



**ŠESTI NAUČNO-STRUČNI
SKUP POLITEHNIKA**

ZBORNİK RADOVA



Beograd, 10. decembar 2021. godine



3D REPUBLIKA
POSTANI DRŽAVLJANIN

HEIDELBERG  **Smurfit Kappa**





ŠESTI NAUČNO-STRUČNI SKUP
POLITEHNIKA

ZBORNİK RADOVA

Izdavač

Akademija tehničkih strukovnih studija Beograd
Katarine Ambrozić 3, Beograd
www.atssb.rs

Za izdavača

dr Marina Stamenović, profesor strukovnih studija

Urednici sekcija

dr Ivana Matić Bujagić

dr Svetozar Sofijanić

dr Sanja Petronić

dr Željko Ranković

dr Kovička Banjević

dr Vladanka Stupar

mr Jelena Zdravković

dr Nenad Đorđević

Tehnička priprema i dizajn korica

ATSSB — Odsek Beogradska politehnika

Dizajn znaka Skupa

Dušan Borović



ŠESTI NAUČNO-STRUČNI SKUP
POLITEHNIKA

ZBORNIK RADOVA

ŽIVOTNA SREDINA I ODRŽIVI RAZVOJ
BEZBEDNOST I ZDRAVLJE NA RADU
MAŠINSKO INŽENJERSTVO
SAOBRAĆAJNO INŽENJERSTVO
MENADŽMENT KVALITETOM
BIOTEHNOLOGIJA
DIZAJN
GRAFIČKO INŽENJERSTVO

Beograd, 2021. godine

Skup su podržali:

Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije

Ministarstvo zaštite životne sredine Republike Srbije

Konferencija akademija i visokih škola Srbije

Uprava za bezbednost i zdravlje na radu

Privredna komora Srbije

Društvo arhitekata Beograda

Institut za standardizaciju Srbije

Centar za promociju nauke

PROGRAMSKI ODBOR:

prof. dr Vojkan Lučanin, Univerzitet u Beogradu, Mašinski fakultet, Beograd, predsednik
prof. dr Slaviša Putić, Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet, Beograd
prof. dr Aleksandar Petrović, Univerzitet u Beogradu, Mašinski fakultet, Beograd
prof. dr Aleksandar Jovović, Univerzitet u Beogradu, Mašinski fakultet, Beograd
prof. dr Aleksandar Marinković, Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet, Beograd
prof. dr Bojan Babić, Univerzitet u Beogradu, Mašinski fakultet, Beograd
prof. dr Evica Stojiljković, Univerzitet u Nišu, Fakultet Zaštite na radu, Niš
prof. dr Momir Praščević, Univerzitet u Nišu, Fakultet Zaštite na radu, Niš
prof. dr Elizabeta Bahtovska, Univerzitet St. Kliment Ohridski, Tehnički fakultet, Bitolj, Makedonija
vanr. prof. dr Darko Radosavljević, Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet, Beograd
vanr. prof. dr Saša Drmanić, Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet, Beograd
vanr. prof. dr Zoran Štirbanović, Univerzitet u Beogradu, Tehnički fakultet, Bor
vanr. prof. mr Marko Luković, Univerzitet umetnosti u Beogradu, Fakultet primenjenih umetnosti, Beograd
doc. dr Filip Kokalj, Univerzitet u Mariboru, Mašinski fakultet, Maribor, Slovenija
doc. dr Katarina Trivunac, Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet, Beograd
doc. dr Maja Đolić, Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet, Beograd
doc. dr Vladimir Pavićević, Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet, Beograd
doc. dr Nevena Prlainović, Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet, Beograd
dr Jelena Ivanović Vojvodić, Društvo arhitekata Beograda-BINA, Beograd
mr Bojana Popović, Muzej primenjene umetnosti, Beograd
dr Marina Stamenović, Akademija tehničkih strukovnih studija Beograd, Beograd
dr Predrag Maksić, Akademija tehničkih strukovnih studija Beograd, Beograd
dr Milan Milutinović, Akademija tehničkih strukovnih studija Beograd, Beograd
dr Dejan Blagojević, Akademija tehničko-vaspitačkih strukovnih studija, Niš
dr Vladan Đulaković, Akademija tehničkih strukovnih studija Beograd, Beograd
dr Goran Zajić, Akademija tehničko-umetničkih strukovnih studija Beograd, Beograd
dr Darko Ljubić, McMaster University, Hamilton, Kanada

ORGANIZACIONI ODBOR:

dr Aleksandra Božić, predsednik
dr Jelena Drobač, zamenik predsednika
dr Sanja Petronić
dr Dragana Gardašević
dr Dragana Kuprešanin
Novak Milošević
Natalija Jovanović
Radomir Izgarević
Aleksandra Jelić
Aleksandra Janićijević

