

Предмет: Извештај Комисије за преглед, оцену и одбрану докторске дисертације Ане Б. Медић, мастер-хемичара

Поштоване колегинице и колеге,

На редовној седници Наставно-научног већа Хемијског факултета Универзитета у Београду, одржаној 12. 09. 2019. године одређени смо за чланове Комисије за преглед, оцену и одбрану докторске дисертације **Ане Б. Медић**, мастер-хемичара, пријављене под насловом:

„Биодеградација *n*-алкана, полицикличних ароматичних угљоводоника и фенола коришћењем соја *Pseudomonas aeruginosa* sap ai“

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

ИЗВЕШТАЈ

А. Приказ садржаја дисертације

Докторска дисертација Ане Б. Медић написана је на 118 страна А4 формата (фонт 12, проред 1), садржи 47 слика и 17 табела. Подељена је на седам поглавља: 1. Увод (4 стране), 2. Теоријски део (28 страна), 3. Циљ и план истраживања (3 стране), 4. Експериментални део (19 страна), 5. Резултати и дискусија (44 стране), 6. Закључци (3 стране) и 7. Литература (17 страна, 176 цитата). Поред тога, дисертација садржи Захвалницу (1 страна), Извод на српском и енглеском језику (по 2 стране), Списак скраћеница (2 стране), 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).

У Уводу кандидат описује предмет истраживања докторске дисертације разматрајући фундаменталне и практичне аспекте студије. Кандидат истиче проблем загађења животне средине фенолним једињењима и нафтним угљоводоницима, посвећујући посебну пажњу биоремедијацији, као „eco-friendly“ технологији за третман органских загађујућих супстанци, и механизмима за њихово уклањање. Укратко су приказани и садржаји свих осталих поглавља. У Уводу су јасно дефинисани предмет и циљеви рада. Основни циљ ове докторске дисертације био је испитивање потенцијала *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) sap ai да разграђује *n*-алкане (*n*-хексадекан – *n*-C₁₆, *n*-нонадекан – *n*-C₁₉), полицикличне ароматичне угљоводонике (флуорен – FLU, фенантрен – PHE, пирен – PYR), деривате фенола, посебно 2,6-ди-*тери*-бутилфенол – 2,6-DTBP, и сложене смеше угљоводоника, као што су алифатична и ароматична фракција сирове нафте. Како би се детаљније анализирали и разумели

механизми биодеградације наведених једињења испитан је утицај различитих фактора на ефикасност биодеградације (почетна концентрација супстрата, величина посева, рН и температура). У циљу утврђивања степена биотрансформације и деградације наведених једињења, као и анализе метаболита и производа деградације коришћене су гасна хроматографија са масеном спектрометријом (GC-MS) и дводимензионална гасна хроматографија са масеном спектрометријом (GCxGC-MS). На основу протеина идентификованих применом нано-течне хроматографије високих перформанси са тандем масеном спектрометријом (нано LC-MS/MS) и биоинформатике, одређен је специфичан одговор микроорганизама на сваку појединачну испитивану супстанцу и установљени су катаболички путеви биоразградње, који су додатно потврђени одговарајућим ензимским тестовима. Употреба новоразвијених „омикс“ техника које су примењене за анализу генома, протеома и метаболома омогућила је свеобухватно разумевање метаболичке адаптације микроорганизама при расту на *n*-алканима, полицикличним ароматичним угљоводонцима и 2,6-ди-*терц*-бутилфенолу, као јединим изворима угљеника, и механизма биоразградње ових супстрата на молекулском нивоу.

У Теоријском делу кандидат је дао детаљан опис загађења животне средине различитим органским једињењима, као и преглед хемијских и биолошких метода за њихово уклањање. У посебној целини описано је загађење животне средине нафтом и њеним дериватима, методе за идентификацију и карактеризацију загађујућих супстанци нафтног типа и биоремедијација као оптимално решење за њихово уклањање. Посебна пажња посвећена је улози рода *Pseudomonas* у биоремедијацији, са акцентом на *Pseudomonas aeruginosa*. Описана је примена геномске, протеомске и метаболомске анализе за процену утицаја загађујуће супстанце на микроорганизам, разумевање механизма адаптације и биодеградације, као и детекције потенцијалних биомаркера за биомониторинг животне средине. Детаљно су приказани механизми бактеријске биодеградације *n*-алкана, ароматичних угљоводоника и фенола, при чему је посебна пажња посвећена ензимима који су укључени у процесе деградације ових једињења.

