких особина били упоредиви са референтним сојевима *Sporosarcina pasteurii* DSM 33 и *Bacillus cohnii* DSM 6307;
- На основу добијених резултата испитивања температурног и рН профила изабраних бактеријских изолата, установљено је да је оптимална температура раста за већину сојева између 30 и 37 °C, иако је продукција биомасе забележена и на 20 °C. За оптимум раста, рН вредности између 9 и 11 су дефинисане као најпогодније за већину испитиваних бактерија;
- Верификација добијених резултата предвиђања АНН модела понашања температурног и рН профила је потврдила могућност предвиђања биокинетичке зоне раста за тестиране бактерије у широком распону тестираних услова средине. Параметри квалитета уклапања АНН мреже су дефинисали висок предикциони капацитет моделовања температурног и рН профила раста бактеријских сојева;
- Добијени предикциони модели денитрификујућег потенцијала бактеријских изолата, као и верификација модела у лабораторијским условима, указују да постоји могућност дефинисања понашања свих тестираних бактеријских изолата помоћу 6 индикатора (продукција биомасе, концентрација нитрата и нитрита, формирање гасовитог азота, амонијака и нитрита) у току процеса денитрификације;
- На основу анализе стандардних оцена, базираних на испитивању низа еколошких и морфолошким одлика изолованих бактерија, од укупног броја тестираних изолата издвојено је пет најбољих. Ових 5 бактерија је показало потенцијал биокалцификације посредством две метаболичке путање, за разлику од референтних сојева *S. pasteurii* DSM 33 и *B. cohnii* DSM 8715 који су индуковали циљани процес посредством уреоллизе или оксидације органских киселина;
- Одабраних пет бактерија су идентификовани помоћу VITEK2® Compact System уређаја и MALDI-TOF MS спектрометра, при чему је друга одабрана метода успешно идентификовала изолате као *Bacillus muralis*, *B. lentus*, *B. simplex*, *B. firmus* и *B. licheniformis*, пружају високу оцену подудараности за базом података;
- Амплификацијом кључног структурног гена, *ureC*, на око 340 бп дужине генског фрагмента, доказано је постојање функционалног ензимског апарата за уреолитичку активност на генетичком нивоу код свих идентификованих уреолитичких бактерија;
- Испитивањем морфолошких и еколошких карактеристика од значаја за процес БИПК (облик ћелије, покретљивост, раст у анаеробним условима и при различитим концентрацијама NaCl) је утврђена разноврсност одабраних *Bacillus* врста, а која ипак може да се повеже за потенцијалним ефикасним процесом биокалцификације око сваке активне ћелије;
- Испитивањем улоге бактеријских ћелија одабраних *Bacillus* врста утврђен је допринос физичких карактеристика вијабилних облика, као и карактеристика ћелијских површина зида и мембране. Допринос активних ћелија након отпочињања CaCO<sub>3</sub> преципитације се значајно смањује због нагомилавања калцијумових јона и стварања кристала у непосредној близини ћелије. Ови резултати потврђени су испитивањем улоге калцијума у току биофилмог БИПК, као и дефинисању доприноса ћелијске активности рН променама у систему у којем се одиграва биокалцификација;
- Испитивањем степена спорулације бактеријских изолата при рН вредностима од 7,3 утврђено је да

само референтни сој *S. pasteurii* DSM 33 и *B. simplex* могу да пређу жељену границу од 8 лог CFU/mL, док у случају инкубације при рН вредности од 9,3 ову могућност има само референтни сој;

