

НАСТАВНО – НАУЧНОМ ВЕЋУ

ХЕМИЈСКОГ ФАКУЛТЕТА

УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ

ПРЕДМЕТ: Извештај Комисије за оцену и одбрану докторске дисертације Николине Поповић Кокар, мастер биохемичара

На редовној седници Наставно – научног већа Хемијског факултета Универзитета у Београду, одржаној 14.10.2021. године, одређени смо за чланове Комисије за оцену и одбрану докторске дисертације кандидаткиње Николине Поповић Кокар, мастер биохемичара, истраживача-сарадника Хемијског факултета, Универзитета у Београду под називом:

“Употреба хидрогелова добијених модификацијом полисахарида фенолним једињењима за имобилизацију ћелија и биокатализатора”

Веће научних области природних наука Универзитета у Београду је на седници одржаној дана 26.12.2019. године на захтев Хемијског факултета (евиденциони број: 672/7 од 14.11.2019. године) дало сагласност на предлог теме докторске дисертације (евиденциони број 61206-3903/4-19).

Комисија је докторску дисертацију прегледала и Наставно – научног већу подноси следећи

ИЗВЕШТАЈ

А. Приказ садржаја дисертације

Докторска дисертација Николине Поповић Кокар написана је на 183 стране, А4 формата, фонт 12, проред 1,5 и садржи 74 слике, 4 шеме и 3 табеле. Докторска дисертација је подељена на 6 поглавља: Увод (3 стране), Теоријски део (48 страна), Материјал и методе (21 страна), Резултати и дискусија (61 страна), Закључци (5 страна), Литература (15 страна, 275 цитата). Поред наведеног дисертација садржи и Насловне стране на српском и енглеском језику, две стране са именима чланова комисије, Захвалницу (2 стране), Сажетак

на српском и енглеском језику (по 2 стране), Листу скраћеница (2 стране), Садржај (7 страна), Биографију кандидата (1 страна), Изјаву о ауторству (1 страна), Изјаву о истоветности (1 страна) и Изјаву о коришћењу (2 стране).

Увод садржи предмет истраживања и осврт на актуелна истраживања која су од значаја за ову докторску дисертацију. Описан је значај хидрогелова и њихова примена, са посебним акцентом на материјале од којих се добијају, као што су алгинат, пектин и карбоксиметилцелулоза. Такође је описан значај хидрогелова у ткивном инжењерингу и имобилизацији биокатализатора. Поред тога је описан ензим лаказа, њене карактеристике са посебним освртом на примену у биоремедијацији.

Теоријски део је подељен на пет целина. У целини *Хидрогелови*, говори се о структури хидрогелова, њиховој синтези, примени, као и о полисахаридима који могу да граде хидрогелове, где је већи осврт дат на алгинат, целулозу, пектин, њихове модификације и примену. У другој целини, *Имобилизација биокатализатора*, су објашњене основе биокатализе, технике имобилизације, као и матрикси за имобилизацију. Трећа целина, *Лаказе*, описује структурне и каталитичке особине овог ензима, као и могућности његове примене као слободног и имобилизованог ензима. У четвртој целини, *Текстилне боје као загађивачи животне средине*, говори се о употреби боја у текстилној индустрији, њиховој класификацији и методама за њихово уклањање из животне средине. Пета целина, *Експресија протеина на површини ћелија квасца*, описује начин експресије ензима на површини ћелија квасца и предности примене овог експресионог система.

Материјал и методе садрже детаљан опис опреме, реагенаса и узорака као и експерименталних метода и процедура коришћених у овој докторској дисертацији.

