

ВЕЋУ ЗА СТУДИЈЕ ПРИ УНИВЕРЗИТЕТУ У БЕОГРАДУ

Извештај о завршеној докторској дисертацији мр Драгосава Мутавцића, дипл.
хемичара

Одлуком Већа за студије при Универзитету у Београду од 27. јуна 2016. године именовани смо за чланове Комисије за оцену завршене докторске дисертације под насловом „**Примена мултиваријационе анализе у спектроскопским подацима**” кандидата мр Драгосава Мутавцића.

На основу прегледа достављене дисертације, Комисија подноси следећи

ИЗВЕШТАЈ

Докторска дисертација кандидата мр Драгосава Мутавцића под насловом „**Примена мултиваријационе анализе у спектроскопским подацима**” написана ја на 102 стране стандардног формата, има 9 табела, 36 слика и подељена је у 5 поглавља.

1. УВОД

Скуп математичко-статистичких техника које се користе у хемији се једним именом назива хеометрија. Сванте Волд је 1971 године дефинисао хеометрију као „уметност екстраховања хемијски релевантних информација из података добијених хемијским експериментом”. Хеометрија је име добила по аналогiji са биометријом, економетријом, психометријом и осталим „метрикама”. Методе мултиваријационе анализе се могу применити у разним дисциплинама, почев од аналитичке хемије, анализе пословних процеса, сензорне анализе, логистике, психологије, биологије, итд. Примена мултиваријационе анализе у биологији може бити закомпликована биолошким и еколошким варијацијама. Велика предност мултиваријационих метода, је да оне могу бити често примењене у ситуацијама у којима су алати класичне статистичке анализе немоћни. На пример, спектроскопски подаци су често високо корелисани, јер се добијају на истом узорку у неколико временских интервала или у сличним околностима. На тај начин се добијају вишедимензиони подаци на којима се морају применити методе мултиваријационе анализе, за разлику од класичне статистичке анализе, која се углавном примењује на једној варијабли (униваријациона анализа).

Подаци који се добијају спектроскопским мерењима, најчешће се чувају у матричној форми или у форми тензора. На пр., снимање серије емисионих спектра једног узорка, на више побудних таласних дужина, даће као резултат дводимензиону матрицу. Уколико се снимање понови на више узорака, добија се више дводимензионих матрица које изграђују тензор. Тензори играју веома важну улогу у репрезентовању и анализирању мултидимензионалних података у многим научним дисциплинама као што су: хеометрија, психометрија, индустрија хране, екологија, анализа сигнала и слика, неуронауке, информационе технологије, претраживања података (дата мининг) и др.

Кандидат мр Драгосав Мутавцић је у својој докторској дисертацији посебну пажњу посветио примени анализе главних компоненти, мултиваријационе резолуције кривих и паралелне факторске анализе у обради флуоресцентних и инфрацрвених спектра. За обраду флуоресцентних спектра квантних и карбонских тачака користио

је мултиваријациону резолуцију кривих. Студентов t -тест је коришћен за (i) упоређивање ФТИР спектра третираних узорака са спектрима кореспондирајућих нетретираних, биљке *Arabidopsis thaliana*, за фибер и ксилем, посебно за дивљи тип и за мутанте и за сваки третман (ii) ФТИР спектра *cad-c cad-d* мутанта са спектрима дивљег типа, и за ксилем и за фибер, као и за сваки третман посебно. За проучавање интеракције говеђег серум албумина са АТП-ом примењена је паралелна факторска анализа на серији флуоресцентних спектра раствора БСА и АТП у три односа (1:1, 1:2 и 2:1).

Сем оригиналног доприноса датог применом одређених хеометријских метода у решавању истраживачких задатака у приказаним областима/системима, кандидат је у својој тези показао ширину могућности примене ових статистичких метода. У сваком конкретном експерименталном систему веома је важно одредити праву статистичку методу коју треба применити да би се екстраховало највише информација. То на прави начин може учинити истраживач који се уско специјализовао у познавању и баратању статистичким методама и њиховим применама. То је права мултидисциплинарна област која изискује посебно студирање, ван оквира редовних студија, што је демонстрирано овом докторском тезом.

