

Испитивајући сагласан
Шекић

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКОГ ФАКУЛТЕТА
У КРАГУЈЕВЦУ И ВЕЋУ ЗА ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКЕ НАУКЕ
УНИВЕРЗИТЕТА У КРАГУЈЕВЦУ

Предмет: Извештај комисије за оцену и одбрану докторске дисертације **Иве Поповић**

На седници Наставно-научног већа Природно-математичког факултета у Крагујевцу, одржаној 21. 09. 2016. год. (Одлука бр. 800/VIII-3), као и на седници Већа за природно-математичке науке, одржаној дана 12.10.2016. год. (Одлука бр. IV-01-956/7) одређени смо у комисију за подношење извештаја о урађеној докторској дисертацији под насловом:

**„ИСПИТИВАЊЕ ПРИМЕНЕ НЕОРГАНСКИХ СУПСТРАТА НА БАЗИ
НАНОКРИСТАЛА TiO_2 ЗА ДЕТЕКЦИЈУ И КВАНТИФИКАЦИЈУ МАЛИХ
МОЛЕКУЛА SALDI TOF МАСЕНОМ СПЕКТРОМЕТРИЈОМ“**

кандидата **Иве Поповић**, рођене Вукићевић.

Ива Поповић је поднела рукопис своје докторске дисертације Наставно-научном већу Природно-математичког факултета на оцену. Ми смо прегледали рукопис, дали своје сугестије, након чега је **Ива Поповић** унела све потребне корекције и на основу тога подносимо Наставно-научном већу Природно-математичког факултета у Крагујевцу следећи

ИЗВЕШТАЈ

1. Значај и допринос докторске дисертације

Детекција и квантификација молекула мале масе је од великог значаја нарочито у медицини, биологији и сродним наукама приликом одређивања различитих ћелијских метаболита који су значајни за функционисање читавог организма. Осим чисто научног значаја, анализа молекула мале масе је битна и за дијагнозу и прогнозу болести. Проналажење нових, универзалних матрица и/или супстрата за MALDI TOF (*matrix assisted laser desorption and ionisation time-of-flight*) масену спектрометрију, који би



омогућавали истовремену квантитативну и квалитативну анализу различитих врста молекула, би представљало велики напредак у аналитици. С обзиром на то да традиционалне, органске матрице могу сузбијати сигнале који потичу од молекула малих маса (због великог броја сигнала који потичу од самих матрица) изазов је пронаћи супстрате који ће олакшати и, уопште, омогућити детекцију јона у области малих маса. С обзиром на саму природу MALDI TOF масене спектрометрије и њене предности у односу на друге аналитичке инструменталне методе (начин припреме узорка који не захтева њихову модификацију, мале запремине и концентрације узорка, брзина снимања спектра од неколико секунди, велики број информација које се могу добити из једног спектра, могућност снимања спектра скоро свих врста молекула) употреба „универзалне“ матрице/супстрата у комбинацији са MALDI TOF масеном спектрометријом би имала примену у биологији, фармацији, медицини, пољопривреди и у неким гранама индустрије. Проналажење нових матрица/супстрата за MALDI масену анализу је предмет истраживања многих научника, а преглед досадашњих истраживања је дат у приложеној докторској дисертацији.

Наночестице као супстрати за MALDI TOF масену спектрометрију су привукли доста пажње. У овом случају метода се назива SALDI (*substrate assisted laser desorption and ionization*). Предност њихове употребе у односу на органске матрице је мањи број сигнала у области малих маса, могућност коришћења за анализу узорка за чију јонизацију је неопходна повишена снага ласера и толеранција на присуство неорганских јона. Наночестице титан(IV)-оксида (TiO_2) су посебно погодне због лакоће синтезе, доступности, ниске цене, стабилности и могућности модификације њихове површине.