Резултати и дискусија приказују резултате добијене током израде ове докторске дисертације. Добијени резултати су детаљно приказани, прокоментарисани и подељени у петнаест целина. Прва целина приказује резултате добијене приликом експресије лаказе на површини ћелија квасца, а друга целина резултате добијене лизирањем ћелија квасца. У трећој целини су приказани резултати добијени модификацијом алгината допамином и карактеризација синтетисаних модификата. Четврта целина садржи резултате добијене након имобилизације ћелијских зидова са лаказом у алгинатним и допамин-алгинатним

куглицама, док су у петој целини приказани резултати њихове карактеризације. У шестој целини су приказани резултати производње лаказе у *E. coli* и њеног пречишћавања. Седма целина обухвата резултате модификације пектина допамином, као и карактеризације добијених модификата. У осмој целини су приказани резултати имобилизације пречишћене лаказе у допамин-пектин микрокуглицама, методом ензимске полимеризације у емулзији, а у деветој је дат упоредни приказ резултата карактеризације имобилизоване и неимобилизоване лаказе. У десетој целини су приказани резултати деколоризације текстилних боја лаказом имобилизованом у допамин-пектин микрокуглицама, као и ћелијских зидова са лаказом имобилизованих у допамин-алгинатним куглицама. У једанаестој целини су приказани резултати модификације алгината L-DOPA-ом и њихове карактеризације. У дванаестој целини су приказани резултати модификације карбоксиметилцелулозе тирамином, тирозином и допамином, а у тринаестој целини су приказани резултати испитивања њихове способности гелирања. Четрнаеста целина обухвата податке о електроспиновању допамин-алгината и допамин-карбоксиметилцелулозе, док су у петнаестој целини приказани резултати гајења ћелијске културе на добијеним нановлакнима.

Закључци обухватају кратак преглед најважнијих резултата, претходно приказаних у овој докторској дисертацији.

Литература обухвата списак радова са информацијама релевантним за све сегменте истраживања приказане у овој докторској дисертацији.

Б. Кратак приказ резултата

Током израде докторске дисертације оптимизоване су модификације полисахарида, са циљем побољшања њихових карактеристика и способности формирања хидрогелова. Алгинат, пектин и карбоксиметилцелулоза су првобитно перјодатно оксидовани, након чега је у реакцији редуктивне аминације за новостворену алдехидну групу везана аминокиселинска група фенолних једињења као што су: допамин, тирамин, тирозин и L-DOPA. Успешност модификација је потврђена UV-Vis, ¹H-NMR и FT-IR спектроскопијом. Испитана је способност гелирања модификованих полисахарида, у присуству ензима (лаказа и пероксидаза из рена), у присуству различитих катјона (калцијум, алуминијум и гвожђе) и у

присуству натријум-перјодата. Показало се да допамински деривати најефикасније формирају хидрогелове додатком базног раствора натријум-перјодата. Код тирамин-карбоксиметилцелулозе је поред катјонске и ензимска полимеризација била веома успешна, док код тирозин-карбоксиметилцелулозе није дошло до формирања хидрогела ензимском полимеризацијом. Лаказа пореклом из *Streptomyces cyaneus* је успешно експримирана на површини ћелије *Saccharomyces cerevisiae*. Добијене ћелије су показивале ензимску активност са АВТS-ом као супстратом, за разлику од ћелија претходно трансформисаних празним вектором. Да би се повећала ензимска активност ћелија са лаказом, извршена је лиза ћелија у присуству толуена. Добијени ћелијски зидови са везаном лаказом су показали 310 пута већу ензимску активност у односу на целе ћелије са лаказом. Урађена је њихова имобилизација у калцијум-алгинатним и допамин-алгинатним куглицама, при чему је код допаминског деривата извршено и додатно, ковалентно умрежавање, преко допамина у присуству лаказе. Доказано је да су ћелијски зидови са лаказом имобилизовани у допамин-алгинату имали 2 пута већу специфичну активност у односу на оне имобилизоване у нативном алгинату, због чега су коришћени у даљем раду. Имобилизовани ћелијски зидови са лаказом у допамин-алгинату су показали већу рН стабилност и температурну стабилност у односу на неимобилизоване. Након 1 сата инкубирања на температури од 60 °C, слободни ћелијски зидови са лаказом су задржали 69 % почетне активности, док су имобилизовани задржали чак 93 %. Овако имобилизовани ћелијски зидови су испитани за уклањање текстилних боја, а као најефикаснији су се показали за деколоризацију боја Amido Black 10В и Evans Blue, где је након 48 сати уклоњено $63,8 \pm 9,7$ % и $63,9 \pm 7,4$ % боја, наведеним редом. Примењен биокатализатор се није показао успешним за деколоризацију боје Methyl Green, док је за боје Reactive Black 5 (RB5) и Remazol Brilliant Blue (RBBR), степен деколоризације након 48 сати износио $58,2 \pm 5,8$ %, и $61,3 \pm 3,9$ %, наведеним редом. Испитана је могућност поновне употребе овог биокатализатора и након 10 циклуса деколоризације од по 48 сати је задржано 90 % почетне активности за деколоризацију боје Evans Blue, 61 % за Amido Black 10В и 33 % за Reactive Black 5. Лаказа из истог извора је произведена у *E. coli* и пречишћена, након чега је имобилизована у допамин-пектин микрокуглицама, методом ензимске полимеризације у емулзији. У припремљеној смеси је дошло до формирања микрокуглица умрежавањем допаминских крајева лаказом и истовременог заробљавања ензима унутар микрокуглица. Имобилизована лаказа је након