2. ЦИЉ ИСТРАЖИВАЊА

Циљ истраживања у оквиру докторске дисертације мр Драгосава Мутавцића био је показивање могућности примене хеометријских метода у декомпозицији флуоресцентних и ФТИР спектра у анализи различитих система, односно узорака наночестица, протеина и биолошких узорака.

Задаци истраживања су били следећи:

- i) карактерисање наночестица (квантних и карбонских тачака) које се могу употребити као сензори за детекцију и квантификацију јона метала (кадмијум, сребро),
- ii) карактерисања наночестица које су предложене за детекцију отисака прста,
- iii) одређивања броја фракција у смеси наночестица (квантних тачака) различите величине и одређивање њиховог пречника.
- iv) анализирање и упоређивање ФТИР спектра узорака ћелија дивљег типа *Arabidopsis thaliana*, са ћелијама *cad c cad d* мутаната, у циљу проучавања структурних промена ћелијског зида, које настају услед мутација у биосинтези његових конститутивних полимера. Резултати анализе ФТИР спектра ће бити употребљени и за испитивање хемијских разлика између ових типова Арабидопсиса, односно разлика у наноструктурним карактеристикама њихових ћелијских зидова. Такође, циљ је и да се испита да ли фибер и ксилем различито утичу на ове разлике.
- v) такође, један од циљева је праћење структурних прелаза код протеина изазваних одређеним поремећајем, односно биће испитана конформациона промена говеђег серум албумина, везивањем са АТП-ом.

3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

За испитивања извршена у оквиру своје докторске дисертације кандидат мр Драгосав Мутавцић је користио следеће уређаје и аналитичке методе:

- i) Спектрофотометар марке Shimadzu UV-2501 PC (Kyoto, Japan);
- ii) Спектрофлуориметар Fluorolog-3 (Yobin Ivon Horiba, Paris, France);
- iii) Спектрофлуориметар FL3-22 TCSPC (Yobin Ivon Horiba, Paris, France)
- iv) Софтверске програме за анализу спектра MCR-ALS (Multivariate curve resolution-alternating least squares) са GUI интерфејсом;
- v) PARAFAC софтвер;
- vi) IBM SPSS v 22;
- vii) Microsoft Excel 2010.

4. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Део овог рада је била компонентна анализа флуоресцентних спектра нових хемијских наносензора за Cd^{2+} јоне, који су базирани на ПАМАМ-ОН дендримерима треће генерације. Ови наносензори су резултат истраживања две различите фамилије и генерације дендримера, ПАМАМ са хидрокси завршецима (ПАМАМ-ОН_{G=2,3,5}) и DAB дендримери са тиолним завршецима (DAS_{G=2-5}). Ови наносензори са оптимално дефинисаним односом компоненти, базирани на квантним тачкама функционализованим са дендримерима, су први пут примењени у детекцији L-триптофана и термометрији. Мултиваријациона резолуција кривих је примењена на ексцитационо-емисионе матрице узорака чистог ZnS, чистог ПАМАМ-ОН_{G=3} дендримера, ZnS:Mn и ZnS:Mn@ПАМАМ-ОН_{G=3}. Емисиони спектри ZnS су имали четири компоненте са максимумима на 439, 493, 535 и 595 nm. Комплексирањем са Mn^{2+} нестале су прве три компоненте, због формирања новог једињења, док је четврта компонента остала непромењена. Новоформиране компоненте су имале позиције максимума на 472, 556, 589 и 643 nm. Из ексцитационо-емисионих матрица ПАМАМ-ОН су екстраховане две компоненте са позицијама максимума 454 и 465 nm.