У поглављу Циљ и план истраживања још једном су јасно дефинисани задаци и циљеви рада на докторској дисертацији и изнесен план рада.

У оквиру Експерименталног дела наведен је детаљан опис узорака, метода, процедура и урађених анализа који су коришћени у овој дисертацији, што обухвата: одређивање хидрофобности ћелије микроорганизама, хемотаксије, састав и применљивост коришћених подлога, изоловање алифатичне и ароматичне фракције нафте методом хроматографије на колони, одређивање основних параметара биодеградације, као што је праћење раста микробне популације, употребу GC-MS и GCxGC-MS анализе за праћење степена биодеградације испитиваних супстрата (*n*-C₁₆, *n*-C₁₉, FLU, PHE, PYR, 2,6-DTBP и фракција нафте) уз детекцију насталих метаболита, испитивање утицаја различитих фактора на ефикасност биодеградације, одређивање концентрације рамнолипида и егзополисахарида, одређивање активности неколико ензима који су директно укључени или повезани са процесом биодеградације испитиваних једињења (катехол 1,2- и 2,3-диоксигеназа, хидроксилаза, алкохол дехидрогеназа, хинон редуктаза, супероксид дисмутаза, каталаза), респираторну активност *P. aeruginosa* *san ai* приликом биодеградације наведених супстрата, геномску, протеомску и метаболомску анализу.

Поглавље Резултати и дискусија подељено је на две целине у којима су изложени и дискутовани сви резултати ове тезе пропраћени дијаграмима, табеларним подацима и хроматограмима. У прелиминарним испитивањима, на основу теста хидрофобности ћелије, показано је да *P. aeruginosa* *san ai* има потенцијал за биодеградацију различитих

органичних супстанци. Од неколико тестираних минералних подлога изабрана је минерална слана (МС) подлога као оптимална за сва даља испитивања јер је прираст биомасе на њој био највећи. Додатком одабраних полицикличних ароматичних угљоводоника (флуорен, фенантрен, пирен), фенолних једињења (2,6-ди-*терц*-бутилфенол, катехол, хидрохинон, тимол) и натријум-бензоата у МС подлогу и праћењем прираста биомасе потврђено је да *P. aeruginosa* ssp ai може да расте у присуству ових једињења као јединих извора угљеника и енергије.

Прва целина посвећена је свеобухватном разумевању биодеградације 2,6-ДТВР применом *P. aeruginosa* ssp ai. Након урађених анализа предложен је детаљан пут трансформације овог токсичног једињења. Комбинација геномске, протеомске и метаболомске анализе пружила је детаљан опис механизма адаптације и метаболичког одговора *P. aeruginosa* ssp ai на 2,6-ДТВР и јасно потврдила потенцијал овог микроорганизма за деградацију ароматичних једињења, укључујући и 2,6-ДТВР, путем *орто*-разградње.

У другом делу поглавља Резултати и дискусија, пажња је посвећена биодеградацији *n*-алкана, полицикличних ароматичних угљоводоника и фракција нафте као сложених угљоводоничних смеша, при чему су такође приказани могући путеви трансформације. *P. aeruginosa* ssp ai успешно деградује *n*-хексадекан, *n*-нонадекан, флуорен, фенантрен и пирен (почетне концентрације 20 mg/L) са следећом ефикасношћу 80 %, 98 %, 96 %, 50 % и 41 %, редом, као и алифатичну и ароматичну фракцију нафте (трећи до четврти степен биодеградације) у току седам дана. На основу идентификованих метаболита, као и геномских и ензимских података, закључено је да су *n*-алкани метаболисани преко терминалног пута оксидације, док је флуорен деградован преко два пута трансформације, фталатног и салицилатног.

У поглављу Закључци кандидат је на основу детаљно продискутованих резултата, систематски резимирао закључке који су проистекли из докторске дисертације.

Наведена Литература (176 цитата) обухвата радове из области истраживања и покрива све делове дисертације.

Б. Кратак опис постигнутих резултата

У оквиру ове докторске дисертације испитивана је биодеградација органичних полутаната: 2,6-ДТВР, *n*-C₁₆, *n*-C₁₉, FLU, PHE, PYR и фракција нафте, као сложених угљоводоничних смеша, помоћу полиекстремофилне бактерије *P. aeruginosa* ssp ai [1, 2].