RECENZENTI

dr Goran Đorđević, dr Daniela Ristić, dr Marta Trninić, dr Svetozar Sofijanić,
dr Barbara Vidaković Ristić, Novak Milošević, Nebojša Ćurčić, dr Milivoje Milovanović,
dr Vladan Đulaković, dr Slavica Čabrilo, dr Ljiljana Jovanović Panić, dr Miloš Purić,
dr Višnja Sikimić, dr Olivera Jovanović, dr Tatjana Marinković, dr Ana Popović,
mr Vesna Alivojvodić, dr Ivana Matić Bujagić, dr Aleksandra Božić, dr Koviljka Banjević,
dr Dejan Milenković, dr Darko Radosavljević, dr Darja Žarković, dr Dominik Brkić,
Aleksandra Jelić, dr Dejan Jovanov, mr Vladan Radivojević, dr Biljana Ranković Plazinić,
dr Željko Ranković, dr Bogdan Marković, dr Boban Đorović, dr Dragana Velimirović,
Aleksandra Janićijević, dr Natalija Simeonović, Sandra DePalo, mr Jelena Zdravković,
dr Aleksandra Nastasić, dr Saša Marković, dr Saša Marković, dr Dragana Gardašević,
dr Nedžad Rudonja, dr Nikola Tanasić, dr Zoran Stević, dr Suzana Polić, dr Sanja Petronić,
dr Đorđe Đurđević, dr Andrijana Đurđević, dr Aleksandra Mitrović, Tomislav Simonović,
dr Bojan Ivljanin

PREDGOVOR

Šesti naučno-stručni skup POLITEHNIKA, tačno deceniju od održavanja prvog Skupa, nastavlja uspešnu tradiciju i težnju ka integraciji visokog obrazovanja i prakse u širokom spektru oblasti koje su zastupljene kroz definisane tematske celine. Naučno-stručni skup POLITEHNIKA organizovan je uz podršku Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije, Ministarstva zaštite životne sredine Republike Srbije, Konferencije akademija strukovnih studija Srbije, Uprave za bezbednost i zdravlje na radu, Privredne komore Srbije, Društva arhitekata Beograda, Instituta za standardizaciju Srbije i Centra za promociju nauke.

Ove godine napravljen je značajan iskorak uvođenjem tri nove sekcije. Pored tematskih oblasti koje su bile zastupljene na prethodnim skupovima (Životna sredina i održivi razvoj, Bezbednost i zdravlje na radu, Grafičko inženjerstvo, Dizajn i Menadžment kvalitetom), baza znanja i iskustava koja je prezentovana u Zborniku radova i na samom Skupu je proširena sekcijama Mašinsko inženjerstvo, Saobraćajno inženjerstvo i Biotehnologija. Učešćem stručnjaka, mladih kolega i profesionalaca iz pomenutih oblasti, Skup objedinjava oblasti koje se izučavaju na studijskim programima Akademije tehničkih strukovnih studija Beograd. Tematske celine, kao i struktura radova sabranih u ovom Zborniku, raznovrsne su i multidisciplinarne, čime se suštinski doprinosi sveobuhvatnom sagledavanju i rešavanju društvenih i naučnih problema.

Zbornik obuhvata preko 150 pozitivno recenziranih radova, koji predstavljaju značajan kapital u kontekstu cilja Skupa da se ostvari razmena znanja, rezultata istraživanja i iskustva stručnjaka iz privrede, istraživačkih institucija i visokoškolskih ustanova koji dele zajednički interes u oblasti obrazovanja, naučnog, umetničkog i stručnog rada. Zbornikom radova Šestog naučno-stručnog Skupa POLITEHNIKA obuhvaćen je presek aktuelnog stanja u tematskim oblastima Skupa, ali i predlozi i smernice za dalji naučni i stručni razvoj, kao i konkretna rešenja za probleme iz prakse, zasnovana na savremenim tendencijama i relevantnim saznanjima.

Akademija tehničkih strukovnih studija Beograd se zahvaljuje svim prijateljima Skupa koji su pružili materijalnu podršku i na taj način dali veliki doprinos u njegovoj organizaciji. Takođe, posebnu zahvalnost treba izraziti autorima radova na trudu i želji da prikažu svoje radove široj javnosti, kao i recenzentima, članovima Programskog i Organizacionog odbora na posvećenosti i požrtvovanosti koja je kao rezultat imala uspešnu organizaciju Šestog naučno-stručnog skupa POLITEHNIKA.