Из ексцитационо-емисионих матрица ZnS:Mn@ПАМАМ-ОН_{G=3} екстраховано је пет компоненти. Компонента код ПАМАМ-ОН на 454 nm је остала непромењена, док је друга компонента показала „плаво“ померање за 20 nm, на позицију од 445 nm. Преостале три компоненте, на позицијама 556, 589 и 643 nm су биле исте као код ZnS:Mn. Ови закључци индикују да је новоформиран комплекс био стабилан, јер ПАМАМ-ОН не мења структуру ZnS:Mn, док је промена компоненти код ПАМАМ-ОН настала услед везивања са ZnS:Mn. Резултати одређивања концентрације Cd^{2+} јона новопредложеним наносензором показали су незнатно одступање у односу на резултате добијене помоћу атомске апсорпционе спектроскопије. Упоредивање

прецизности ове две методе дало је следеће резултате: ZnS:Mn@PAMAM-OH_{G=3} сензор је показао просечну прецизност од 5,88% ± 2,45%, док је атомска апсорпциона спектроскопија имала прецизност од 1,41%±0,76%. Ово се највероватније догађа због великог броја активних места на дендримерима на којима су могли бити комплексирани Cd²⁺ јони и који су на тај начин могли генерисати сигнал са благом девијацијом.

Наночестице на бази угљеника (карбонске тачке) су се појавиле недавно као резултат потраге за новим наноматеријалима и имају мању токсичност у односу на сличне алтернативе као што су квантне тачке. Ове наночестице су углавном малих димензија (испод 10 nm), са разним својствима и последњих година су нашле примену у многобројним пољима. У поређењу са квантним тачкама и органским бојама, карбонске тачке су супериорне у погледу високе растворљивости у води, хемијске инертности, једноставне функционализације, отпорности на фото-избелјиваче, ниске токсичности и биокомпатибилности. Сем тога, ове тачке показују добру мембранску пропустљивост и могу бити коришћене у мониторингу нивоа сулфидних јона у текућој води и живим ћелијама, као и у биолошком означавању и праћењу испоруке лекова. Емитована светлост од карбонских тачака може бити угашена ефикасно помоћу електрон-акцепторских или електрон-донорских молекула у раствору. Ови занимљиви фото-индуковани трансфери електрона карбонских тачака, нуде могућност њихове примене у конверзији светлосне енергије, фотонапонским уређајима и сличним апликацијама. Пошто је циљ, испитивање могућности примене ових наночестица као сензора за одређивање концентрације Ag⁺ јона, то је део ове дисертације био анализира флуоресцентних спектра како би се окарактерисале ове наночестице и утврдили параметри за њихову оптималну примену.

За сваки узорак: чист раствор карбонских тачака, чист раствор меркаптосукцинске киселине, комплекс CD-MSA и комплекс CD-MSA@Ag⁺, је снимљен сет од 21 флуоресцентног спектра и на тај начин су добијене 4 ексцитационо-емисионе матрице које су анализирани корешћењем методе мултиваријационе резолуције кривих. Емисиони спектри чистих карбонских тачака су имали две флуорофоре са позицијама максимума на 430 nm и 463 nm, које се могу повезати са различитим кисеоничним групама којима је богата површина карбонских тачака, што је потврђено XPS и FTIR анализом. Спектар чисте меркаптосукцинске киселине је садржао три компоненте са емисионим максимумима на 409 nm, 454 nm и 496 nm, који могу бити повезани са повећањем површинске хетерогености захваљујући реакцијама естерификације и присуству тиолних група. Спектри карбонских тачака функционализованих са MSA и MSA@Ag⁺, такође су садржеле три компоненте са позицијама максимума које су се незнатно разликовале у односу на оба материјала: 424 nm, 457 nm и 514 nm. Ове разлике се могу приписати новоформираним везама насталим као резултат функционализације (естерификације) и присуству карбонског матрикса у карбонским тачкама, који може да утиче на процес преноса електрона и њихову релаксацију.

Резултати су показали да функционализација карбонских тачака меркаптосукцинском киселином доводи до промене емисионог спектра. Прва и трећа компонента CD-MSA могу бити повезане са новим/модификованим ентитетима закаченим на површину карбонске тачке. Друга компонента указује на порекло од MSA и може се објаснити ефектом тиолне групе на емисију. Непромењене позиције свих компоненти у CD-MSA@Ag⁺, у поређењу са компонентама у CD-MSA, индикују да везивање Ag⁺ јона не изазива значајне промене у флуорофорама CD-MSA. Овакв

закључак указује на стабилност овако модификованог материјала и његову могућу примену у детекцији јона метала. Додатна потврда стабилности модификованих карбонских тачака је сличност ексцитационих профила њихових компоненти.