У првом делу експеримената, сагласно постављеним циљевима, одабрани су услови за биодеградацију наведених супстрата, као што су оптимална подлога, рН, температура и величина посева. Показано је да *P. aeruginosa* ssp ai успешно може да користи различита ароматична једињења, као једини извор угљеника и енергије. GC-MS анализа одабраних једињења: *n*-C₁₆, *n*-C₁₉, FLU, PHE, PYR, 2,6-ДТВР (почетне концентрације 2 mg/L) додатих у МС подлогу на којима је расла култура *P. aeruginosa* ssp ai показала је да су они у потпуности уклоњени након седам дана. На основу ових резултата може се извести закључак да *P. aeruginosa* ssp ai представља мултидеградативну бактерију, будући да ефикасно разлаже различите органске полутанте.

Детаљно проучавање биодеградације 2,6-ДТВР било је од велике важности имајући у виду широку распрострањеност и токсичност овог једињења, посебно за водене организме. *P. aeruginosa* ssp ai је деградовао 2,6-ДТВР при различитим концентрацијама: 2, 10, 100 и 400 mg/L са следећом ефикасношћу: 100 %, 100 %, 85 %

и 18 %, редом, у току 7 дана. Показано је да сој има веома добар потенцијал не само да преживи, већ и да ефикасно уклони ово фенолно једињење из контаминираних подручја, нарочито из контаминираних вода. Концентрација од 100 mg/L 2,6-DTBP изабрана је као оптимална за даља испитивања утицаја рН, температуре и величине посева. Најефикаснија деградација постигнута је при рН 8,0, величини посева $8,3 \times 10^7$ CFU/mL и температури од 37 °C, у току 7 дана. Респираторном анализом праћена је продукција угљен-диоксида *P. aeruginosa* sap ai на МС подлози са додатком 4 mg/L 2,6-DTBP која је показала да се више од 90 % овог једињења разгради за 10 сати, док је након 20 сати 2,6-DTBP у потпуности деградован. Употребом сировог ензимског екстракта из *P. aeruginosa* sap ai, 2,6-DTBP (концентрације 10 mg/L) је деградован у краћем временском периоду (4 дана), са скоро истом ефикасношћу (98 %), него при коришћењу целог микроорганизама за биодегградацију (7 дана, 100 %). Анализом генома идентификовани су гени који кодирају протеине учеснике у β -кетoadипатној орто-деградацији катехола – catABC и протокатехуата – pcaBCDG. Геномска анализа је јасно указала на потенцијал *P. aeruginosa* sap ai за деградацију ароматичних једињења преко β -кетoadипатне путање. Да би се идентификовали протеини који су укључени у катаболизам 2,6-DTBP урађена је компаративна протеомска анализа. Протеини добијени из култура гајених на 2,6-DTBP и сунцокретовом уљу раздвојени су SDS-PAGE електрофорезом (1 и 2 D), након чега је урађена дигестија трипсином и анализа помоћу нано LC-MS/MS. Резултати су показали да се молекуларни одговор ћелије може описати кроз повећану синтезу протеина одговорних за транспорт аминокиселина са наглашеним метаболизмом глутамата и продукцију енергије кроз повећану синтезу ензима глиоксилатне путање. Ензимски тестови на хидроксилазе и катехол диоксигеназе додатно су потврдили орто-разградњу 2,6-DTBP.

Други део експеримената посвећен је биодегградацији индивидуалних *n*-алкана, полицикличних ароматичних угљоводоника, алифатичне- и ароматичне фракције сирове нафте применом *P. aeruginosa* sap ai. Резултати GC-MS анализе потврђују велики капацитет *P. aeruginosa* sap ai за деградацију *n*-C₁₆, *n*-C₁₉, FLU, PHE и PYR (почетне концентрације 20 mg/L). За седам дана постигнута је следећа ефикасност деградације: 80 %, 98 %, 96 %, 50 % и 41 %, редом. Поред парних *n*-алкана, *P. aeruginosa* sap ai деградује и *n*-алкане са непарним бројем угљеникових атома, што представља прву потврду да *P. aeruginosa* деградује непарне *n*-алканске хомологе. Респираторна анализа показала је да долази до повећане потрошње кисеоника и продукције угљен-диоксида код *P. aeruginosa* sap ai у присуству свих испитиваних угљоводоника, што потврђује активни метаболизам културе током раста на овим једињењима. *P. aeruginosa* sap ai успешно деградује алифатичну и ароматичну фракцију нафте у току седам дана, при чему ефикасност деградације одговара трећем до четвртом степену на скали биодегградације нафте. У алифатичној фракцији деградована је комплетна серија *n*-алкана, док је у ароматичној фракцији у потпуности деградован флуорен и његови деривати, и скоро сав фенантрен. Применом GC-MS и GCxGC-MS идентификовани су метаболити деградације *n*-C₁₆ и *n*-C₁₉: 1-хексадеканол, 1-нонадеканол и *n*-хексадеканска киселина, као и метаболити деградације флуорена (укупно 7), на основу чега је закључено да су *n*-алкани метаболисани преко терминалног пута оксидације, док се деградација флуорена одиграла кроз два пута: фталатни и салицилатни. Ензимски тестови и геномска анализа потврдили су претпостављени пут трансформације наведених једињења.