Beograd, decembar 2021. godine

UREDNICI



IMOBILIZACIJA CELULAZA NA POLIMETAKRILATNE NOSAČE

Nataša Knežević¹, Tehnološko-metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu
Dejan Bezbradica², Tehnološko-metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu
Mladen Bugarčić³, Institut za tehnologiju nuklearnih i drugih mineralnih sirovina, Beograd
Aleksandar Jovanović⁴, Tehnološko-metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu
Jovana Bošnjaković⁵, Istraživačko razvojni institut LOLA, Beograd
Aleksandar Marinković⁶, Tehnološko-metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu

Apstrakt: Celulaze su vrlo značajna grupa industrijskih enzima koja se primenjuje u industriji hrane, tekstilnoj industriji, proizvodnji papira i deterdženata. U novije vreme mnogobrojna istraživanja su fokusirana na izolovanje novih celulaza iz mikrobnih procesa i optimizaciju njihove primene u razgradnji lignocelulozne frakcije biljne biomase. Posle tretmana ovih sirovina celulazama povećava se njihova svarljivost i fermentabilnost što ih čini pogodnijim za primenu u proizvodnji hrane za životinje. U ovom radu ispitana je imobilizacija celulaze iz *Aspergillus niger* na novu seriju biokompatibilnih polimetakrilatnih nosača za primenu u prehrambenoj i farmaceutskoj industriji. Primljeni su nosači sa različitim funkcionalnim grupama i različitim dužinama akrilnih lanaca koji ih povezuju sa površinom nosača. Najefikasnija imobilizacija celulaze se postigla primenom umereno poroznog nosača sa amino-grupama - LifetechTM ECR8409F. Nakon izbora nosača, optimizovani su uslovi imobilizacije. Utvrđeno je da se pri pH 6 i početnoj koncentraciji proteina od 23,3 mg/g nosača i 28 mg/g nosača dobija imobilisani enzimski preparat najveće aktivnosti (400 IU/g nosača i 450 IU/g nosača). Imobilisana i slobodna celulaza primenjene su na hidrolizu lignocelulozne frakcije suncokretove sačme pri čemu su hidrolizati analizirani tečnom hromatografijom visokih performansi sa kolonom (Hyper REZ XP Carbohydrate Ca²⁺) za razdvajanje šećera. Detektovane su niže koncentracije redukujućih šećera sa imobilisanim enzimom.

Cljučne reči: celulaza, imobilizacija, polimetakrilatni nosači, suncokretova sačma, biotehnologija

IMMOBILIZATION OF CELLULASE ON POLYMETHACRYLATE SUPPORTS

Abstract: Cellulases are a very important group of industrial enzymes used in the food and textile industry, the production of paper and detergents. Recently, numerous studies are focused on the isolation of new cellulases from microbial producers and optimizing their usage in the degradation of the lignocellulosic fraction of plant biomass. In this study, the immobilization of cellulase from *Aspergillus niger* on a new series of biocompatible polymethacrylate carriers for usage in the food and pharmaceutical industries was reviewed. Carriers with different functional groups and different lengths of acrylic chains were used to study the effectiveness of cellulase immobilization. The most effective immobilization of cellulase was achieved by using a moderately porous carrier with amino groups - LifetechTM ECR8409F. It was found that the immobilized enzyme with the largest activity of 400 IU/g and 450 IU/g of carriers was obtained at pH 6 and the initial protein concentration of

¹natasaknezevic94@gmail.com

²dbez@tmf.bg.ac.rs

³migognr@gmail.com

⁴aleksandarjovanovic.tmf@gmail.com

⁵jovana.bosnjakovic@li.rs

⁶marinko@tmf.bg.ac.rs

23.3 mg/g and 28 mg/g of the carrier. Immobilized and free cellulase were used in the hydrolysis of the lignocellulosic fraction of the sunflower meal. The hydrolyzates were analysed using HPLC with the column effective (Hyper REZ XP Carbohydrate Ca^{2+}) for the separation of sugar. Lower concentrations of reducing sugars with immobilized enzymes were detected.

Keywords: cellulases, aspergillus niger, immobilization, polymethacrylate carriers, sunflower meal, biotechnology

1. UVOD

Enzimi su biohemijski katalizatori, najčešće proteini velike molekulske mase, koji ubrzavaju hemijsku reakciju pri čemu sami ne trpe bilo kakve promene. Predstavljaju izvanredne molekule za upotrebu u bioprocenoj tehnologiji. Međutim, za određene biokatalitičke procese, prirodni enzimi ne zadovoljavaju zahteve za primenu velikih razmera, pa zbog toga njihova prirodna svojstva moraju biti modifikovana. Imobilisani enzimi omogućavaju veću stabilnost, osetljivost i katalitičku aktivnost nego slobodni enzimi. Među različitim grupama enzima, celulaze su važne jer imaju širok spektar primene u različitim industrijama, kao što su industrija hrane, tekstila i biogoriva. Industrijska primena slobodnih celulaza je ograničena jer su relativno nestabilne i ne mogu se efikasno koristiti u više reakcionih ciklusa, imaju nisku specifičnu aktivnost, kao i dodatne troškove [1]. Osnovni cilj ovog rada je da se izborom adekvatnog nosača i uslova imobilizacije dobije imobilisani enzimski preparat koji će imati zadovoljavajuću katalitičku aktivnost, operativnu i termičku stabilnost. Vredan industrijski enzim - celulaza iz *Aspergillus niger* biće imobilisan na polimerne čvrste nosače iz Lifetech serije i primenjen u reakciji hidrolize lignocelulozne frakcije suncokretove sačme, kao važnog potencijalnog obnovljivog izvora energije.