После функционализације са меркаптосукцинском киселином (CD-MSA), присуство Ag^+ јона је проузроковало видљиво гашење флуоресценције, што се показало као кључни фактор за њихову примену у детекцији метала. Иако су јони сребра узроковали гашење флуоресценције, они нису мењали структуру CD-MSA. Ово гашење је повезано са нерадијационим трансфером побуђених електрона са CD на јоне, што резултује њиховим преласком у атомско стање. Флуорофоре у CD-MSA нису једнако приступачне за јоне метала и само део њих је под утицајем Ag^+ и изложен је флуоресцентном гашењу. Функционализација CD са MSA, омогућила је стабилно везивање Ag^+ .

Отисак прста је један од најважнијих физичких доказа у пољу форензичких наука и врло је користан јер свака особа има јединствен отисак прста. У неким ситуацијама, ови отисци су једва видљиви и неопходно је учинити их видљивим, за шта се могу употребити одређени прахови, хемијске паре или алтернативни извори светлости. За означавање латентних отисака се могу употребити и нови материјали, као што су флуоресцентни полупроводници базирани на нанотехнологијама (квантним тачкама), на пр.: CdS, CdTe, CdAu или CdSe. За ову сврху су изабране порозне фосфатне наноструктуре које омогућавају стратешку функционализацију њихових површина, "качењем" органских функционалних група, које могу везати молекуле од интереса. Ови хибридни материјали комбинују корисне особине, како квантних тачака, тако и инертних матрица и дају нове материјале са јединственим оптичким и хемијским особинама. Анализе урађене у оквиру ове дисертације су допринеле карактерисању и показивању могућности примене CdSe квантних тачака, уграђених у функционализоване порозне фосфатне наноструктуре са аминок групом ($\text{PPH-NH}_2@CdSe$), у детекцији латентних отисака прстију на различитим непорозним површинама. Резултат целокупног рада, у који улазе и овде приказане хеометријске анализе, је нови метод за побољшање квалитета слике отисака прстију, применом новог праха.

За анализу емисионих флуоресцентних спектра коришћена је мултиваријациона резолуција кривих. У случају PPH-NH_2 екстраховане су две компоненте, док су код узорка $\text{PPH-NH}_2@CdSe$ екстраховане четири компоненте, од којих се две по положају поклапају са две компоненте носача, а две су нове компоненте. Резултати ове анализе су потврђени и додатно, нелинеарним фитовањем помоћу једноставног, Нелдер-Меад алгоритма, имплементираним у MATLAB.

Две нове компоненте потичу од нових флуорофора које се појављују када се CdSe веже за подлогу. Промене у FTIR спектрима указују да су нове флуорофоре формиране кроз везивање CdSe на карбонилне и аминок групе, а такође и кроз интеракцију наночестица са P-O и C-N везама. Спектри комплекса имају различит број компоненти и они се могу разложити у четири компоненте у региону 350-360 nm, три компоненте у региону 370-410 nm и две компоненте 420-430 nm. Ово се дешава због тога што са порастом ексцитационе таласне дужине, побуђују различите флуорофоре.

Полупроводљиви нанокристали имају примену у различитим технологијама као што су: ласери, соларне ћелије, биомедицина, ремедијација животне средине загађене опасним контаминантима укључујући и пестициде, пречишћавање воде и др.

Одређивање величине, односно дијаметра наночестица, јако је важно у примени ових честица у поменутиим технологијама, као и у механистичком проучавању нуклеације и раста колоидних нанокристала. Велико варирање дијаметра наночестица, може да компликује корелисаност физичких (електронских и оптичких) и хемијских особина полупроводника са величином кристаличности. Због свега наведеног, велика пажња је усмерена ка поузданим методама одређивања дистрибуције величине наночестица. Суптилне разлике у синтези наночестица, могу да утичу на варијације њихових спектроскопских особина. С друге стране, комерцијалне квантне тачке нису довољно стандардизоване, нити су комплетно карактеризоване, тако да је за њихову даљу употребу неопходна додатна евалуација.