Резултати ове докторске дисертације недвосмислено показују да полиекстремофилна бактерија *P. aeruginosa* sap ai има веома добар потенцијал за биоремедијацију подручја контаминираних фенолним једињењима и нафтним угљоводоницима, чак и у екстремним условима. Такође, *P. aeruginosa* sap ai и његови

метаболити могу послужити и као биомаркери за препознавање раног загађења животне средине.

В. Упоредна анализа резултата кандидата са резултатима из литературе

Фенолна једињења, нафтни угљоводоници, укључујући и полициклична ароматична једињења, представљају све већу опасност по животну средину јер су токсични, мутагени и карциногени, а веома тешко се деградују. Све већа распрострањеност и њихова свакодневна употреба доводи до загађења земљишта, воде и ваздуха овим једињењима. Примена микроорганизама, који помоћу реакција које чине саставни део њихових метаболичких процеса, трансформишу загађујуће супстанце у нетоксична или једињења са смањеном токсичношћу сматра се идеалним решењем за санацију загађења. Из тих разлога, од интереса је било извести детаљно испитивање потенцијала полиекстремофила *Pseudomonas aeruginosa* *sap ai* да разграђује различите органске полутанте [1, 2]. *Pseudomonas aeruginosa* показује извесне предности за примену у биоремедијацији у односу на остале бактерије јер има могућност брзе адаптације на различите животне услове захваљујући разгранатом метаболизму, ниске нутритивне потребе, јединствено понашање попут, формирања биофилма, продукције секундарних метаболита, као што су рамнолипиди и егзополосахариди који у знатној мери олакшавају биодеградацију липофилних супстанци [3].

У овој дисертацији утврђено је да сој *P. aeruginosa* *sap ai* може успешно да деградује фенолна једињења (2,6-DТВР), *n*-алкане (*n*-C₁₆, *n*-C₁₉), полицикличне ароматичне угљоводонике (FLU, РНЕ, РYR), као и алифатичну и ароматичну фракцију нафте. По први пут је показано да *Pseudomonas aeruginosa* може да деградује непарне *n*-алканске хомологе, као и комплетну *n*-алканску серију из алифатичне фракције сирове нафте (C₁₂ – C₃₉) за 7 дана. Поред тога, за исто време из ароматичне фракције нафте су у потпуности уклоњени флуорен и његови деривати, и скоро сав фенантрен, док је садржај метил-деривата фенантрена значајно смањен. Утврђено је да ефикасност разградње фракција нафте за 7 дана одговара трећем до четвртом степену на скали биодеградације нафте [4]. Поређења ради, исти степен биодеградације у нафтним резервоарима постиже се након неколико стотина хиљада или милиона година [5]. Такође, закључено је да редослед разградње појединих типова једињења у фракцијама нафте применом *P. aeruginosa* *sap ai* следи ток биодеградације нафте у природним геолошким условима [4].

Од изузетне важности је резултат који показује да *P. aeruginosa* *sap ai* може успешно да деградује 2,6-DТВР у широком распону концентрације, температуре и рН, с обзиром да је до сада публикован само један рад који се тиче биодеградације овог фенолног једињења и то помоћу *Alcaligenes sp.* F-3-4 [6]. Резултат, добијен у овој дисертацији показује да сој *P. aeruginosa* *sap ai* има знатно бољи потенцијал за деградацију 2,6-DТВР у односу на бактерију *Alcaligenes sp.* F-3-4 [6].