У овој докторској дисертацији испитивана је могућност коришћења нанокристала TiO_2 различитих облика и величина: наночестица (TiO_2 НЧ), елипсоидних наночестица TiO_2 (TiO_2 ЕНЧ) и нанотуба TiO_2 (TiO_2 НТ) у SALDI TOF масеноспектрометријској анализи одабраних група биолошки значајних молекула малих маса: аминокселина (L-цистеин, L-аланин, DL-метионин), трипептида глутатион, полних стероидних хормона (естрадиол, тестостерон, прогестерон), угљених хидрата (D-(+)-глукоза, D-(+)-малтозе, рафинозе, арабинозе, β -циклодекстрин), лимунске киселине, дексаметазона (дексазон) и витамина (витамин А и витамин Е). Поред њих, испитивани су и комплекси прелазних метала, који су потенцијални антитуморски агенси. Одређиван је квалитет спектра, идентификовани су сигнали, испитиван је утицај присуства неорганских соли, као и параметри који указују на могућност примене

наведених супстрата у квантитативној анализи молекула малих маса (хомогеност дистрибуције кристала узорка на плочици, репродукцибилност методе, варијације у току једног дана и између дана, као и лимит детекције).

2. Оцена оригиналности научног рада

У овој докторској дисертацији приказана је детаљна анализа масених спектра молекула малих маса добијених у присуству нанокристала TiO_2 : TiO_2 наночестица, TiO_2 елипсоидних наночестица и TiO_2 нанотуба, с посебним освртом на могућност примене ових неорганских супстрата за квантификацију молекула малих маса. Како би се испитало да ли наведени неоргански супстрати имају предност у примени у односу на традиционалне, органске матрице, прво је приказана анализа масених спектра молекула малих маса добијених помоћу традиционалних, органских матрица. Коришћене су матрице које се најчешће користе у анализи молекула уз помоћ MALDI масене спектрометрије: 2,5-дихидроксибензоева киселина (DHB), 9-аминоакридин (9-AA), α -цијано-4-хидроксициметна киселина (CHCA) и 2',4',6'-трихидроксиацетофенон (THAP). Приказана је детаљна анализа масених спектра, под чиме се подразумева идентификација добијених сигнала који потичу од узорка, затим је испитана хомогеност дистрибуције узорка и матрице на MALDI плочи и прецизност методе, док је дескриптивна статистика приказана помоћу *Box and Whiskers* дијаграма.

На основу резултата који су добијени анализом спектра снимљених уз помоћ органских матрица, може се закључити да су оне погодне за анализу само одређених врста молекула и да се за различите врсте молекула морају користити различите матрице.

У другом делу дисертације је испитана употреба нанокристала TiO_2 различитих облика и димензија као супстрата за SALDI TOF масеноспектрометријску анализу молекула малих маса. Пре свега, окарактерисани су супстрати на бази нанокристала TiO_2 , како би се утврдила могућност њихове примене у зависности од облика и димензија. Морфолошки су окарактерисани нанокристали TiO_2 помоћу трансмисионе електронске микроскопије. Детаљно су анализирани њихови LDI TOF масени спектри, показан је и утицај интензитета ласера, као и утицај повећане концентрације неорганских соли на масене спектре нанокристала TiO_2 .

Идентификовани су сигнали у масеним спектрима који потичу од коришћених неорганских супстрата. Утврђено је да се они налазе углавном у масеној области испод

200 Da, што их чини подобним за анализу молекула малих маса, као што је и претпостављено. Такође, број сигнала у масеним спектрима самих супстрата се није значајно мењао након додатка неорганских соли, у случају ЕНЧ се чак број и смањивао, што је још један показатељ могућности испитиваних неорганских наносупстрата за анализу молекула биолошког порекла (у којима је концентрација неорганских соли повишена). На примеру спектра комплекса прелазних метала, (дихлоридо (*bis*-бипиридин))рутенијум(III)-хлорид и тетрахлоридо(бипиридин)платина(IV)) добијених у присуству TiO_2 НЧ и TiO_2 ЕНЧ, испитан је утицај неорганских соли на квалитет спектра узорака. Ни у том случају се није могла успоставити зависност квалитета спектра од концентрације неорганских соли. Овај део дисертације је експериментални доказ за тврдњу да су неоргански супстрати мање подложни утицају присуства неорганских соли.