2. EKSPERIMENTALNI DEO

2.1. Imobilizacija celulaze

Imobilizacija enzima izvođena je na sobnoj temperaturi, u ependorfima zapremine 2 mL, uz mešanje, na sledeći način: odmeravana je masa od 25 ili 50 mg nosača, nakon čega je dodavano 0,5 ili 1 mL rastvora enzima definisane koncentracije (1,4 - 23,3 mg/g nosača) u 0,05 M Na-fosfatnom puferu pH 6. Potom je supernatant odvajan od čestica nosača i korišćen u cilju analiziranja sadržaja proteina, dok su čestice sa imobilisanim enzimom tri puta ispirane sa po 0,5 ili 1 mL destilovane vode. Nakon toga, aktivnost imobilisanog enzima određivana je na 50°C uz mešanje, korišćenjem 2% rastvora karboksi metil celuloze u citratnom puferu (50 mM, pH 4,8) kao supstrata, pri čemu je sadržaj oslobođenih redukujućih šećera određivan DNS metodom. U cilju dobijanja imobilisanog enzimskog preparata najboljih karakteristika, optimizovani su sledeći parametri: pH imobilizacije, koncentracija unetih proteina i vreme imobilizacije. Prilikom ispitivanja uticaja pH, imobilizacija je izvođena u 50 mM Na-citratnom puferu (pH 3, 4 i 4,8) i 50 mM Na-fosfatnom puferu (pH 6 i 7).

2.2. DNS metoda

Ova metoda se koristi za određivanje koncentracije redukujućih šećera u uzorku. Utvrđivanje koncentracije redukujućih šećera se uvek izvodi u alkalnoj sredini, tako da svi monosaharidi (aldoze i ketoze) predstavljaju redukujuće šećere, jer ketoze u baznim rastvorima izomerizuju u forme koje sadrže aldehidnu grupu. DNS metoda se zasniva na reakciji koja se odigrava između redukujućih šećera i 3,5-dinitrosalicilne kiseline, pri čemu dolazi do redukovanja nitro-grupe na trećem C-atomu do amino-grupe i oksidovanja aldehidne grupe šećera do karboksilne. Kao proizvod se dobijaju oksidovani šećer i 3-amino-5-nitrosalicilna kiselina, jedinjenje crvene boje koje ima apsorbcioni maksimum na 540 nm. DNS reagens se dobija tako što se 16 g NaOH i 10 g dinitrosalicilne kiseline rastvori u 300 mL vode, a 300 g K, Na-tartarata u 200 mL vode. Posle rastvaranja, rastvori se pomešaju i razblaže vodom do 1 L [2].

2.3. Bradfordova metoda

Za određivanje proteina metodom po Bradfordu, koncentrovana boja je pripremljena tako što je 100 mg Coomassie brilliant blue G-250 (CBB G-250) rastvoreno u 50 mL 95% etanola, a zatim je dodato 100 mL fosforne kiseline i voda do ukupne zapremine od 200 mL. Metoda se bazira na reakciji proteina sa CBB u kiseloj sredini pri čemu dolazi do vezanja anjonske boje za NH_3 delove proteina. CBB reaguje prvenstveno sa bočnim grupama Arg, a u manjoj meri i sa bočnim grupama His, Lys, Tyr, Trp i Phe. Boja se na proteine veže hidrofobnim interakcijama i jonskim vezama što stabilizuje boju u anjonskom obliku i dovodi do vidljive promene boje iz smeđe u plavu. Pri tome se apsorpcijski maksimum boje pomera sa 470 nm na 595 nm što se prati spektrofotometrijski.