На основу прегледане литературе није примећена ниједна студија која је корелисала позицију флуоресцентних емисионих максимума са дијаметром квантних тачака, као ни употреба било које спектроскопске технике (па тиме ни флуоресценције), која би се бавила анализирањем узорака наночестица који садрже фракције различитих дијаметара. Зато је део ове дисертације посвећен проучавању корелисаности позиције флуоресцентних максимума са дијаметрима два типа квантних тачака: CdSe- као примера хидрофобних и CdSe/ZnS као примера хидрофилних квантних тачака. У оквиру овог испитивања предложен је метод за одређивање дијаметра фракција наночестица различитих димензија присутних у узорцима, применом развијене факторске анализе и мултиваријационе резолуције кривих на њихове ексцитационо-емисионе матрице.

Величина хидрофобних квантних тачака је одређена на основу њихових апсорпционих спектра. Због повезаности екстинкционог коефицијента и дијаметра квантних тачака, претпостављено је и да између позиције максимума флуоресценције и њиховог пречника, такође постоји зависност. Пречник хидрофобних квантних тачака је одређен на бази њихових апсорпционих максимума, користећи публиковане калибрационе криве. Пречник хидрофилних квантних тачака, је одређен помоћу ТЕМ. Избор модела који најбоље описује зависност пречника квантних тачака од позиције максимума флуоресценције, базиран је на два критеријума: (i) критеријум средње квадратне грешке, односно коефицијента детерминације (бољи је модел који има мању вредност средње квадратне грешке, односно већу вредност коефицијента детерминације) и (ii) критеријум ширине интервала поверења, ужи интервал значи прецизнију оцену просечног пречника. Код хидрофобних квантних тачака, пречник се варирао између 2 и 4,5 nm, а линеарни и експоненцијални модел дају сличне вредности за коефицијент детерминације (0,888 и 0,898, респективно). Како је линеарни модел имао ужи интервал поверења, он је одабран као модел који боље описује ову зависност. У случају хидрофилних квантних тачака, чији је пречник варирао између 2 и 7,1 nm, изабран је експоненцијални модел као прецизнији јер је имао већу вредност за коефицијент детерминације, 0,948 у односу на 0,904 за линеарни модел.

Број компоненти у ексцитационо-емисионим матрицама узорка са комерцијалним именом EviTag 605 одређен је развијеном факторском анализом, која је сугерисала присуство две или три компоненте, али облици емисионих профила компоненту оцењених мултиваријационом резолуцијом кривих су потврдили присуство две компоненте. Овакав резултат упућује на закључак да EviTag 605 садржи две фракције наночестица (са два различита дијаметра). Користећи позиције њихове максималне флуоресценције, одређени су пречници ових фракција на основу експоненцијалног регресионог модела и они су износили 3,1 и 3,7 nm. Развијена факторска анализа је показала присуство четири компоненте у интегралним спектрима

хидрофобних CdSe квантних тачака, односно присуство четири фракције различитих дијаметара. Помоћу линеарног регресионог модела, оцењени су пречници ових фракција који су износили: $2,89 \pm 0,14$, $2,95 \pm 0,13$, $3,10 \pm 0,12$ и $3,12 \pm 0,12$ nm. Емисиони профили ових фракција, који су оцењени мултиваријационом резолуцијом кривих, при чему су две фракције имале скоро идентичне позиције максимума флуоресценције, али различит спектрални облик.

Arabidopsis thaliana је погодан експериментални модел за проучавање структуре и архитектуре ћелијског зида, јер има потпуно секвенциран геном и велику колекцију окарактерисаних мутаната. Њени мутанти се релативно лако могу генерисати и могу бити доста информативни у проучавању синтезе ћелијског зида. Такође могу бити добар модел за проучавање структурних промена ћелијског зида, које настају услед мутација у биосинтези конститутивних полимера ћелијског зида, као што је лигнин. Иако лигнин пружа шумском дрвећу и агрономски важним биљкама, механичку потпору и отпорност на биотички и абиотички стрес. Он лоше утиче на пробаву сточне хране и пожељно је да се уклони из целулозних влакана приликом индустријске производње целулозе и папир. FTIR спектроскопија је погодна техника за проучавање комплексних хемијских веза у нетакнутим секцијама ткива, односно у проучавању корелације између спектралних промена и промена у архитектури ћелијског зида, јер су FTIR спектри врло осетљив индикатор хемијских и структурних варијација вибрирајућих молекула.