У наредном делу, приказани су резултати испитивања квалитативних карактеристика спектра молекула малих маса добијених уз помоћ наночестичних супстрата. Показано је следеће:

- ⊕ TiO_2 НЧ и TiO_2 ЕНЧ су се показале као адекватни супстрати за молекуле којима је потреба повишена снага ласера за десорпцију/јонизацију. Сви молекули су детектовани као позитивни јони уз помоћ наведених наносупстрата, а њихово присуство је чак смањивало степен фрагментације.
- ⊕ Скоро сви анализирани молекула су детектовани као негативни јони у присуству TiO_2 НТ, а спектри су били веома једноставни за интерпретацију, пошто су садржали мали број сигнала. Са овим нанокристалима, такође, могу да се детектују позитивни јони анализираних молекула што омогућава потврду идентификованих негативних јона.

Затим је приказана анализа квантитативних карактеристика SALDI TOF масеноспектрометријске анализе молекула малих маса помоћу нанокристала TiO_2 : детаљно су анализирани спектри молекула малих маса који су добијени помоћу нанокристала TiO_2 (НЧ, ЕНЧ и НТ). Одређена је осетљивост методе (граница детекције молекула малих маса), хомогеност дистрибуције узорка/супстрата на плочи, прецизност методе и поновљивост мерења. На основу резултата детаљне статистичке анализе показан је потенцијал испитиваних нанокристала као супстрата за квантитативну

анализу молекула малих маса. Хомогеност је у највећем броју случајева била веома добра, што је основни предуслов за квантификацију, док је на основу анализе статистичких параметара показано да је прецизност мерења висока. Од испитиваних неорганских супстрата, најбољи резултати у смислу квантитативних параметара су добијени уз помоћ TiO_2 ЕНЧ, док су TiO_2 НТ дале добре резултате са појединим врстама молекула.

Оригиналноост и актуелност резултата из ове докторске дисертације потврђена је објављивањем четири научна рада у међународним часописима (три рада из категорије **M21** и јед рад из категорије **M22**). Из свега наведеног може се закључити да је поднета докторска дисертација резултат оригиналног научног рада кандидаткиње из области Неорганске хемије.

3. Преглед остварених резултата кандидата у области Неорганске хемије

Ива Поповић је до сада постигла значајне резултате у научно-истраживачком раду. Постигнути резултати су представљени у облику четири научна рада, три саопштења на међународним научним конференцијама и једног саопштења на националној научној конференцији.

3.1 Научни радови у међународним научним часописима

3.1.1. Iva Popović, Maja Nešić, Marija Nišavić, Mila Vranješ, Tamara Radetić, Zoran Šaponjić, Romana Masnikosa, Marijana Petković,

Suitability of TiO_2 nanoparticles and prolatenanospheroids for laser desorption and ionization mass spectrometric characterization of bipyridine-containing complexes,

Materials letters, 2015, **150**, 84-88.

ISSN/ISBN 0167-577X, DOI:10.1016/j.matlet.2015.03.004

M21

IF 2.437

3.1.2. Iva Popović, Maja Nešić, Mila Vranješ, Zoran Šaponjić, Marijana Petković,

TiO_2 nanocrystals - Assisted laser desorption and ionization Time-of-Flight mass spectrometric analysis of steroid hormones, amino acids and saccharides, Validation and comparison of methods,

RSC Advances, 2016, **6**, 1027-1036.

3.1.3. Iva Popović, Dubravka Milovanović, Jadranka Miletić, Mila Vranješ, Zoran Šaponjić, Marijana Petković,

Dependence of the quality of SALDI TOF MS analysis on the TiO₂ nanocrystals' size and shape,

Optical and quantum electronics, 2016, **48**, 1-6.