Активност ензима који су укључени у активацију и отварање прстена у комбинацији са геномском и протеомском анализом, показала је да су сва испитивана ароматична једињења, укључујући и 2,6-DТВР, деградована преко *орто*-гране β-кетoadипатне путање. Добијени резултати за *P. aeruginosa* *sap ai* су у сагласности са публикованим резултатима за *P. putida* [7] и *P. aeruginosa* 142 [8] који су показали да ови микроорганизми такође користе *орто*-разградњу катехола и натријум-бензоата.

Константе брзине деградације за *n*-C₁₉ и FLU износиле су 1,59 1/дан и 0,51 1/дан. Резултати ове дисертације показали су да *P. aeruginosa* *sap ai* има бољи капацитет за

деградацију полицикличних ароматичних угљоводоника (0,51 1/дан за FLU), него *Pseudomonas sp.* BZ-3 (0,11 1/дан за PHE) [9]. На основу GC-MS анализе утврђено је да ефикасност биодеградације полицикличних ароматичних угљоводоника код *P. aeruginosa* сан аи опада са порастом броја кондензованих прстенова, што је у сагласности са публикованим резултатима за *Pseudomonas sp.* BZ-3 [9] и *P. aeruginosa* DQ8 [10].

На основу метаболита идентификованих GCxGC-MS анализом, предложена су два пута деградације FLU применом *P. aeruginosa* сан аи, фталатни и салицилатни. Zhang и сарадници (2011) су у својој студији такође предложили ова два пута трансформације FLU помоћу *P. aeruginosa* DQ8 [10], иако главни метаболити фталат и салицилат нису били детектовани, док је у овој докторској дисертацији њихово присуство недвосмислено утврђено.

1. Karadzic I., Masui A., Fujiwara N. 2004. Purification and characterization of a protease from *Pseudomonas aeruginosa* growth in cutting oil. *Journal of Bioscience and Bioengineering* **98**, 145-152.
2. Izrael-Živković L., Rikalović M., Gojgić-Cvijović G., Kazazić S., Vrvić M., Brčeski V., Lončarević B., Gopčević K., Karadžić I. 2018. Cadmium specific proteomic responses of a highly resistant *Pseudomonas aeruginosa* сан аи. *RSC Advances* **8**, 10549-10560.
3. Rikalović M., Abdel-Mawgoud A.M., Déziel E., Gojgić-Cvijović G., Nestorović Z., Vrvić M., Karadžić I. 2013. Comparative analysis of rhamnolipids from novel environmental isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Surfactants and Detergents* **16**, 673-682.
4. Head I.M., Jones D.M., Larter S. 2003. Biological activity in the deep subsurface and the origin of heavy oil. *Nature* **426**, 344-352.
5. Šolević T., Stojanović K., Bojesen-Koefoed J., Nytoft H.P., Jovančičević B., Vitorović D. 2008. Origin of oils in the Velebit oil-gas field, SE Pannonian Basin, Serbia – source rocks characterization based on biological marker distributions. *Organic Geochemistry* **39**, 118-134.
6. Zhang Y., Fang Z., Xu D., Xiao Y., Zhao J., Qiang Z. 2005. Degradation of 2,6-di-*tert*-butylphenol by an isolated high-efficiency bacterium strain. *Journal of Environmental Sciences* **17**, 271-275.
7. Loh K., Chua S. 2002. *Ortho* pathway of benzoate degradation in *Pseudomonas putida*: induction of *meta* pathway at high substrate concentrations. *Enzyme and Microbial Technology* **30**, 620-626.
8. Romanov V., Hausinger R.P. 1994. *Pseudomonas aeruginosa* 142 uses a three-component ortho-halobenzoate 1,2-dioxygenase for metabolism of 2,4-dichloro- and 2-chlorobenzoate. *Journal of Bacteriology* **176**, 3368-3374.
9. Lin M., Hu X., Chen W., Wang H., Wang C. 2014. Biodegradation of phenanthrene by *Pseudomonas sp.* BZ-3, isolated from crude oil contaminated soil. *International Biodeterioration and Biodegradation* **94**, 176-181.
10. Zhang Z., Hou Z., Yang C., Ma C., Tao F., Xu P. 2011. Degradation of *n*-alkanes and polycyclic aromatic hydrocarbons in petroleum by a newly isolated *Pseudomonas aeruginosa* DQ8. *Bioresource Technology* **102**, 4111-4116.