Како би се упоредиле наноструктурне карактеристике ћелијског зида дивљег типа и мутаната *Arabidopsis thaliana*, парцијално су екстраховане поједине компоненте ћелијског зида, употребом различитих растварача. Као растварачи коришћени су диоксан/вода, водониок пероксид/сирћетна киселина и амонијак. Ови растварачи селективно екстрахују поједине компоненте. Растварач диоксан/вода (9/1 в/в) углавном екстрахује мање фрагменте лигнина и једноставне фенолне компоненте, пероксид/сирћетна киселина-одређене полисахариде и једноставне феноле, док амонијум хидроксид екстрахује једноставне феноле.

После екстракције су снимљени FTIR спектри анализираних секција ткива и спроведено је упоређивање ћелија дивљег типа *Arabidopsis thaliana*, са ћелијама *cad-c cad-d* мутанта. Ово испитивање је урађено са циљем да испита да ли информације добијене помоћу FTIR спектра могу бити повезане са хемијским разликама између ових типова Арабидопсиса, односно разликама у наноструктурним карактеристикама њихових ћелијских зидова. Исто тако, циљ је и да се испита да ли фибер и ксилем различито утичу на ове разлике. За квантификацију ових разлика коришћене су разлике спектра исказане као T-скор. Као референтни спектар за све разлике, коришћен је спектар нетретираног ткива, при чему позитивна разлика показује већу апсорпцију у третираном ткиву, а негативна мању.

Анализом разлике спектра дивљег типа и мутанта за обе врсте ткива уочено је да се дивљи тип и мутант разликују у количини лигнина, хемицелулоза и целулозе, као и алдехида и коњугованих алдехида. Промењено је окружење лигнина и целулозе у мутанту у односу на дивљи тип, што условљава већу доступност растварачима. Ове особине су различито биле изражене у фибру и ксилему.

У циљу додатног испитивања дискриминације између ефеката различитих третмана на фибер и ксилем, примењена је Анализа главних компоненти. Ова анализа је базирана на корелационој матрици, примењена је на спектралну област од 800-1800

cm⁻¹ и показала је да прве три главне компоненте „апсорбују“ 45,4%, 28,6% и 11,8% варијансе оригиналних података, респективно. Факторска анализа је показала да је у фиберу дивљег типа заступљенији лигнин него код осталих узорака, док је у фиберу мутанта изражено присуство естара полисахарида. У ксилему дивљег типа је изражен кондензовани лигнин и алдехидне структуре.

Серум албумин је један од најпроучаванијих протеина, јер је најзаступљенији протеин крвне плазме, са концентрацијом 50 g/l. Главна физиолошка функција серум албумина је у одржавању осмотског притиска и рН вредности крви, врши транспорт лекова и лиганада везаних за њега и на тај начин смањује њихову серумску концентрацију. Примарну структуру говеђег серум албумина представљају 583 аминокиселинска остатка. За разлику од хуманог серум албумина који има само један триптофански остатак, BSA има два триптофанска остатка на позицијама 134 и 213, са флуоресцентним емисионим спектрима позиционираним на приближно 340 до 350 nm, што указује на њихову унутрашњу локализацију у природној конформацији, при чему је остатак 134 више изложен растварачу, односно ближи је површини протеина.

За проучавање интеракције BSA и АТФ снимљене су три ексцитационо-емисионе матрице, са три различита односа BSA и АТФ (1:1, 1:2 и 1:3). Паралелна факторска анализа је примењена на тензору изграђеном од ове три матрице. Емисиони профили ових компоненти су имали позиције максимума флуоресценције су на 342 и 353 nm. Спектрални профил на позицији 342 nm одговара триптофанском остатку на позицији 213, а профил са максимумом емисије на 353 nm кореспондира триптофанском остатку на позицији 134. Иста анализа је примењена на тензор формиран од три ексцитационо-емисионе матрице, снимљеним на истим растворима, али два сата након мешања.