24 сата инкубације у оптималном пуферу, на собној температури, изгубила 15 % почетне активности, док је слободна лаказа изгубила око 65 % почетне активности. Имобилизацијом је значајно побољшана температурна стабилност ензима, па је тако након 1 сата на 60 °C слободан ензим изгубио 55 % почетне активности, а имобилизован задржао максималну активност. Неимобилизована и имобилизована лаказа у допамин-пектинским микрокуглицама су испитане за деколоризацију текстилних боја, и у оба случаја је била најефикаснија деколоризација боје Evans Blue, а нешто слабија деколоризација боја Amido Black 10 В и Reactive Black 5. Главна предност имобилизоване лаказе је могућност вишеструког коришћења. Микрокуглице са лаказом су коришћене у 10 узастопних циклуса деколоризације боја од по 48 сати, након којих су могле и даље да уклоне 60 % боје Amido Black 10В, 36 % боје Reactive Black 5 и 6 % боје Evans Blue. Синтетисани деривати, допамин-карбоксиметилцелулоза и допамин-алгинат су испитивани као материјали за производњу нановлакна, електроспининг методом. Оптимизовани су услови самог електроспининга и припреме узорка мешањем раствора полимера са растворима PEG-а, Triton-а X-100 и DMSO, да би се добила смеша која може да се извлачи у нити. Показана је боља способност електроспиновања деривата допаминских полисахарида, у односу на нативне. Повећање степена модификације је довело до скраћења полисахаридних ланаца, односно смањења молекулске масе полимера, па самим тим и до промене вискозитета и лакшег спиновања. Да би се нановлакна могла користити за потребе ткивног инжењеринга, потребно је између осталог да се не растварају у воденој средини, тј. у медијима за гајење ћелија. Због тога је неопходно извршити умрежавање нановлакна. Нановлакна су умрежавана јонима баријума, а након тога натријум-перјодатом, где долази до додатног ковалентног умрежавања допаминских крајева полимера. Нановлакна допамин-карбоксиметилцелулозе су показала мању механичку отпорност у односу на допамин-алгинатна нановлакна, због чега су одабрана за рад у наредним експериментима. Након умрежавања, на СЕМ-у је уочена јасна разлика у структури у односу ових у односу на неумрежена нановлакна. Умрежена нановлакна су такође показала нерастворљивост у воденој средини. Овако умрежена нановлакна су коришћена за култивацију ћелија фибробласта изолованих из плеуре плућа (MRC-5). Микроскопским снимцима је показано присуство ћелија на полимерним скелама са порама, што потврђује да је овај материјал има потенцијал да се користи као матрикс за гајење ћелија, јер својом наноструктуром имитира

ванћелијски матрикс. Цитотоксичност нановлакана је испитана стандардним МТТ тестом, при чему су ћелије након 24 сата показале повећану пролиферацију у односу на контролне ћелије, док је након 72 сата вијабилност почела благо да опада.

