

**НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ
УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ – ХЕМИЈСКОГ ФАКУЛТЕТА**

ПРЕДМЕТ: Извештај Комисије за преглед и оцену докторске дисертације **Сађе Н. Стојановић**, мастер дипломираног биохемичара

На редовној седници Наставно-научног већа Универзитета у Београду – Хемијског факултета, одржаној 14.02.2019. године (одлука бр. 173/2), изабрани смо за чланове Комисије за преглед и оцену докторске дисертације кандидата Сађе Н. Стојановић, мастер биохемичара, студента докторских студија Универзитета у Београду – Хемијског факултета и истраживача-сарадника Универзитета у Београду – Института за хемију, технологију и металургију, пријављене под насловом:

„Продукција и карактеризација ензима инулиназа *Aspergillus spp.* за добијање фруктоолигосахарида”

Веће научних области природних наука Универзитета у Београду је на својој седници одржаној дана 28.03.2019. године, на захтев Хемијског факултета, дало сагласност на предлог теме докторске дисертације (евиденциони број 61206-1331/2-19). Комисија је докторску дисертацију прегледала и Наставно-научном већу подноси следећи

ИЗВЕШТАЈ

А. Приказ садржаја дисертације

Докторска дисертација кандидата Сађе Н. Стојановић је написана је на 96 страна А4 формата (фонт Times New Roman; величина 12 pt; проред 1,0; маргине 2 cm) и садржи 42 слике и 25 табела. Рад обухвата следећа поглавља: Увод (1 страна), Општи део (24 стране), Наше радове (38 страна), Експериментални део (23 стране), Закључак (1 страна) и Литература (9 страна, 257 цитата). Поред наведеног, дисертација садржи Захвалницу (2 стране), Сажетак на српском и енглеском језику (по 1 страна), Садржај (3 стране), Листу скраћеница (1 страна), Биографију кандидата (2 стране), Библиографију кандидата (2 стране), Изјаву о ауторству (1 страна), Изјаву о истовестности штампане и електронске верзије докторског рада (1 страна) и Изјаву о коришћењу (2 стране).

У **Уводу** је дат кратак опис и садржај осталих поглавља ове дисертације. Укратко је описан значај филаментозних гљива рода *Aspergillus* у производњи ензима; производња ензимских комплекса употребом чврстих природних материјала као супстрата. Дат је кратак опис ензима који имају улогу у добијању фруктоолигосахарида, као и њихова примена.

У **Општем делу** је приказана актуелност научне проблематике кроз литературу. Описана је употреба филаментозних гљива рода *Aspergillus* у производњи индустријски важних ензима. Наведени су и описани начини идентификације изолата гљива. Описан је значај и потреба анализирања гљива да ли продукује микотоксине. Описани су најважнији тестови за селекцију гљива добрих произвођача ензима, као и употреба природних и отпадних материјала индукујућих супстрата за гајење гљива. Детаљно су описани ензими инулиназног комплекса, њихова подела и примена. У овом поглављу је дат опис гена који су одговорни за производњу ензима који имају улогу у синтези фруктоолигосахарида. Описани су начини добијања фруктоолигосахарида, методе за њихову квантификацију и одређивање антиоксидативног потенцијала. Даље је описана њихова примена, дефиниција и улога у организму и позитиван утицај на здравље људи.

У поглављу **Наши радови**, који се састоји од пет целина приказани су добијени резултати истраживања. У првој целини описан је одабир потенцијалних произвођача инулиназа, начин изоловања гљива рода *Aspergillus*, њихова идентификација, поступак развијања и употреба новог теста за брзу селекцију гљива произвођача инулиназних ензима.

У другој целини описано је испитивање производње микотоксина аналитичким методама и на нивоу гена. Приказани су резултати за микотоксине након HPLC анализе екстракционих течности након гајења гљива и производње ензимских комплекса. Описани су добијени резултати анализе кластера гена, који имају улогу у синтези микотоксина, код изолата гљива рода *Aspergillus* који су показали потенцијал за производњу инулиназних ензима. Укрштањем резултата из прве две целине изабран је сој *A. welwitschiae* FAW1 као добар произвођач инулиназних ензима и безбедан за употребу у храни са становишта немогућности производње микотоксина.