Из узорака чистог BSA одмах након припреме узорка и истог узорка након два дана стајања екстрахована су два емисиона профила. Емисиони профил триптофанског остатка који се налази на површини протеинске глобуле је неизмењен, док је емисиони профил који одговара триптофанском остатку унутар глобуле померен ка већој енергији за 15 nm, са 346 на 331 nm. Како емисиони профили триптофанских компоненти лоцираних на површини глобуле највише личе на емисиони профил чистог триптофана, то овај плави померај показује да у периоду од два дана долази до већег умотавања протеина у домену у коме се налази овај триптофански остатак. Триптофанска компонента са емисионим максимумом на 353 nm је остала непромењена, док се компонента са позицијом на 345 nm померила на позицију од 338 nm. Ово померање може се објаснити интеракцијом BSA и АТФ која је триптофански остатак унутар глобуле учинила више хидрофобним, односно прелазак протеина у умотанију конформацију. Триптофан на површини протеина није променио окружење, услед чега одговарајућа спектрална компонента није променила положај.

5. ЗАКЉУЧАК

- i) У оквиру испитивања нових хемијских наносензора од ZnS:Mn²⁺ флуоресцентних наночестица, функционализованих PAMAM-OH дендримерима треће генерације, који се могу користити као сензори за Cd²⁺, флуоресцентна компонентна анализа коришћењем Мултиваријационе резолуције кривих је показала да дендример не утиче на структуру ZnS:Mn²⁺.
- ii) Везано за развој флуоресцентног сензора на бази карбонских тачака за детекцију Ag⁺, анализа флуоресцентних спектра је показала да је комплекс CDs-MSA стабилан након додавања Ag⁺ јона, при чему долази до гашења интензитета флуоресценције статичким механизмом.
- iii) У оквиру испитивања флуоресцентних CdSe квантних тачака допираних са порозним фосфатним хетероструктурама (PPH-NH₂@CdSe), резултати анализе флуоресцентних спектра поменутих квантних тачака су показали да се њихове емисионе траке не мењају под утицајем чврстог носача (да су фотостабилне) и да могу бити коришћене као агенс за означавање отисака прстију. Ова фотостабилност PPH-NH₂@CdSe се показала као особина која побољшава квалитет слике латентних отисака прстију на непорозним површинама, у односу на уобичајене форензичке технике.
- iv) За одређивање пречника хидрофобних (CdSe) и хидрофилних (CdSe:ZnS) квантних тачака коришћене су Развијена факторска анализа и Мултиваријациона резолуција кривих. Ове методе су примењене у декомпозицији серије флуоресцентних спектра ових квантних тачака, како би се екстраховали емисиони профили фракција квантних тачака које имају различит пречник у раствору. Одређивање пречника је базирано на његовој повезаности са позицијом максимума емисије. Резултати су показали да је флуоресцентна спектроскопија једноставна и поуздана метода у оцени пречника квантних тачака. У комбинацији са погодним статистичким техникама у декомпозицији флуоресцентних спектра квантних тачака, може бити брз и поуздан метод за „скрининг” (не)хомогености раствора квантних тачака.
- v) У анализи FTIR спектра узорака дивљег типа и *cad-c cad-d* мутанта *A. thaliana* третираних различитим растварачима у циљу парцијалне екстракције компоненти ћелијског зида, Т тест је показао да се дивљи тип и мутант разликују у количини лигнина, хемицелулоза и целулозе, као и алдехида и коњугованих алдехида. Промењено је окружење лигнина и целулозе у мутанту у односу на дивљи тип, што условљава већу доступност растварачима. Ове особине су различито изражене у фибру и ксилему. Резултати анализе главних компоненти су показали да у фибру дивљег типа је заступљенији лигнин него код осталих узорака, док је у фибру мутанта изражено присуство естара полисахарида. У ксилему дивљег типа је изражен кондензовани лигнин и алдехидне структуре.
- vi) PARAFAC анализа флуоресцентних спектра BSA је показала присуство две спектралне компоненте које одговарају триптофанима у различитом окружењу, један на површини протеина а други унутар протеинске глобуле близу површине. Стајањем раствора чистог BSA два дана долази до конформационе промене BSA, у којој унутрашњи триптофан мења окружење, а протеин постаје умотанији. У интеракцији са АТП-ом долази до конформационог прелаза два сата након мешања, у коме унутрашњи триптофан мења окружење и протеин такође прелази у умотанију конформацију.