В. Упоредна анализа резултата кандидата са резултатима из литературе

У оквиру ове докторске дисертације кандидат је синтетисао различите фенолне деривате алгината, пектина и карбоксиметилцелулозе. Новосинтетисани допамин-алгинат и допамин-пектин су задржали карбоксилну групу, а уведена је фенолна и аминоксидна група, што представља нови принцип модификације у односу на претходно синтетисане допаминске деривате карбодиимидном методом. [1, 2] Главна предност овако синтетисаних фенолних деривата је могућност умрежавања полимера преко фенолне групе, а при том је задржана слободна карбоксилна група која омогућава додатно, јонско умрежавање. На овај начин су добијени додатно умрежени и стабилизовани хидрогелови, који имају значајну предност услед присуства позитивних и негативних група, које доводе до повећане способности адсорпције ензима, ћелија и малих молекула. [3] Допамински деривати пектина и алгината су искоришћени за имобилизацију ензима лаказе. Лаказа из *Streptomyces cyaneus* је експримирана на површини ћелија квасца *Saccharomyces cerevisiae*, а до сада је веома мали број студија пријавио производњу лаказе из било ког извора у квасцу. [4, 5] Показана је већа стабилност лаказе на површини ћелија квасца у односу на слободну лаказу, а додатна предност је и могућност њеног коришћења у процесима који захтевају вишекратну употребу. [4] У овој дисертацији су лизирани ћелије квасца са лаказом, што је довело до значајног пораста ензимске активности лаказе, и до сада није испитано за овај ензим. Ћелијски зидови са лаказом су имобилизовани у допамин-алгинатним куглицама, са максималном ефикасношћу имобилизације услед спреченог цурења ензима због ковалентног везивања за ћелијске зидове, што представља велику предност у односу на нековалентну имобилизацију ензима. Имобилизовани ћелијски зидови са лаказом су показали повећану рН и температурну стабилност у односу на неимобилизоване ћелијске зидове са лаказом. Ова појава је у претходним студијама показана као главна предност имобилизације ензима, где је спречено кретање ензима са повећањем температуре и кинетичке енергије, па се самим тим смањује могућност конформационих промена које доводе до губитка ензимске активности. [6] Лаказа из *Streptomyces cyaneus* је произведена у *E. coli* и након

пречишћавања је показала 2,7 пута већу активност у односу на претходну студију. [7] Добијена лаказа је имобилизована у допамин-пектинским микрокуглицама, методом ензимске полимеризације у емулзији, где је умреживач била сама лаказа. Лаказа катализује радикалске реакције које доводе до ковалентног умрежавања фенолних субјединица, што доводи до заробљава ензима унутар микрокуглице. Овако имобилизована лаказа је показала значајно бољу температурну стабилност у односу на лаказу из истог извора имобилизовану у агарозним куглицама са умреженим ензимским агрегатима. [7] За уклањање различитих текстилних боја до сада су испитиване лаказе из различитих извора. У овој дисертацији се деколоризација боја имобилизованим ћелијским зидовима са лаказом у допамин-алгинатним куглицама показала најефикаснијом за боје Amido Black 10B и Evans Blue, а нешто мање ефикасном за боје Reactive Black 5 (RB5) и Remazol Brilliant Blue (RBBR). Допамин-пектинске микрокуглице са лаказом су се показале најефикаснијим за деколоризацију Evans Blue, док је мања ефикасност уочена за боје Amido Black 10 B и Reactive Black 5. За деколоризацију боје RB5 је претходно тестирана лаказа из *M. thermophile* имобилизована на Сера-куглицама ЕС-ЕР3, која у одсуству редокс медијатора није показивала способност деколоризације, а у његовом присуству је достигала и 60 % деколоризације. [8] Овим је показано да је у случају деколоризације ове боје неопходан редокс медијатор, због стерних сметњи и отежаног приступа $-NH_2$ и $-OH$ групама, које напада лаказа. Међутим, у другој студији је показано да лаказа из *Trametes villosa* успешно деколоризује ову боју без присуства редокс медијатора [9], што је накнадно потврђено у још једној студији и доказано да редокс потенцијал лаказе зависи од порекла саме лаказе, што објашњава постојање опречних резултата у случају деколоризације RB5 боје. [10] Највећа ефикасност лаказе за деколоризацију боје Evans Blue је показана у резултатима ове дисертације, али и у другим студијама, где је утврђено да присуство две хидроксилне групе фаворизује оксидацију ове боје. [11] Лаказа имобилизована на оба начина се показала веома успешном за вишеструке циклусе деградације боја, што је значајно са аспекта индустријске примене и могућности одвајања биокатализатора од остатка реакционе смеше, а затим и његове поновне употребе. Добијени модификати полисахарида су се такође показали успешним за формирање нановлакна електроспининг методом. Уочена је боља способност електроспиновања у односу на нативне полисахариде, што се објашњава претходно описаним појавама смањења молекулске масе услед повећаног степена оксидације