2.4. Određivanje aktivnosti imobilisanog enzima

Aktivnost imobilisane celulaze određivana je pod prethodno optimizovanim uslovima (50°C; pH 4,8), inkubiranjem određene mase imobilisanog enzima (25 ili 50 mg) i 2 mL rastvora supstrata (2% karboksi metil celuloze) uz mešanje. U određenim vremenskim intervalima (1h, 2h, 3h, 4h, 5h, 24h), uzorkovano je 50-125 μL uzorka u prethodno pripremljeni rastvor DNS reagensa (250 μL). Iz nagiba početnih (linearnih) delova krivih koje prikazuju zavisnost apsorbance od vremena, izračunavana je aktivnost imobilisanog enzimskog preparata (IU/g nosača) na sledeći način:

$$Akt(IU/g) = \frac{dA/dt \cdot V_{sm} \cdot R}{0.12 \cdot m_{nosača}} \quad [3]$$

gde je dA/dt nagib lineranog dela krive koja predstavlja promenu apsorbance uzorka nakon DNS metode na 540 nm u toku vremena (min), V_{sm} (mL) zapremina reakcione smeše, R razblaženje uzorka i $m_{nosača}$ (g) masa nosača u reakcionoj smeši. Specifična aktivnost (IU/mg vezanih proteina) određivana je korišćenjem podatka za aktivnost (IU/g nosača) i masu vezanih proteina (mg/g nosača):

$$Specifična\ aktivnost\ (IU/mg\ proteina) = \frac{Akt}{c\ imobilisanih\ proteina} \quad [4]$$

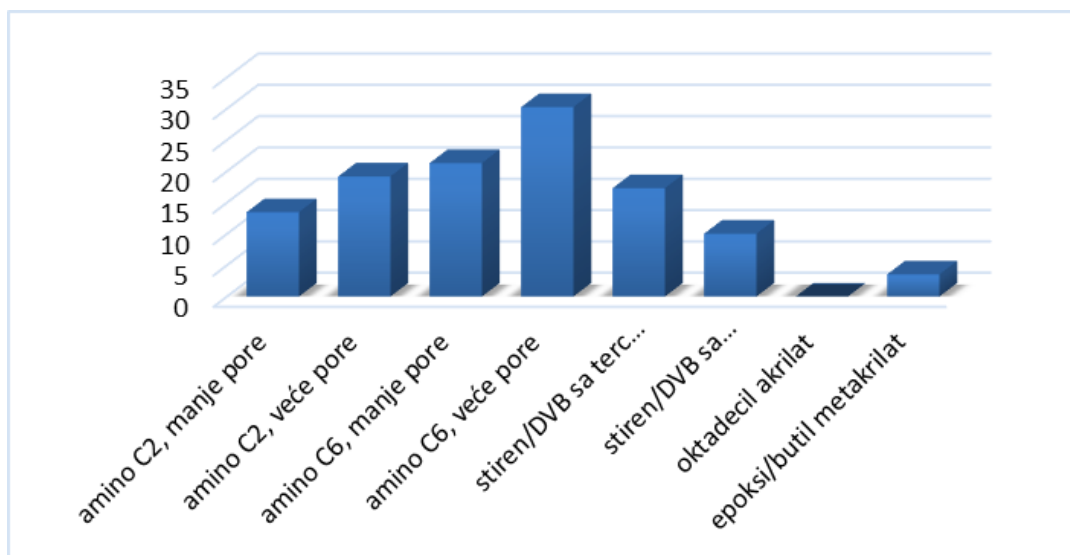
2.5. Hidroliza lignocelulozne frakcije suncokretove sačme

Mešanjem 50 g suncokretove sačme i 500 mL destilovane vode dobijene su tri frakcije: čvrsti talog na dnu, tečna frakcija i lignocelulozna frakcija na površini. Lignocelulozna frakcija je odvojena, osušena i usitnjena. Tako dobijeni materijal korišćen je kao supstrat u reakciji hidrolize katalizovanoj slobodnom i imobilisanom celulazom. Reakciona smeša bila je sastavljena od 1 g supstrata i 10 mL pufera (50 mM citratni pufer pH 4,8), a reakcija je izvođena na 50°C uz mešanje.

3. REZULTATI I DISKUSIJA

3.1. Izbor optimalnog nosača za imobilizaciju enzima

U okviru ovog rada za imobilizaciju celulaze iz *A. niger* korišćena su četiri metakrilatna nosača sa primarnim amino-grupama koji se razlikuju po veličini pora i dužini „nožice” (C2 i C6), zatim dva nosača na bazi kopolimera divinilbenzena i stirena (jedan sa tercijarnim, a drugi sa kvaternarnim amino-grupama), hidrofoban metakrilatni nosač sa oktadecil grupama i nosač koji predstavlja epoksi/butil metakrilat namenjen kovalentnoj imobilizaciji enzima. Na Slici 1. na kojoj su prikazane aktivnosti dobijenih imobilisanih enzimskih preparata može se uočiti da su najbolji rezultati ostvareni sa hidrofilnim nosačima koji imaju primarnu amino-grupu, pri čemu je evidentan uticaj veličine pora i dužine „nožice”. Nosač koji je pokazao najveći potencijal u preliminarnom eksperimentu je Lifetech™ ECR8409F.