6. ЛИТЕРАТУРА

Кандидат мр Драгосав Мутавцић је цитирао у својој докторској дисертацији укупно 108 библиографских јединица, а резултате ове докторске дисертације објавио у више научних радова. Посебно истичемо радове објављене у водећим међународним часописима:

1. **D. Mutavdžić**, J. Xu, G. Thakur, R. Triulzi, S. Kasas, M. Jeremić, R. Leblanc, K. Radotić, „Determination of the size of quantum dots by fluorescence spectroscopy”, *Analyst* **136** (2011) 2391-2396.
2. M. Algarra; B. B Campos; K. Radotić; **D. Mutavdžić**; T. Badosz; J Jiménez-Jiménez; E Rodríguez-Castellón; J. CG da Silva, „Luminescent carbon nanoparticles: effects of chemical functionalization, and evaluation of Ag⁺ sensing properties” *Journal of Materials Chemistry A* **2** (2014) 8342-8351.
3. M. Algarra; K. Radotić; A. Kalauzi; **D. Mutavdžić**; A. Savić; J. Jiménez-Jiménez; E. Rodríguez-Castellón; J. C da Silva; J. J Guerrero-González, „Fingerprint detection and using intercalated CdSe nanoparticles on non-porous surfaces“ *Analytica Chimica Acta* **812** (2014) 228-235.
4. B. B Campos; M. Algarra; K. Radotić; **D. Mutavdžić**; E. Rodríguez-Castellón; J. Jiménez-Jiménez; B. Alonso; C. M Casado; J. C Esteves da Silva, „ZnS:Mn nanoparticles functionalized by PAMAM-OH dendrimer based fluorescence ratiometric probe for cadmium“ *Talanta* **134** (2015) 317-324.

Резултатима досадашњих истраживања, које је објавио у наведеним радовима, мр Драгосав Мутавцић је верификовао научне поставке своје докторске дисертације.

На основу наведеног, може се донети следећи

ЗАКЉУЧАК

Докторска дисертација мр Драгосава Мутавцића „Примена мултиваријационе анализе у спектроскопским подацима” представља оригиналан рад који је приказао оригиналан допринос примене хеометријских метода у конкретним истраживачким задацима, а такође је демонстрирана неопходност стицања уског и свеобухватног

знања из ове области да би се могли решавати проблеми у различитим научним областима, што му даје одлику мултидисциплинарности.

Имајући у виду наведено, Комисија предлаже Већу за студије при Универзитету у Београду, да прихвати докторску дисертацију „**Примена мултиваријационе анализе у спектроскопским подацима**” кандидата мр Драгосава Мутавџића.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

1. _____

Проф. др Душанка Милојковић Опсеница, редовни професор,
Хемијски факултет Универзитета у Београду
(аналитичка хемија)

2. _____

Др Ксенија Радотић Хаџи-Манић, научни саветник,
Институт за мултидисциплинарна истраживања, Универзитет у Београду
(биофизика)

3. _____

Др Слађана Спасић, виши научни сарадник,
Институт за мултидисциплинарна истраживања, Универзитет у Београду
(математика)

4. _____

Др Александра Митровић, виши научни сарадник,
Институт за мултидисциплинарна истраживања, Универзитет у Београду
(физиологија биљака)

5. _____

Др Јелена Богдановић Пристов, виши научни сарадник,
Институт за мултидисциплинарна истраживања, Универзитет у Београду
(биохемија)