Трећа целина обухвата оптимизацију услова производње ензимских комплекса употребом соја *A. welwitschiae* FAW1. Описана је производња ензима у условима ферментације на чврстом супстрату употребом различитих природних материјала (тритикале, пшеничне мекиње и јерусалимска артичока) као индуцибилних супстрата за производњу ензима инулиназног комплекса. Испитана је производња ензимских

комплекса при различитим условима гајења гљиве и одређена је активност сваког продукованог ензима. Затим је описан развој и употреба нове зимограмске методе за симултану детекцију ензима који припадају инулиназном комплексу (InuA, InuE, FTase).

У четвртом делу Наших радова описана су два начина за добијање фруктоолигосахарида; први који подразумева хидролизу инулина (FOS_h) и други који подразумева реакцију трансфруктозилације употребом сахарозе као почетног супстрата (FOS_s). У овом делу описан је процес оптимизације реакције синтезе фруктоолигосахарида варирањем различитих услова (температуре, рН вредности, количине супстрата и ензима, времена трајања реакције). Приказана је квалитативна и квантитативна анализа синтетизованих фруктоолигосахарида, као и њихов антиоксидативни капацитет. Приказан је и нови алтернативни начин за добијање фруктоолигосахарида методом *in situ* током гајења гљиве на супстрату.

Пети део обухвата продукцију, пречишћавање и карактеризацију ензима фруктозилтрансферазе из *Aspergillus welwitschiae* FAW1. Ензим је пречишћен класичним хроматографским техникама јоноизмењивачке и гел хроматографије, где је сваки корак испраћен одређивањем ензимских активности и симултаном зимограмском детекцијом. У овом делу приказана је продукција фруктоолигосахарида хидролизом инулина пречишћеном ендоинулиназом. Ова целина садржи детаљан опис биохемијске карактеризације фруктозилтрансферазе која обухвата одређивање супстратне специфичности, рН и температурног оптимума и рI вредности. У овом делу је описан ензим за продукцију фруктоолигосахарида на нивоу гена, анализом секвенције и провером експресије *suc1* гена.

У поглављу **Закључак** сумирани су и анализирани најважнији резултати добијени током израде ове дисертације.

У поглављу **Експериментални део** приказани су детаљни описи коришћених реагенса и експерименталних метода за добијање, пречишћавање и карактеризацију ензима. Детаљно су приказани примењивани тестови за одређивање ензимских активности, оптимизација продукције фруктоолигосахарида и методе коришћене за њихову анализу и карактеризацију. Поглавља из експерименталног дела су навођена истим редоследом као поглавља дата у нашим радовима.

Поглавље **Литература** садржи укупно 257 референци наведених по редоследу цитирања у тексту.

Б. Кратак опис постигнутих резултата

Изолирано је 39 чистих култура са различитих супстрата, које показују морфолошке карактеристике црних *Aspergillus* врста и које су идентификоване до нивоа врсте техникама молекуларне биологије. Међу добијеним изолатима идентификоване су 3 врсте: *A. niger*, *A. welwitschiae* и *A. tubingensis*. Развијен је дифузиони тест за брзу селекцију инулиназних произвођача међу изолатима гљива рода *Aspergillus*, којим се може испитати велики број сојева. Већина изолата *A. niger* и *A. welwitschiae* и половина изолата *A. tubingensis* дали су позитивне резултате у дифузионом тесту, при чему су се издвојила три соја *A. welwitschiae* (FAW1, FAW6 и FAW9) као најбољи произвођачи инулиназних ензима. Производња микотоксина фумонизин (FB2) потврђена је у изолатима FAW2, FAW3, FAW4, FAW5 и FAW9, док ниједан од испитиваних сојева не продукује микотоксин фумонизин (FB1). Анализа гена одговорних за синтезу микотоксина показала је да сојеви FAW1 и FAW6 не поседују комплетне кластере гена за продукцију микотоксина охратоксин (OTA) и фумонизин (FB).

Најбољи сој за продукцију ензима инулиназног комплекса за употребу у производњи фруктоолигосахарида показао се FAW1. Даља истраживања показала су да активност продукованих ензима (InuA, InuE, FTase, FFase) зависи од супстрата коришћеног током гајења соја FAW1. Гајење на подлози са јерусалимском артичоком и пшеничним мекињама са додатим пептоном даје највећу активност β -фруктофуранозидазе (FFase) (6,3 U/mL) и фруктозилтрансферазе (FTase), док се гајењем на подлози са тритикалеом добија највећа егзоинулиназна (InuE) (2,4 U/mL), као и највећа ендоинулиназна активност (InuA) (34 U/mL). Резултати су показали да се цео инулиназни комплекс ензима гљиве *A. welwitschiae* FAW1, уколико је потребно, може користити за добијање фруктоолигосахарида без претходног пречишћавања појединачних ензима. Копродукцијом комплекса инулиназних ензима показано је да се иста гљива може користити за обе методе добијања фруктоолигосахарида (FOS_s и FOS_h) у зависности од подлоге на којој се узгаја.