Г. Објављени и саопштени радови који чине део докторске дисертације

Резултати истраживања проистекли из ове докторске дисертације објављени су у два рада штампана у истакнутим међународним часописима (M22) и пет саопштења штампаних у изводу на научним скуповима међународног значаја (M34).

Радови у истакнутим међународним часописима (M22)

1. Medić A., Stojanović K., Izrael-Živković L., Beškoski V., Lončarević B., Kazazić S., Karadžić I. 2019. A comprehensive study of conditions of the biodegradation of a plastic additive 2,6-di-*tert*-butylphenol and proteomic changes in degrader *Pseudomonas aeruginosa* san ai. *RSC Advances* **9**, 23696-23710 (<https://doi.org/10.1039/C9RA04298A>). (Chemistry, Multidisciplinary 68/172; IF₂₀₁₈ = 3,049).
2. Medić A., Lješević, M., Inui, H., Beškoski, V., Kojić, I., Stojanović, K., Karadžić, I. 2020. Efficient biodegradation of petroleum *n*-alkanes and polycyclic aromatic hydrocarbons by polyextremophilic *Pseudomonas aeruginosa* san ai with multidegradative capacity. *RSC Advances* **10**, 14060-14070 (<https://doi.org/10.1039/C9RA10371F>). (Chemistry, Multidisciplinary 68/172; IF₂₀₁₈ = 3,049).

Саопштења на научним скуповима међународног значаја штампана у изводу (M34)

1. Medić A., Karadžić I., Stojanović K. 2016. Biodegradation of *n*-alkanes and polycyclic aromatic hydrocarbons by *Pseudomonas aeruginosa* san ai. Sixth Conference of the Serbian Biochemical Society with International Participation, Belgrade, Serbia, November 18, 2016, Book of Abstracts, pp. 135-136, ISBN 978-86-7220-081-2.
2. Medić A., Stojanović K., Karadžić I. 2017. Biodegradation of 2,6-di-*tert*-butylphenol by *Pseudomonas aeruginosa* san ai. Seventh Conference of the Serbian Biochemical Society, with International Participation "Biochemistry of Control in Life and Technology", Belgrade, Serbia, November 10, 2017, Book of Abstracts, pp. 163-164, ISBN 978-86-7220-091-1.
3. Medić A., Stojanović K., Karadžić I. 2018. Biodegradation of 2,6-di-*tert*-butylphenol by oxygenases from *Pseudomonas aeruginosa* san ai. 12th Congress of Serbian Microbiologists with International Participation, MICROMED 2018 REGIO, Belgrade, Serbia, May 10 - 12, 2018, Book of Abstracts, p. 245, ISBN 978-86-914897-5-5.
4. Medić A., Šuvakov S., Stojanović K., Karadžić I. 2018. Comparative proteomic analysis of 2,6-di-*tert*-butylphenol degradation by *Pseudomonas aeruginosa* san ai. FEBS3+ Conference "From molecules to living systems", Siófok, Hungary, September 2 - 5, 2018, Book of Abstracts, p. 129, ISBN 978-615-5270-47-5.
5. Medić A., Stojanović K., Izrael-Živković L., Kazazić S., Karadžić I. 2019. Genomic and proteomic studies of the biodegradation of 2,6-di-*tert*-butylphenol by *P. aeruginosa* san ai. Ninth Conference of the Serbian Biochemical Society with International Participation, Belgrade, Serbia, November 14 - 16, 2019, Book of Abstracts, p. 126, ISBN 978-86-7220-101-7.

Д. Провера оригиналности докторске дисертације

Оригиналност докторске дисертације 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 подударача текста докторске дисертације **„Биодеградација *n*-алкана, полицикличних ароматичних угљоводоника и фенола коришћењем соја *Pseudomonas aeruginosa* san ai“**, аутора **Ане Б. Медић**, износи 23 %. Од тога, 3 % преклапања нађено је са радом проистеклим