Slika 1. Aktivnosti imobilisanih enzimskih preparata dobijenih vezivanjem za nosače različitih funkcionalnih grupa

Izvor: *Izvorno autorsko*

3.2. Određivanje optimalnog pH imobilizacije

U cilju utvrđivanja pH vrednosti medijuma u kome se dobija imobilisani enzimski preparat najveće aktivnosti, imobilizacija je izvođena u različitim puferima (pH od 3 – 7). Dobijeni rezultati prikazani su Tabeli 1. Kao što se može uočiti, najveća aktivnost imobilisane celulaze ostvorena je imobilizacijom pri pH 6.

Tabela 1. Aktivnost i specifična aktivnost enzima u zavisnosti od pH vrednosti

Izvor: *Izvorno autorsko*

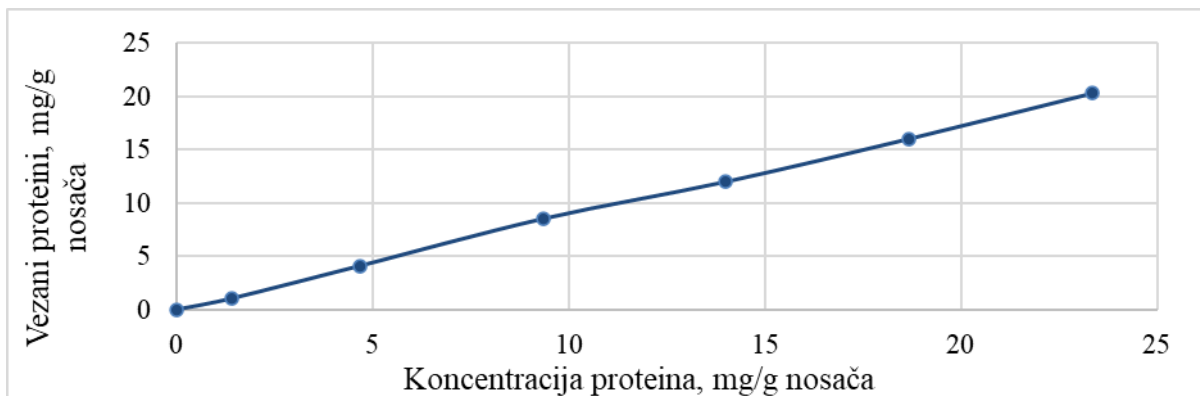
pH	3	4	4,8	6	7
Aktivnost, IU/g nosača	3,61	22,01	30,24	46,13	11,07
Specifična aktivnost, IU/mg vezanih proteina	30,4	50,71	47,47	43,3	12,27

3.3. Uticaj početne koncentracije proteina

U okviru optimizacije ovog parametra, početna koncentracija preparata je varirana u širokom opsegu, tako da je masa proteina ponuđenih za imobilizaciju bila između 1,4 - 23,3 mg/g nosača. Kao što se može uočiti na Slici 2., u čitavom ispitivanom opsegu povećanje koncentracije proteina dovodi do porasta mase vezanih proteina po gramu nosača, što ukazuje na činjenicu da kapacitet nosača za vezivanje proteina nije dostignut. Step en imobilizacije je gotovo konstantan (oko 80%). Ovakav trend najbolje se opisuje preko specifične aktivnosti (Slika 3.), koja pokazuje pad u okviru variranog opsega. Dobijeni su imobilisani enzimski preparati maksimalnih aktivnosti do 100 IU/g nosača.