Пречишћени су главни ензими одговорни за продукцију фруктоолигосахарида – InuA за добијање FOS_h и FTase за добијање FOS_s. Развијена је метода за симултану зимограмску детекцију ензима инулиназног комплекса (InuA, InuE и FFase). Оптимизовани су услови за добијање FOS_h употребом пречишћене ендоинулиназе *A. welwitschiae* FAW1 (5% раствор инулина, рН 6,0, температура од 45 °C), током реакције која траје 25 минута, док оптимални услови синтезе FOS_s употребом

фруктозилтрансферазе *A. welwitschiae* FAW1 подразумевају реакцију у 60% - тној сахарози, на 55 °C, 24 h на pH 5,5. Анализом генома *A. welwitschiae* FAW1 потврђено је присуство гена *suc1* који се сматра одговорним за експресију ензима фруктозилтрансферазе (FTase) и β-фруктофуранозидазе (FFase).

Карактеризација добијених FOS_s и FOS_h показала је да поседују значајан антиоксидативни потенцијал што их чини добрим кандидатима за додатак функционалној храни, док је гљива *A. welwitschiae* FAW1 потенцијални индустријски произвођач ензима за продукцију FOS_s и FOS_h.

В. Упоредна анализа резултата кандидата са резултатима из литературе

Примена микроорганизама у индустрији и у производњи бројних комерцијалних производа корисних за човека има велику улогу и све већи значај у свету. Познато је да филаментозне гљиве рода *Aspergillus* секција *Nigri* продукују индустријски важне хидролитичке ензиме (амилазе, целулазе, инулиназе, ксиланазе, пектиназе, протеазе) у виду ензимских комплекса и захваљујући тој способности имају значајну примену у биотехнолошким процесима и прехранбеној технологији [1–3]. Почетак биотехнолошких процеса представља потрагу за новим потенцијалним произвођачима ензима међу гљивама и често обухвата неколико фаза које подразумевају дуг период раста гљива као и компликовану детекцију продукованих ензима. У литератури је описан велики број тестова за селекцију изолата гљива. Међутим они трају дуго или захтевају употребу скувих супстрата и/или употребу токсичних боја [4–6]. Стога је за потребе ове дисертације развијен брз и једноставан тест који даје тачне и репродуктивне резултате за одабир произвођача ензима инулиназног комплекса међу гљивама рода *Aspergillus*.

Савремена истраживања придају велики значај идентификацији врста гљива које се употребљавају у биотехнолошким процесима. Иако је FDA дозволила примену неких индустријских сојева *Aspergillus* врсте у индустрији хране, код свих новоизолованих сојева кључну улогу има идентификација соја на молекуларном нивоу као и испитивање могућности синтезе микотоксина, како би се задовољио висок стандард безбедности, јер се у производњи ензима чија је примена у прехранбеној индустрији могу користити само сојеви који не продукују микотоксине [7]. Узимајући ово у обзир сви изолати коришћени у овој дисертацији су идентификовани на молекуларном нивоу, а продукција микотоксина испитана је анализом кластера гена који имају улогу у њиховој синтези. Литературни подаци указују на велики значај

гљива рода *Aspergillus* које представљају једне од најбољих произвођача инулиназа, с обзиром на њихову способност продукције комплекса ензима који имају улогу у добијању фруктоолигосахарида (FOS) [4,8–10]. У овој докторској дисертацији сој идентификован као *Aspergillus welwitschiae* FAW1 показао се као најбољи произвођач инулиназних ензима и који у свом геному не поседује гене одговорне за синтезу микотоксина стога се сматра безбедним за употребу и коришћен је у свим осталим експериментима. Ови резултати су препознати као веома значајни и објављени су у врхунском међународном часопису (M21).