хидроксилних група полисахарида, као и ометања интер- и интрамолекуларних водоничних веза између карбоксилних и хидроксилних група алгината, одговорних за његову крутост и отежано спиновање. [12] Припремљена нановлакна су првобитно умрежавана двовалентним катјонима, међутим како су се оваква влакна показала неотпорним на растворе соли и хелирајућих агенаса присутних у медијумима за гајење ћелија у култури, урађено је додатно ковалентно умрежавање, које се показало као успешан метод у претходним студијама. [13] У овој дисертацији ковалентно умрежавање је урађено натријум-перјодатом, који се показао као поуздан метод за умрежавање катехолских деривата. [14] До сада су као ковалентни умреживачи коришћени агенси као што су епихлорхидрин и глутаралдехид [13], чији агресивнији услови примене могу да доведу до потенцијалних оштећења нановлакна, што додатно указује на предност коришћења перјодата као умреживача нановлакна. Култивација ћелија на допамин-алгинатним нановлакнима је успешно урађена. У претходним студијама је показана предност коришћења модификованог алгината у односу на нативан алгинат за ткивни инжењеринг, услед боље способности адхезије ћелија модификованог алгината. [15]

Литература:

1. Wang, X., et al., *Dopamine-Modified Alginate Beads Reinforced by Cross-Linking via Titanium Coordination or Self-Polymerization and Its Application in Enzyme Immobilization*. Industrial & Engineering Chemistry Research, 2013. **52**: p. 14828–14836.
2. Diao, J., et al., *Engineering of pectin-dopamine nano-conjugates for carrying ruthenium complex: A potential tool for biomedical applications*. J Inorg Biochem, 2019. **191**: p. 135-142.
3. Prokopiјević, M., et al., *Tyramine-modified pectins via periodate oxidation for soybean hull peroxidase induced hydrogel formation and immobilization*. Vol. 101. 2016.
4. Bertrand, B., et al., *Functional expression, production, and biochemical characterization of a laccase using yeast surface display technology*. Fungal Biol, 2016. **120**(12): p. 1609-1622.
5. Chen, Y., et al., *Cell Surface Display Fungal Laccase as a Renewable Biocatalyst for Degradation of Persistent Micropollutants Bisphenol A and Sulfamethoxazole*. Environmental Science & Technology, 2016. **50**(16): p. 8799-8808.
6. Bagewadi, Z.K., S.I. Mulla, and H.Z. Ninnekar, *Purification and immobilization of laccase from Trichoderma harzianum strain HZN10 and its application in dye decolorization*. Journal of Genetic Engineering and Biotechnology, 2017. **15**(1): p. 139-150.
7. Ece, S., et al., *Heterologous expression of a Streptomyces cyaneus laccase for biomass modification applications*. AMB Express, 2017. **7**(1): p. 86-86.
8. Kunamneni, A., et al., *Decolorization of synthetic dyes by laccase immobilized on epoxy-activated carriers*. Process Biochemistry, 2008. **43**(2): p. 169-178.