ISSN/ISBN 0306-8919, DOI: 10.1007/s11082-016-0413-5

3.1.4. Iva Popović, Maja Nešić, Mila Vranješ, Zoran Šaponjić, Marijana Petković,

SALDI-TOF-MS analyses of small molecules (citric acid, dexasone, vitamins E and A) using TiO₂ nanocrystals as substrates,

Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2016, **26**, 7481-7490.

ISSN/ISBN 1618-2642, DOI: 10.1007/s00216-016-9846-8

3.2 Саопштења на међународним научним конференцијама

3.2.1. Iva Popović, Maja Nešić, Zoran Šaponjić, Marijana Petković,

The interaction between variously shaped TiO₂ nanoparticles with UV laser determines the quality of the mass spectra of carbohydrates,

Photonica, Belgrade, Serbia, August 24-28, 2015, Book of abstracts, page 101.

3.2.2. Iva Popović, Maja Nešić, Zoran Šaponjić, Marijana Petković,

Comparison of the MALDI and TiO₂-assisted SALDI mass spectra of hormones and amino acids,

Journal of Chromatography and Separation Technique, 2015, page 102.

3.2.3. Iva Popović, Maja Nešić, Marija Nišavić, Marijana Petković,

Testing the best matrix/analyte combination for MALDI TOF mass spectrometric detection of steroid hormones, amino acids, vitamins and carbohydrates,

41st FEBS Congress, Molecular and Systems Biology for a Better Life, Ephesus/Kuşadası, Turkey, September 3-8, 2016, The FEBS Journal, page 166.

3.3 Саопштења на националним научним конференцијама

3.3.1. Iva Popović, Maja Nešić, Zoran Šaponjić, Marijana Petković,

Quantitative and qualitative comparison of mass spectra of vitamin E and A acquired with MALDI, SALDI and LDI TOF MS techniques,

53rd Meeting of the Serbian Chemical Society,

Kragujevac, Serbia, June 10-11, 2016, Book of abstracts, page 13.

4. Оцена испуњености обима и квалитета у односу на пријављену тему

Комисија је закључила да су сви задаци који су предвиђени приликом пријаве теме за израду докторске дисертације под насловом „Испитивање примене неорганских супстрата на бази нанокристала TiO_2 за детекцију и квантификацију малих молекула SALDI TOF масеном спектрометријом“ по обиму и квалитету добијених научних резултата у потпуности остварени, као и да резултати приказани у овој дисертацији представљају оригинални научни допринос.

5. Применљивост резултата у теорији и пракси

Резултати постигнути у оквиру ове докторске дисертације су производ оригиналног научног рада кандидаткиње из области Неорганске хемије и, посебно, у области примене нанотехнологије у аналитичкој хемији. Са теоријског аспекта, допринос дисертације је у сфери дизајна универзалног супстрата на бази TiO_2 нанокристала за MALDI TOF масену спектрометрију, пошто су испитани супстрати различитих димензија и облика. Стога, могуће је предвидети особине супстрата који ће се користити за анализу појединих врста молекула, што може постати допуна чисто емпиријском налажењу погодног супстрата. Што се практичне примене тиче, резултати упућују на могућност замене доскорашњих традиционалних, органских матрица у анализи молекула малих маса, метаболита, супстратима на бази наночестица.

6. Применљивост и корисност резултата у теорији и пракси

Резултати добијени у оквиру ове дисертације представљају значајан напредак у испитивању могућности примене супстрата на бази нанокристала TiO_2 у масеноспектрометријској анализи молекула малих маса и могу бити корисни у пракси и у теоријским истраживањима.

У пракси, детекција и квантификација појединих, биолошки значајних молекула малих маса, може бити олакшана коришћењем појединих наночестица испитаних у оквиру експерименталног рада. Јасна је могућност примене на биолошке узорке, пошто се не захтева њихово пречишћавање, тј. уклањање неорганских соли. Практична примена резултата је очигледна у медицини, фармацији, биологији, биотехнологији, пољопривреди, али и у неким гранама индустрије.

С друге стране, примена супстрата, који су по својим особинама полупроводници, може помоћи теоретичарима у разјашњавању механизма десорпције и јонизације, што је од великог значаја, пошто овај механизам није разјашњен још од открића MALDI масене спектрометрије.