Значајан број литературних података указује на употребу чврстих супстрата (ССФ - од *eng.* solid state fermentation) за продукциону ферментацију филаментозним гљивама. Ова метода има неколико економских и практичних предности као и позитиван утицај на заштиту животне средине узимајући у обзир да омогућава поновно коришћење агро-индустријског отпада као супстрата за продукцију ензима, смањује загађење земљишта и настанак отпадних вода, што указује на већу исплативост процеса [11]. Разноврсни агро-индустријски отпад и природни материјали имају улогу у продукцији ензима који се користе за добијање FOS-ова [12], а оптимизација услова за њихову продукцију представља кључни корак у биотехнологији. У оквиру ове докторске дисертације оптимизовани су услови продукције ензимског комплекса инулиназа гајењем гљиве *Aspergillus welwitschiae* FAW1 на подлогама које садрже пшеничне мекиње (као јефтиног нуспроизвода млинске индустрије), тритикале (*x Triticosecale*, Vittmack) недовољно искоришћене житарице за коју се показало да представља добар извор хранљивих материја и добар ССФ супстрат за раст гљива и продукцију ензима [13]) и јерусалимске артичоке (као природног извора инулина [14]). Програмовани ензимски комплекси су даље коришћени за добијање фруктоолигосахарида. Добијени резултати се истичу као нови у литератури и показују да се иста гљива може користити за добијање различитих ензимских комплекса у зависности од супстрата који се користи током гајења. Резултати такође показују да се за добијање FOS-ова могу користити програмовани ензимски комплекси без претходног раздвајања појединачних ензима инулиназног комплекса. Током ових експеримената испитана је и потврђена могућност продукције олигосахарида *in situ*, што знатно поједностављује процес и скраћује време потребно за њихово добијање. У оквиру дисертације развијена је и поуздана зимограмска метода за истовремену детекцију ензима инулиназног комплекса. Ови резултати су препознати као значајни и објављени су у међународном часопису изузетних вредности (M21a).

Познато је да гљиве продукују ензиме у виду ензимских комплекса, стога је велика пажња усмерена на карактеризацију и детекцију појединачних ензима, пре свега на ензим фруктозилтрансферазу, с обзиром да у литератури има доста података о егзо- и ендоинулинази. Током израде ове дисертације ензим фруктозилтрансфераза је пречишћен од осталих ензима инулиназног комплекса и биохемијски окарактерисан (одређена је супстратна специфичност, рН и температурни оптимум и рI вредност).

У литератури се ген *suc1* везује за већ детектоване фруктозилтрансферазне (FTase) и фруктофуранозидназне (FFase) активности у *Aspergillus* spp. [15,16]. Стога је за детаљнију карактеризацију овог ензима анализирано присуство и експресија *suc1* гена у комплетно секвенцираном геному *A. welwitschiae* FAW1.

У овој докторској дисертацији добијени су FOS-ови различитог профила у зависности од ензима и супстрата који се користи у реакцији; FOS_h – добијени хидролизом инулина употребом ендоинулиназе и FOS_s добијени синтезом из сахарозе употребом фруктозилтрансферазе.

Последњих година веома актуелну тему представљају пребиотици, где припадају и фруктоолигосахариди - њихов значај, примена и улога коју имају у здрављу људи [17,18]. Велики број истраживања бави се продукцијом пребиотика што подразумева, како потрагу за новим произвођачима ензима који се користе за њихову синтезу, тако и карактеризацију добијених производа, где спада и одређивање антиоксидативног потенцијала. Резултати добијени испитивањем антиоксидативног потенцијала FOS-ова продукованих током израде ове дисертације у сагласности су са подацима из литературе добијени анализом других фруктоолигосахарида [19–22], што их чини погодним за употребу у индустрији хране.

Литература:

1. Pandey, A., Soccol, C.R., Selvakumar, P., Soccol, V.T., Krieger, N., Fontana, J.D., *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **81**, 35–52 (1999). doi:10.1385/ABAB:81:1:35.
2. Chi, Z., Chi, Z., Zhang, T., Liu, G., Yue, L., *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **82**, 211–220 (2009). doi:10.1007/s00253-008-1827-1.
3. Fernandes, P., Carvalho, F., u: *Biotechnology of Microbial Enzymes: Production, Biocatalysis and Industrial Applications*, editor: Brahmachari, G., Demain, A.L., Adrio, J.L., Elsevier Inc., pp.513–44 (2017). ISBN 9780128037461.
4. Rawat, H.K., Ganaie, M.A., Kango, N., *Antonie van Leeuwenhoek, Int. J. Gen. Mol. Microbiol.*, **107**, 799–811 (2015). doi:10.1007/s10482-014-0373-3.