9. Zille, A., et al., *Immobilized laccase for decolourization of Reactive Black 5 dyeing effluent*. Biotechnol Lett, 2003. **25**(17): p. 1473-7.
10. Li, K., F. Xu, and K.E. Eriksson, *Comparison of fungal laccases and redox mediators in oxidation of a nonphenolic lignin model compound*. Applied and environmental microbiology, 1999. **65**(6): p. 2654-2660.
11. Pardo, I., et al., *New colorimetric screening assays for the directed evolution of fungal laccases to improve the conversion of plant biomass*. BMC biotechnology, 2013. **13**: p. 90-90.
12. Taemeh, M.A., et al., *Fabrication challenges and trends in biomedical applications of alginate electrospun nanofibers*. Carbohydrate Polymers, 2020. **228**: p. 115419.
13. Bhattarai, N. and M. Zhang, *Controlled synthesis and structural stability of alginate-based nanofibers*. Nanotechnology, 2007. **18**(45): p. 455601.
14. Zhou, D., et al., *Dopamine-Modified Hyaluronic Acid Hydrogel Adhesives with Fast-Forming and High Tissue Adhesion*. ACS Appl Mater Interfaces, 2020. **12**(16): p. 18225-18234.
15. Jeong, S.I., et al., *Electrospun Alginate Nanofibers with Controlled Cell Adhesion for Tissue Engineering*. 2010. **10**(8): p. 934-943.

Г. Објављени радови и саопштења који чине део докторске дисертације

Из резултата ове докторске дисертације проистекла су два научна рада од којих је један публикован у међународном часопису изузетних вредности (категорија M21a), а други је публикован у врхунском међународном часопису (категорија M21), као и три саопштења са међународних скупова штампана у изводу (категорија M34).

1. Објављени радови

Међународни часопис изузетних вредности (M21a)

Popović N, Pržulj D, Mladenović M, Prodanović O, Ece S, Ilić Đurđić K, Ostafe R, Fischer R, Prodanović R. Immobilization of yeast cell walls with surface displayed laccase from *Streptomyces cyaneus* within dopamine-alginate beads for dye decolorization. *Int J Biol Macromol.* (2021) ;181:1072-1080., PMID: 33892032.

[10.1016/j.ijbiomac.2021.04.115](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.04.115)

ИФ: 6,737 (2020)

Поље истраживања: Наука о полимерима, 6/88 (2020) ISSN: 0141-8130 и Примењена хемија 9/74 (2020) ISSN: 0141-8130

Врхунски међународни часописи (M21)

Popović N., Stanišić M., Ilić Đurđić K., Prodanović O., Polović N., Prodanović R. Dopamine-modified pectin for a *Streptomyces cyaneus* laccase induced microbeads formation, immobilization, and textile dyes decolorization. *Environmental Technology & Innovation*, (2021) 22. 101399.

<https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.101399>

ИФ: 5,116 (2020)

Поље истраживања: Науке у животној средини 75/274 (2020) ISSN: 2352-1864

2. Саопштења са међународних скупова штампана у изводима (M34)

Popović N., Prodanović O., Gađanski I., Cvetković D., Živanović M., Pavlović V., Filipović N., Prodanović R., Modification of carboxymethylcellulose with phenols for peroxidase induced hydrogels formation and electrospinning, The Annual International Conference Romanian Society for Biochemistry & Molecular Biology, New Frontiers In Chemistry, Vol. 26, No. 2, ISSN: 1224-9513, 8.-9. Jun, 2017.