из докторске дисертације: Medić A., Stojanović K., Izrael-Živković L., Beškoski V., Lončarević B., Kazazić S., Karadžić I. 2019. A comprehensive study of conditions of the biodegradation of a plastic additive 2,6-di-*tert*-butylphenol and proteomic changes in degrader *Pseudomonas aeruginosa* *san ai*. *RSC Advances* **9**, 23696-23710, што је пре свега последица чињенице да овај рад садржи обимне табеле (које заузимају и до неколико страна), са ознакама, одговарајућим бројним вредностима и легендама, а које су, разумљиво, у идентичном облику дате и у докторској дисертацији. Из истог разлога, 1 % преклапања нађен је са другим радом, такође проистеклим из докторске дисертације: Medić, A., Lješević, M., Inui, H., Beškoski, V., Kojić, I., Stojanović, K., Karadžić, I. 2020. Efficient biodegradation of petroleum *n*-alkanes and polycyclic aromatic hydrocarbons by polyextremophilic *Pseudomonas aeruginosa* *san ai* with multidegradative capacity. *RSC Advances* **10**, 14060-14070, али је у овом случају степен подударности нешто мањи, јер су у овом раду и табеле мањег обима. Преклапање од 1 % нађено је и са интернет страницом fedorabg.bg.ac.rs. Оно се пре свега односи на насловну страну докторске дисертације, лична имена и захвалницу. Преклапање са свим осталим изворима је мање од 1 %, и последица је цитата, библиографских података о коришћеној литератури, назива и скраћеница органских једињења и инструменталних техника, тј. тзв. општих места и појмова. Стога сматрамо да је утврђено да је докторска дисертација **Ане Б. Медих** у потпуности оригинална, као и да су у потпуности испоштована академска правила цитирања.

Б. Закључак

Комисија је на основу детаљног прегледа докторске дисертације **Ане Б. Медих**, под насловом „**Биодеградација *n*-алкана, полицикличних ароматичних угљоводоника и фенола коришћењем соја *Pseudomonas aeruginosa* *san ai***“ закључила да је кандидат успешно одговорио на све постављене задатке и циљеве.

У овој дисертацији, применом савремених аналитичких метода, је испитан, и недвосмислено потврђен велики потенцијал соја *P. aeruginosa* *san ai* да разграђује свеprisутне органске полутанте (*n*-алкане, полицикличне ароматичне угљоводонике, феноле и угљоводоничне фракције нафте). Испитивањем утицаја различитих фактора на степен биодеградације дефинисани су оптимални услови за раст микроорганизама при излагању наведеним супстратима, као јединим изворима угљеника.

Употребом новоразвијених биоаналитичких метода за анализу генома, његовог комплемента протеома, као и анализом одређених метаболита (метаболом), у комбинацији са одређивањем ензимске активности разјашњени су путеви разградње наведених загађујућих супстанци помоћу *P. aeruginosa* *san ai*, и установљен специфични ћелијски одговор микроорганизама током раста на овим супстратима.

Поред фундаменталног научног доприноса, резултати ове докторске дисертације имају и практични аспект, јер могу значајно усмерити дизајнирање поступака биоремедијације локалитета контаминираних нафтним полутантима и 2,6-ди-*терц*-бутилфенолом, коришћењем врста рода *Pseudomonas*. Осим тога, *P. aeruginosa* *san ai* и његови метаболити могу послужити као биомаркери за препознавање почетних стадијума загађења животне средине, али и указати на присуство микроорганизама резистентних на органске полутанте.

Резултати истраживања проистекли из ове докторске дисертације објављени су у два рада штампана у истакнутим међународним часописима (M22) и пет саопштења штампаних у изводу на скуповима међународног значаја (M34).

Комисија сматра да резултати ове докторске дисертације представљају значајан научни допринос разумевању биодеградационих процеса фенолних једињења и нафтних полутаната, као и дизајнирању биотехнолошких поступака у заштити животне средине.

На основу свега изложеног, Комисија предлаже Наставно-научном већу Хемијског факултета Универзитета у Београду да поднету докторску дисертацију **Ане Б. Медић** под насловом „**Биодеградација *n*-алкана, полицикличних ароматичних угљоводоника и фенола коришћењем соја *Pseudomonas aeruginosa* ssp ai**“ прихвати и одобри њену одбрану.

Комисија:

др Ксенија Стојановић, ментор
Редовни професор
Универзитет у Београду
Хемијски факултет

др Иванка Караџић, ментор
Редовни професор
Универзитет у Београду
Медицински факултет

др Бранимир Јованчићевић
Редовни професор
Универзитет у Београду
Хемијски факултет

др Владимир Бешкоски
Ванредни професор
Универзитет у Београду
Хемијски факултет

др Дубравка Релић
Ванредни професор
Универзитет у Београду
Хемијски факултет

Београд, 28. мај 2020. године