5. Abu El-souod, S.M., Mohamed, T.M., Ali, E.M.M., El-badry, M.O., El-keiy, M.M., *J. Genet. Eng. Biotechnol.*, **12**, 15–20 (2014). doi:10.1016/j.jgeb.2014.04.001.
6. Silvera, D.; Luthfin, I.; Aulia, A.; Nova Wahyu, P., *Res. J. Chem. Environ.*, **22**, 71–78 (2018).
7. Dagher, S., Fisher, C., Galli, C., Grant, D., Hattan, D., Kojima, K., Kuznesof, P., Larsen, J., Meyland, I., Priestly, B., Reyes, F., Vongbuddhapitak, A., Walker, R., Wallin, H., Evaluation of certain food additives and contaminants, Geneva, 2001.
8. Goosen, C., van der Maarel, M.J.E.C., Dijkhuizen, L., *Biocatal. Biotransformation.*, **26**, 49–58 (2008). doi:10.1080/10242420701806686.
9. Housseiny, M.M., *J. Microbiol.*, **52**, 389–398 (2014). doi:10.1007/s12275-014-3561-y.
10. Vijayaraghavan, K., Yamini, D., Ambika, V., Sravya Sowdamini, N., *Crit. Rev. Biotechnol.*, **29**, 67–77 (2009). doi:10.1080/07388550802685389.
11. Soccol, C.R., da Costa, E.S.F., Letti, L.A.J., Karp, S.G., Woiciechowski, A.L., Vandenberghe, L.P. de S., *Biotechnol. Res. Innov.*, **1**, 52–71 (2017). doi:10.1016/j.biori.2017.01.002.
12. de la Rosa, O., Flores-Gallegos, A.C., Muñiz-Marquez, D., Nobre, C., Contreras-Esquivel, J.C., Aguilar, C.N., *Trends Food Sci. Technol.*, **91**, 139–146 (2019). doi:10.1016/j.tifs.2019.06.013.
13. Dojnov, B., Grujic, M., Percevic, B., Vujcic, Z., *J. Serbian Chem. Soc.*, **80**, 1279-88 (2015). doi:10.2298/JSC150317043D.
14. Chi, Z.M., Zhang, T., Cao, T.S., Liu, X.Y., Cui, W., Zhao, C.H., *Bioresour. Technol.*, **102**, 4295–4303 (2011). doi:10.1016/j.biortech.2010.12.086.
15. Boddy, L.M., Berges, T., Vainstein, M.H., Dobson, M.J., Ballance, D.J., Peberdy, J.F., *Curr. Genet.*, **191**, 60–66 (1993).
16. Yuan, X.L., Goosen, C., Kools, H., van der Maarel, M.J.E.C., van den Hondel, C.A.M.J.J., Dijkhuizen, L., Ram, A.F.J., *Microbiology*, **152**, 3061–3073 (2006). doi:10.1099/mic.0.29051-0.
17. Bindels, L.B.; Delzenne, N.M.; Cani, P.D.; Walter, J., *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.*, **12**, 303–310 (2015). doi:10.1038/nrgastro.2015.47.
18. Shanahan, F., *Am. J. Clin. Nutr.*, **101**, 1–2 (2015). doi:10.3945/ajcn.114.101550.
19. Stoyanova, S., Geuns, J., Hideg, É., Van Den Ende, W., *Int. J. Food Sci. Nutr.*, **62**, 207–214 (2011). doi:10.3109/09637486.2010.523416.
20. Madhu, A.N., Amrutha, N., Prapulla, S.G., *Probiotics Antimicrob. Proteins*, **4**, 90–97, (2012). doi:10.1007/s12602-012-9099-6.

21. Mesa, M.D., Silván, J.M., Olza, J., Gil, Á., del Castillo, M.D., *Food Res. Int.*, **41**, 606–615 (2008). doi:10.1016/j.foodres.2008.03.010.
22. Manosroi, J., Khositsuntiwong, N., Manosroi, A., *J. Food Sci. Technol.*, **51**, 341–346 (2011). doi:10.1007/s13197-011-0498-6.

Г. Објављени и саопштени радови који чине део дисертације

Из резултата ове докторске дисертације су проистекла два рада у међународним научним часописима са SCI листе на којима је кандидат први аутор и аутор за кореспонденцију на једном (један рад категорије M21a и један рад категорије M21), као и саопштења на домаћим и међународним научним скуповима (једно саопштења категорије M34 и два саопштења категорије M64).