Popović N., Prodanović O., Gađanski I., Cvetković D., Živanović M., Pavlović V., Filipović N., Prodanović R., Modification of polysaccharides with phenols for hydrogels formation and electrospinning, 4th South-East European Conference on Computational Mechanics, ISBN: 978-86-921243-0-3, Kragujevac, Serbia, 3-4. Jul, 2017.

Popović N., Mladenović M., Prodanović R., Decolorization of dyes by alginate immobilized cell walls of *Saccharomyces Cerevisiae* with laccase from *Streptomyces cyaneus*, FEBS3+ conference „From molecule to living system“, ISBN: 978-615-5270-47-5, Siofok, Hungary, 2-5. Septembar, 2018.

Поред наведених публикација и саопштења који су проистекли из ове дисертације, кандидат је коаутор на још два научна рада из категорије M21, једног научног рада из категорије M22, једног научног рада из категорије M23, једног научног рада из категорије M24, једног саопштења на скупу међународног значаја штампаног у целини (M33) и једног саопштења на скупу од међународног значаја (M34).

Д. Провера оригиналности докторске дисертације

Услед тренутне немогућности обављања поступка провере оригиналности докторских дисертација због проблема набавке софтвера, оригиналност докторске дисертације Николине Поповић Кокар није проверена употребом програма iThenticate 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.) Докторска дисертација је послата на проверу оригиналности и извештај о провери ће бити накнадно дат, у складу са дописом из Ректората Универзитета у Београду (допис од 27.09.2021. године, евиденциони број: 612-3844/1-21).

Ђ. Закључак

На основу приказаних података и резултата, Комисија је закључила да је у поднетој дисертацији под називом **“Употреба хидрогелова добијених модификацијом полисахарида фенолним једињењима за имобилизацију ћелија и биокатализатора”**, кандидат Николина Поповић Кокар успешно одговорила на задате циљеве у оквиру којих је хемијски модификовала алгинат, пектин и карбоксиметилцелулозу различитим фенолним једињењима (допамин, тирамин, тирозин, L-DOPA) и потврдила успешност модификација употребом структурних инструменталних метода. Испитала је способност грађења хидрогелова добијених модификата, који су даље коришћени за имобилизацију у микрокулицама пречишћене лаказе добијене из *E. coli*, што је довело до повећања стабилности лаказе, као и могућности вишеструке употребе у већем броју циклуса деградације текстилних боја. Такође, кандидат је урадио имобилизацију ћелијских зидова квасца који за себе имају везан ензим лаказу у алгинатним и допамин-алгинатним куглицама, користећи умрежавање ензимским и хемијским путем. Ћелијски зидови са лаказом имобилизовани у допамин-алгинатним куглицама су показали већу ензимску активност у односу на оне имобилизоване у алгинатним куглицама, а такође су се показали успешним за деградацију текстилних боја током више циклуса. Добијени полисахаридни деривати су показали и повећану способност електроспиновања и грађења нановлакна, која су успешно умрежена и употребљена за гајење културе ћелија. Резултати научно – истраживачког рада кандидата постигнути у оквиру ове докторске дисертације су објављени у два научна рада, један у међународном часопису изузетних вредности (категорија M21a) и један у врхунском међународном часопису (категорија M21), а такође

приказани и саопштени на три међународна скупа (категорија М34). На основу изложеног Комисија предлаже Наставно – научном већу Хемијског факултета Универзитета у Београду, да поднету докторску дисертацију Николине Поповић Кокар под насловом „Употреба хидрогелова добијених модификацијом полисахарида фенолним једињењима за имобилизацију ћелија и биокатализатора” прихвати и одобри њену одбрану за стицање академског звања доктора биохемијских наука.

Београд, 18.10.2021.

Комисија:

др Марија Гавровић-Јанкуловић

редовни професор, Универзитет у Београду-Хемијски факултет

др Наталија Половић

ванредни професор, Универзитет у Београду-Хемијски факултет

др Оливера Продановић

научни сарадник, Институт за мултидисциплинарна истраживања, Универзитет у Београду