7. Начин презентирања резултата научној јавности

Научни доприноси ове докторске дисертације су потврђени публикавањем научних резултата у облику **четири научна рада** у познатим међународним часописима (три рада из категорије **M21** и један рад из категорије **M22**), као и већег броја саопштења на научним конференцијама.

Докторска дисертација је написана на 128 страна и садржи 24 слика, 30 табела и 189 литературна податка. Дисертација је подељена на **Извод, Summary, Скраћенице и ознаке, Увод (1-3), Општи део (4-29), Задатак рада (30), Експериментални део (31-37), Резултате и дискусију (38-116), Закључак (117-118) и Литературу (119-127)**. Поред тога, дисертација садржи списак радова и биографију кандидаткиње, као и прилог, тј. абстракте радова у којима су штампани резултати докторске дисертације.

Такође, резултати ће бити презентовани и на јавној одбрани докторске дисертације, након прихватања овог извештаја од стране Наставно-научног већа Природно-математичког факултета и Већа за природно-математичке науке Универзитета у Крагујевцу.

ЗАКЉУЧАК

Поднети рукопис докторске дисертације **Иве Поповић** под насловом:

„ИСПИТИВАЊЕ ПРИМЕНЕ НЕОРГАНСКИХ СУПСТРАТА НА БАЗИ НАНОКРИСТАЛА TiO₂ ЗА ДЕТЕКЦИЈУ И КВАНТИФИКАЦИЈУ МАЛИХ МОЛЕКУЛА SALDI TOF МАСЕНОМ СПЕКТРОМЕТРИЈОМ“

урађене под менторством др Маријане Петковић, представља оригинални научни допринос изучавању из области неорганске хемије. Докторска дисертација обухвата испитивање могућности коришћења неорганских супстрата на бази нанокристала TiO₂ за квалитативну и квантитативну анализу молекула малих маса: аминокселина (L-цистеин, L-аланин, DL-метионин), трипептида глутатион, полних стероидних хормона (естрадиол, тестостерон, прогестерон), угљених хидрата (D-(+)-глукоза, D-(+)-малтозе, рафинозе, арабинозе, β-циклодекстрин), лимунске киселине, дексаметазона (дексазон) и витамина (витамин А и витамин Е) и комплекса прелазних метала, као потенцијаних антитуморских агенаса. Сматрамо да су добијени резултати јасно показали предност коришћења супстрата на бази неорганских наночестица у MALDI TOF масеној спектрометрији молекула малих маса у односу на органске матрице. Такође, резултати представљају значајан допринос масеноспектрометријској квалитативној и посебно квантитативној аналитици молекула малих маса и могу допринети бољем разумевању процеса десорпције и јонизације.

С обзиром на то да су добијени резултати објављени у оквиру **четири научна рада** у познатим међународним часописима (три рада из категорије **M21** и један рад из категорије **M22**), 3 саопштења на међународним научним конференцијама и једног на националној научној конференцији, оригиналност и научни допринос добијених резултата су неспорни.

Имајући у виду претходно наведене чињенице сматрамо да су испуњени сви услови за прихватање наведене докторске дисертације као оригиналног научног рада. Стога предлажемо Наставно-научном већу Природно-математичког факултета и Већу за природно-математичке науке Универзитета у Крагујевцу да кандидату **Иви Поповић** одобри јавну одбрану *докторске дисертације* под наведеним насловом.

У Крагујевцу,
20.10.2016.

К о м и с и ј а



1. Проф. др Живадин Д. Бугарчић, редовни професор, председник комисије
Природно-математички факултет, Крагујевац
Ужа научна област: Неогранска хемија



2. Проф. др Биљана Петровић, ванредни професор
Природно-математички факултет, Крагујевац
Ужа научна област: Неогранска хемија

3. др Зоран Шапоњић, научни саветник
Институт за нуклеарне науке „Винча“, Универзитет у Београду
Ужа научна област: Наноматеријали