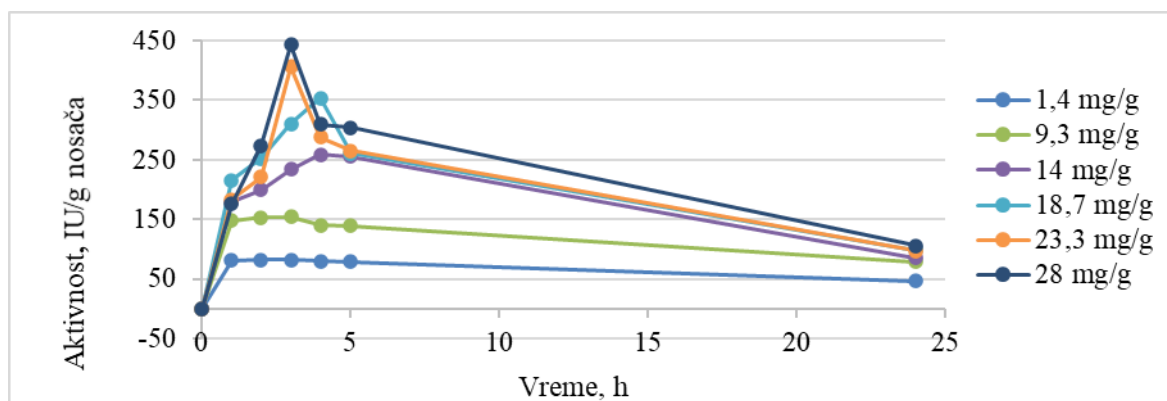
3.4. Uticaj vremena imobilizacije

Finalni korak optimizacije uslova imobilizacije bio je usmeren na praćenje imobilisane aktivnosti dobijenih preparata u toku vremena. Na Slici 3. se može uočiti da pri svim analiziranim koncentracijama proteina, aktivnost imobilizata raste u toku prva tri sata, nakon čega dolazi do njenog naglog pada. Pri početnim koncentracijama proteina većim od 20 mg/g nosača, dobijeni su preparati sa aktivnošću od preko 400 IU/g nosača.



Slika 2. Uticaj ispitivanih koncentracija proteina na masu vezanih proteina

Izvor: Izvorno autorsko

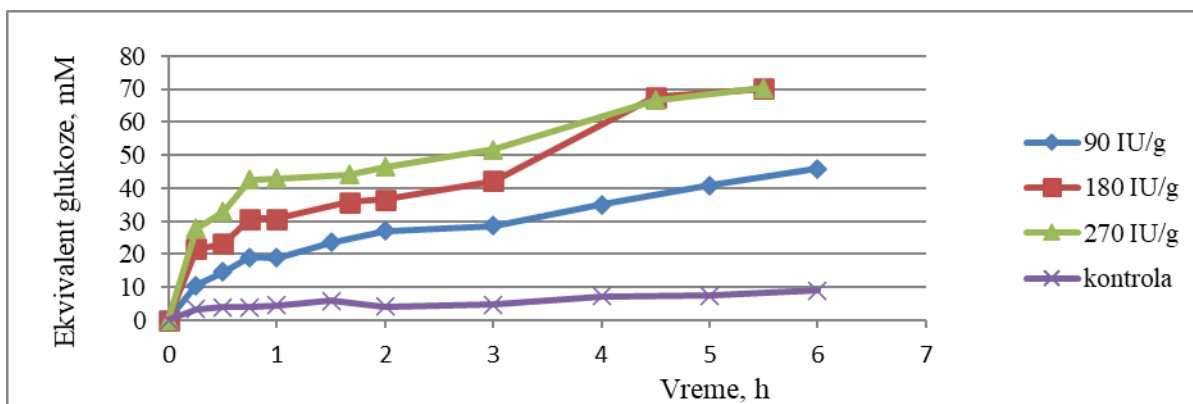


Slika 3. Uticaj vremena imobilizacije na aktivnost imobilisane celulaze pri različitim koncentracijama proteina

Izvor: Izvorno autorsko

3.5. Primena imobilisane celulaze u hidrolizi lignocelulozne frakcije suncokretove sačme

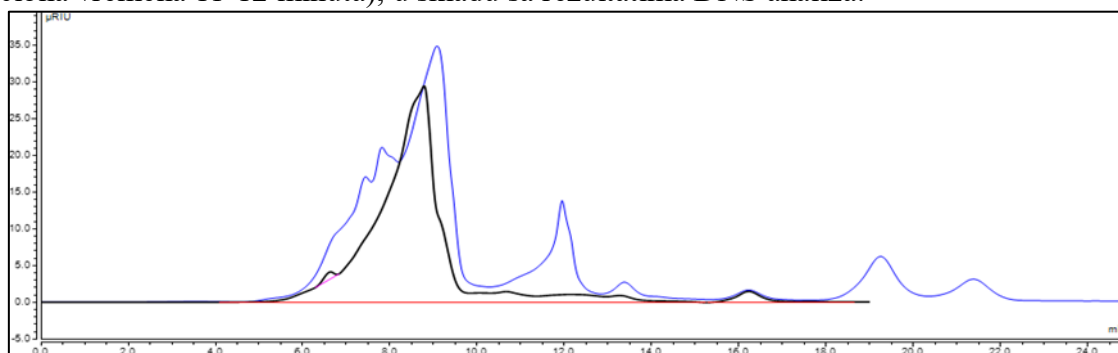
Za svaki eksperiment pojedinačno je definisana aktivnost enzima u reakcionim smešama izražena kao broj IU po gramu LF. Na Slici 4. se može uočiti da je hidroliza sa slobodnim enzimom išla brže od hidrolize sa imobilisanim jer se u prvom satu uočava nagli skok koncentracije redukujućih šećera (izražen preko ekvivalenta glukoze), nakon čega se postepeno povećava.



Slika 4: Hidroliza lignocelulozne frakcije suncokretove sačme katalizovane slobodnom celulazom

Izvor: Izvorno autorsko

Na Slici 5. se može videti razlika u HPLC-profilima uzorka dobijenog nakon hidrolize i kontrolnog uzorka (bez enzima), pri čemu se najuočljiviji uticaj enzima ogleda u većem sadržaju monosaharida (retenciona vremena 11-12 minuta), u skladu sa rezultatima DNS analiza.