Рад у међународном часопису изузетних вредности (M21a)

Stojanović, S. *, Ristović, M., Stepanović, J., Margetić, A., Duduk, B., Vujčić, Z., Dojnov, B. *Aspergillus welwitschiae* inulinase enzyme cocktails obtained on agro-material inducers for the purpose of fructooligosaccharides production, *Food Research International* 160, 111755 (2022). <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111755>

Рад у врхунском међународном часопису (M21):

Stojanović, S., Stepanović, J., Špirović Trifunović, B., Duduk, N., Dojnov, B., Duduk, B., Vujčić, Z. Selection of non-mycotoxigenic inulinase producers in the group of black aspergilli for use in food processing. *Food Technology and Biotechnology* 60 (4) (2022). <https://doi.org/10.17113/ftb.60.04.22.7521>

Саопштења са међународног скупа штампано у изводу (M34):

Stojanović S., Stepanović J., Margetić A., Duduk N., Dojnov B., Duduk B., Vujčić Z. "Production of fructooligosaccharides by *Aspergillus welwitschiae* inulinase enzyme complex, obtained on natural substrate". XXI EuroFoodChem Conference (2021), p. 172, ISBN 978-989-8124-34-0

Саопштење са скупа националног значаја штампано у изводу (M64):

Stojanović, S., Stepanović, J., Ristović, M., Dojnov, B., Božić, N., Duduk, B., Vujčić, Z.; "Exoinulinase gene expression in *Aspergillus welwitschiae* FAW1 induced by different

carbon source". XI Konferencija Biohemijskog društva Srbije (2022), p. 140, ISBN 978-86-7220-124-6 (FOC).

Stojanović, S., Vujčić, Z., Dojnov, B. "Sinteza fruktooligosaharida specifičnom inulinazom iz *Aspergillus awamori*". Četvrta konferencija Mladih hemičara Srbije, Srpsko Hemijsko društvo (2016), p.65, ISBN 978-86-7132-064-1

Д. Провера оригиналности докторске дисертације

Оригиналност ове докторске дисертације је проверена дана 12.04.2023. 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, којим је извршена провера оригиналности докторске дисертације утврђено је да количина подударана текста износи 12%. Овај степен подударности последица је библиографских података о коришћеној литератури, општих места и података, као и претходно публикованих резултата докторандових истраживања, који су проистекли из његове докторске дисертације, што је у складу са чланом 9. Правилника. На основу свега изложеног, а у складу са чланом 8. став 2. Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду, Комисија сматра да је докторска дисертација Сање Н. Стојановић оригинална, као и да су у потпуности поштована академска правила цитирања, те се прописани поступак припреме за њену одбрану може наставити.

Ђ. Закључак

На основу свега изложеног може се закључити да је у поднетој дисертацији под насловом „Производња и карактеризација ензима инулиназа *Aspergillus* spp. за добијање фруктоолигосахарида” кандидат, Сања Н. Стојановић, успешно одговорила на све постављене циљеве који се тичу производње, изоловања и карактеризације ензима инулиназа чија је употреба у добијању фруктоолигосахарида.

Резултати истраживања проистекли из ове докторске дисертације објављени су у оквиру два рада од којих је један штампан у међународном часопису изузетних вредности (M21a), један у врхунском међународном часопису (M21) и саопштени на једном међународном скупу и два скупа националног значаја. Још један део резултата је тренутно у припремној фази публикације у врхунском међународном часопису.

Комисија сматра да резултати објављени у оквиру ове дисертације представљају значајан научни допринос у продукцији и карактеризацији инулиназних ензима из гљива рода *Aspergillus*, као и научну и индустријску примену развијених тестова и метода за анализу одговарајућих произвођача ензима, ензима инулиназног комплекса и добијених фруктоолигосахарида. Поред тога, Комисија сматра да се ова дисертација уклапа у савремене трендове биохемије и биотехнологије дајући значајан допринос у продукцији и карактеризацији инулиназних ензима у циљу добијања фруктоолигосахарида.

На основу свега изложеног Комисија предлаже Наставно-научном већу Хемијског факултета Универзитета у Београду, да поднету докторску дисертацију Сање Н. Стојановић прихвати и одобри њену одбрану.

У Београду, 27.04.2023.

Комисија:

др Зоран Вујчић, редовни професор
Универзитет у Београду
Хемијски факултет

др Биљана Дојнов, виши научни сарадник
Универзитет у Београду
Институт за хемију, технологију и металургију
Центар за хемију

др Марија Гавровић Јанкуловић, редовни професор
Универзитет у Београду
Хемијски факултет

др Бојан Дудук, научни саветник
Институт за пестициде и заштиту животне средине, Земун, Београд