- На основу резултата добијених приликом испитивања продуктивности Уреа-СаCl<sub>2</sub> подлоге може се закључити да тестирана подлога задовољава опште и специфичне услове употребе уместо референтне ТСА подлоге са додатком урее. Значајност овог резултата се огледа и у чињеници да је иста подлога јефтинија, али и да се може користити за продукцију биомасе (без додатка калцијума), као и за циљани БИПК процес (са додатком калцијума) чиме се смањује време прилагођавања бактерије на услове средине;
- Резултати испитивања утицаја температуре (-18, 4, 22 °C) и течног медијума (дестилована и алкална дестилована вода) на вијабилност *Bacillus* врста указују на могућност чувања свеже припремљених бактеријских суспензија на температури фрижидера. Са друге стране, вијабилност бактерија се нагло и значајно смањује приликом инкубације на собној температури и током складиштења у замрзивач без додатка криопротектанта;
- Праћењем хидролизе урее, као и нуспроцеса ове метаболичке путање (рН вредност и концентрација бактерија) утврђени су кинетички модели са високим предиктивним капацитетом за све тестиране бактерије. Хидролизом урее, дошло је до значајног смањења концентрације урее у току тродневне инкубације, а негативни експоненцијални тренд је уочен од момента инокулације. Са друге стране, кинетике рН промена и концентрације бактерија пратиле су сигмоидални облик криве, а адекватност добијених модела предвиђања понашања за ове нуспроцесе огледа се у високом степену предикције и уочавању разлика у понашању тестираних бактерија;
- Количина насталог преципитата, као један од параметара ефикасности БИПК, је праћена током 14 дана инкубације, а добијени резултати су искоришћени за кинетичко моделовање и уклапање експерименталних резултата у математичке моделе са високим предиктивним капацитетом. Исти поступак је урађен и за праћење рН промене и концентрације калцијума, а као крајњи циљ су дефинисане разлике на нивоу бактеријских врста. Једини бактеријски сој који је индуковао већу количину преципитата од референтној соја је *Bacillus licheniformis*. Максималне рН вредности за све тестиране сојеве су постигнуте за најмање три дана инкубације, док се концентрација слободног калцијума смањила близу границе детекције након пет дана;
- Структурна карактеризација преципитата насталих током праћења кинетике БИПК процеса је анализирана помоћу FT-IR, XRD, RAMAN, DTA/TGA анализа, као и SEM микрографије. На основу добијених резултата може се закључити да су формиран преципитати калцијум карбонат високе кристалности, а да величина и фазни удео калцитне и ватеритне фазе разликује на нивоу бактеријске врсте, као и времена инкубирања;
- На основу Плакет-Бурмановог експерименталног плана за скрининг услова средине и садржаја хранљиве подлоге, урађено је предикционо моделовање излаза за које су постављени циљани нивои одабрани за одигравање што ефикаснијег БИПК процеса (рН вредност око 9, минимална количина урее и број спора, максималан број вијабилних ћелија и количина СаСО<sub>3</sub> талога). Иако постоји зависност од различитих фактора средине и садржаја хранљиве подлоге за постављене циљане нивое излаза, може да се закључи да су најзначајнији утицаји система концентрација урее, рН вредност и концентрација инокулума, док су утицаји осталих испитиваних фактора зависни од појединачних циљева култивације. Како би се добио конкретнији одговор постављеног истраживања унапређења БИПК процеса, урађена је вишекритеријумска оптимизација излазних параметра, на основу које се *B. licheniformis* издвојио као најбољи бактеријски сој. При дефинисаним оптималним факторима средине, излазни параметри за ову бактерију су рН вредност 9,34, број спора и вијабилних ћелија 3,41 и 7,12 лог CFU/mL, количина урее 0,01 g/L као и количина СаСО<sub>3</sub> преципитата од 3,14 g/100 mL. Приказани резултати за *B. licheniformis* су упоредиви са добијеним вредностима за референтни сој, док се за остале тестиране *Bacillus* врсте може закључити да нису способни за једнако ефикасан БИПК процес у испитиваним условима средине и састава хранљиве подлоге;
- Добијени резултати истраживања омогућавају развој високоефикасних система биоремедијације на бази бактеријски индуковане преципитације СаСО<sub>3</sub>. Одабиром и коришћењем окарактерисаног природног изолата који је дефинисан као алкалорезистентна/алкалофилна, спорогена уреолитичка бактерија отвара се могућност формирања специфичног процеса БИПК чија *in situ* ефикасност мора бити испитана у будућим истраживачким корацима.

<b>VIII ОЦЕНА НАЧИНА ПРИКАЗА И ТУМАЧЕЊА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА:</b>
Експлицитно навести позитивну или негативну оцену начина приказа и тумачења резултата истраживања.
У потпуности и успешно су спроведена истраживања предвиђена планом датим у пријави докторске дисертације. Добијени резултати представљени су на јасан и свеобухватан начин. Дисертација је адекватно структурирана на логичне целине. Систематично и детаљно су протумачени резултати и критички упоређени са релевантним литературним подацима. Као основу резултата и дискусије изведени су закључци који дају директне одговоре на постављене циљеве докторске дисертације.
<b>IX КОНАЧНА ОЦЕНА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:</b>
Експлицитно навести да ли дисертација јесте или није написана у складу са наведеним образложењем, као и да ли она садржи или не садржи све битне елементе. Дати јасне, прецизне и концизне одговоре на 3. и 4. питање:
1. Да ли је дисертација написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме? <b>Докторска дисертација је у потпуности урађена и написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме.</b>
2. Да ли дисертација садржи све битне елементе? <b>Докторска дисертација садржи све битне елементе.</b>
3. По чему је дисертација оригиналан допринос науци? Истраживања која су обухваћена овом докторском дисертацијом су проистекла из потребе изоловање и карактеризације нових сојева са биокалцификујућим потенцијалом, оптимизацијом биотехнолошких параметара за циљану метаболичку реакцију и циљаних биолошки индукованих процеса калцификације. Свеобухватан приказ процеса од изоловања спорогених, алкалорезистентних/алкалофилних бактерија до карактеризације добијених преципитата и скрининга великог броја фактора средине који утичу на процес биокалцификације се не може пронаћи у доступној литератури, а од изузетне је важности у процесима биоремедијације у којима је неопходно уклонити акумулирани калцијум. У оквиру докторске дисертације карактеризацијом новоизолованих, високо ефикасних бактерија са биокалцификујућим потенцијалом <i>Bacillus muralis</i> , <i>B. lentus</i> , <i>B. simplex</i> , <i>B. firmus</i> и <i>B. licheniformis</i> , као и детаљним приказом поступка карактеризације преципитата и оптимизације биопроцесних параметара и валидације истих у лабораторијским условима начињени су први кораци ка дефинисању идејног решења и увећању размера процеса.
4. Који су недостаци дисертације и какав је њихов утицај на резултат истраживања? <b>Нису уочени недостаци у овој докторској дисертацији.</b>
<b>X ПРЕДЛОГ:</b>
На основу наведеног, комисија предлаже:
Комисија позитивно оцењује докторску дисертацију под насловом „Микробиолошка преципитација карбоната – од одабира индуктора до испитивања биопроцесних параметара” и предлаже да се она прихвати, а кандидаткињи одобри одбрана.

Место и датум: Нови Сад, 09.09.2021.

1. др Татјана Вулић, ред. проф., **председник**

\_\_\_\_\_

2. др Синиша Марков, ред. проф., **ментор**

\_\_\_\_\_

3. др Лато Пезо, научни саветник, **члан**

\_\_\_\_\_

4. др Јована Граховац, ванр. проф., **члан**

\_\_\_\_\_

5. др Ана Томић, научни сарадник, **члан**

\_\_\_\_\_