Slika 5. Hromatogrami sadržaja rastvornih šećera u reakcionoj smeši nakon hidrolize LF slobodnom celulazom (plava linija) i kontrolnog uzorka - bez enzima (crna linija)

Izvor: Izvorno autorsko

Na osnovu rasta koncentracije redukujućih šećera tokom vremena uočen je sporiji proces hidrolize, što se može pripisati otežanom pristupu supstrata aktivnim centrima molekula enzima imobilisanim u porama čestica nosača. U poređenju sa prethodnim eksperimentom, proces hidrolize za aktivnost 180 IU/g LF pokazuje bolje rezultate za razliku od aktivnost 270 IU/g LF.

4. ZAKLJUČAK

U imobilizaciji celulaze iz *A. niger* je dokazano da se najefikasnija imobilizacija odigrava na nosaču - Lifetech™ ECR8409F pri čemu je evidentan uticaj veličine pora i dužine „nožice”. Primenom nosača sa većim porama dobija se preparat veće aktivnosti. Optimizacijom uslova imobilizacije celulaze na Lifetech™ ECR8409F nosaču utvrđeno je da se pri pH 6 dobija imobilisani enzimski preparat najveće aktivnosti. Ovakav enzimski preparat dobijen je nakon 3 h imobilizacije pri početnoj koncentraciji proteina od 23,3 mg/g nosača (400 IU/g) i 28 mg/g nosača (450 IU/g). Korišćenjem slobodne i imobilisane celulaze u reakciji hidrolize lignocelulozne frakcije suncokretove sačme, hidroliza sa slobodnim enzimom tekla je brže gde se već u prvom satu uočava nagli skok koncentracije redukujućih šećera (izražen preko ekvivalenta glukoze) i DNS metodom detektuju koncentracije od oko 70 mM, ali da je i imobilisani enzim efikasan katalizator procesa, pri čemu se oslobađa oko 45 mM redukujućih šećera.

Zahvalnost

Autori se zahvaljuju Ministarstvu prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije za finansijsku podršku po ugovoru br. 451-03-01330/2020-14/2685, 451-03-9/2021-14/200135, 451-03-9/2021-14/200066, 451-03-9/2021-14/200023.

LITERATURA

- [1] Knežević-Jugović, Z.: *Enzimsko inženjerstvo*, Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet, Beograd (2008).
- [2] Coughlan MP, Moloney AP., Isolation of 1,4-b-D-Glucan 4- Glucanohydrolases of *Talaromyces emersonii*. In: Wood WA, Kellogg ST, editors. *Methods in enzymology*, 160 (1988), pp. 365.
- [3] Tavares APM, Silva CG, Dražić G, Silva AMT, Loureiro JM, Faria JL, *Laccase immobilization over multi-walled carbon nanotubes: Kinetic, thermodynamic and stability studies*, J Colloid Interface Sci. 2015;454:52-60.
- [4] Ilyas S, Rehman A. *Decolorization and detoxification of synozol red HF-6BN azo dye, by Aspergillus niger and Nigrospora sp.* Iran J Environ Heal Sci Eng. 10 (2013) 12.

=====
CIP - Каталогизација у публикацији
Народна библиотека Србије, Београд

7.05(082)(0.034.2)
502/504(497.11)(082)(0.034.2)
331.45/.46(082)(0.034.2)
005.6(082)(0.034.2)
655(082)(0.034.2)

НАУЧНО-стручни скуп Политехника (6 ; 2021 ; Београд)

Zbornik radova [Elektronski izvor] / Šesti naučno-stručni skup Politehnika 6, Beograd, 10. decembar 2021. godine ; [urednici Ivana Matić Bujagić ... [et al.]]. - Beograd : Akademija tehničkih strukovnih studija "Beograd", 2021 (Beograd : Akademija tehničkih strukovnih studija "Beograd"). - 1 elektronski optički disk (CD-ROM) ; 12 cm

Sistemske zahteve: Nisu navedeni. - Nasl. sa naslovne strane dokumenta. - Radovi na srp. i engl. jeziku. - Tiraž 200. - Bibliografija uz svaki rad. - Abstracts.

ISBN 978-86-7498-087-3

а) Дизајн -- Зборници б) Животна средина -- Заштита -- Зборници в) Заштита на раду -- Зборници г) Управљање квалитетом -- Зборници д) Графичка индустрија -- Зборници

COBISS.SR-ID 53380105

=====



AKADEMIJA TEHNIČKIH
STRUKOVNIH STUDIJA
BEOGRAD

atssb.edu.rs

ISBN-978-86-7498-087-3

