

ОТЗЫВ

**официального оппонента о диссертации Иванова Романа Александровича
«Коллоидно-химические свойства смесей лизоцим – ПАВ
в системе водный раствор/октан»,
представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук
по специальности**

02.00.11 – коллоидная химия

Диссертационная работа Иванова Романа Александровича посвящена вопросам теории и практики адсорбции глобулярных белков на межфазной границе двух несмешивающихся жидкостей в присутствии комплексообразующих поверхностно-активных веществ (ПАВ) и распределению компонентов между жидкими фазами.

Оценивая актуальность избранной темы, необходимо сказать следующее.

Межфазные адсорбционные слои биополимеров, в том числе белков, самоорганизующиеся на границе двух несмешивающихся жидкостей, являются отдельным объектом исследований химии поверхностных явлений. В процессе адсорбции макромолекул белков на межфазных границах и их взаимодействии в тонком слое появляется возможность квазидвумерного фазового разделения и формирования лиофилизированных структур, обладающих прочностью и вязкоупругими свойствами. Термодинамические и реологические свойства таких слоев могут направленно изменяться при введении низкомолекулярных ПАВ, способных к комплексообразованию с белком. Состав и свойства поверхностно-активных комплексов белок–ПАВ, конформационные переходы макромолекул при комплексообразовании определяют структуру и поведение межфазных адсорбционных слоев.

Интерес к подобным межфазным слоям (как модельным системам) обусловлен их уникальными стабилизирующими свойствами в эмульсионных системах различного состава и назначения. Проблема устойчивости дисперсных систем по-прежнему остается одной из основных проблем современной коллоидной химии. Эмульсии, стабилизированные смесями белка с ПАВ, широко используются в различных технологиях и отраслях промышленности, таких как пищевая, косметологическая, фармацевтическая промышленность, в биотехнологических производствах.

Поэтому исследования, связанные с выяснением механизма формирования межфазных адсорбционных слоев в многокомпонентной гетерофазной системе и

изучением влияния различных факторов на их состав, структуру и стабилизирующие свойства, безусловно, являются востребованными и актуальными.

Хорошо известно, что белки с уникальной аминокислотной последовательностью, содержащей кислотные и основные группы, и ионные низкомолекулярные ПАВ при взаимодействии способны к образованию комплексов различного состава – гидрофобизированных и гидрофилизированных – в зависимости от условий образования. Состав и свойства комплексов, формирующихся в результате электростатических и гидрофобных взаимодействий в объеме водной фазы (при недостатке и при избытке ПАВ), определяют структурные и стабилизирующие свойства межфазных адсорбционных слоев на жидких границах раздела фаз и системы в целом.

Очевидно, что в большинстве своем работы, опубликованные в этой области в последнее время, посвящены слоям на границе водный раствор/воздух. На границе двух жидких фаз – водный раствор/углеводород – формирование межфазных адсорбционных слоев помимо адсорбции, ориентации макромолекул на поверхности и установления межчастичных контактов включает процессы распределения компонентов между несмешивающимися фазами и межфазным слоем, солюбилизации углеводорода, который зачастую входит составной частью в межфазный слой. И до сих пор не сформировано единое понимание закономерностей самоорганизации слоев, что отчасти связано с уникальностью и специфичностью каждой белковой системы.

Структура и свойства межфазных слоев высокомолекулярных соединений (белков), комплексообразование белков с полиэлектролитами, полисахаридами, липидами и низкомолекулярными ПАВ как способ влияния на поверхностные свойства растворов белка – научное направление, которое развивается в течение последних нескольких десятилетий на кафедре коллоидной химии Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова. Всемирно известны труды научной группы под руководством профессора В.Н. Измайловой (*В.Н. Измайлова, Г.П. Ямпольская, З.Д. Туловская // Коллоидный журнал. 1998, 60(5), 598-612*), а затем Г.П. Ямпольской.

Рассматриваемая диссертационная работа Иванова Романа Александровича является логическим продолжением этих исследований. К сожалению, соискатель практически не использовал результаты, полученные вышеупомянутой научной группой, для описания проблемы в литературном обзоре и, соответственно, не дал необходимые ссылки в списке литературы.

Цель диссертационной работы заключалась в установлении механизмов адсорбции и распределения смесей лизоцима и ПАВ различной природы в системе двух несмешивающихся жидкостей, а также в установлении влияния взаимодействий белка и ПАВ на коллоидно-химические свойства систем водная смесь лизоцима с ПАВ/октан.

Кандидатская диссертация состоит из введения, трех глав, выводов и библиографии и восьми приложений. Содержание работы изложено на 127 страницах, содержит 54 рисунка и 6 таблиц. Библиография включает 217 наименований литературных источников.

Рассмотрим далее основные научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в работе Р.А. Иванова, их новизну и степень обоснованности.

1) В работе подробно изучена адсорбция (при установлении адсорбционного равновесия) ферментативного белка лизоцима и ПАВ из водной фазы на границе вода/октан в широком диапазоне концентраций компонентов. В качестве поверхностно-активных веществ использованы: катионное ПАВ – додецилтриметиламмоний бромид (DTAB), анионное ПАВ – додецилсульфат натрия (SDS) и цвиттерионное ПАВ – кокоамидопропил бетаин (CAPB). Для исследований применяли метод сцинтиллирующей фазы с использованием меченых тритием веществ.

Показано влияние ПАВ на величину адсорбции лизоцима. Найдено, что в области низких концентрации ПАВ адсорбция увеличивается по сравнению с «чистым» лизоцимом, а в области высоких концентраций ПАВ – уменьшается, что связано с формированием поверхностно-активного комплекса белок-ПАВ различного состава.

Использование метода сцинтиллирующей фазы позволило соискателю определить состав межфазного адсорбционного слоя. В качестве значимого результата, полученного в диссертации, следует отметить доказательства того, что смешанные адсорбционные слои лизоцима с ПАВ обогащены ПАВ. Всегда наряду с комплексами белок-ПАВ в слое присутствуют молекулы ПАВ. Показано, что мольная доля ПАВ возрастает в ряду DTAB<SDS<CAPB.

2) В диссертационной работе методом сцинтиллирующей фазы впервые получены количественные характеристики распределения лизоцима и ПАВ между двумя жидкими фазами (водной и углеводородной), находящимися в равновесии. Показано, что коэффициент распределения ($D = C_{oil}/C_{water}$) для лизоцима увеличивается в присутствии небольшого количества ПАВ (при низком мольном соотношении ПАВ:белок), при высоком содержании ПАВ коэффициент распределения понижается. Аналогичное влияние оказывает присутствие

лизоцима на распределение анионного (SDS) и катионного (DTAB) ПАВ. Совместный анализ полученных коэффициентов распределения, а также данных по адсорбции и межфазному натяжению, с учетом размеров частиц в водной фазе позволил соискателю определить концентрационные диапазоны формирования гидрофобизированных комплексов лизоцим-ПАВ, растворимых в углеводороде, и гидрофилизированных комплексов, растворимых преимущественно в воде. Автор проанализировал изотермы поверхностного натяжения в рамках модели конкурентной адсорбции белка и ПАВ, развитой в работах Файнермана (V.V. Fainerman).

Обоснованы модели, описывающие состав смешанных межфазных адсорбционных слоев лизоцима с анионным ПАВ, с катионным ПАВ, а также с цвиттерионным ПАВ. Определен стехиометрический состав гидрофобизированного комплекса лизоцим-ПАВ.

3) Автором разработан и предложен метод получения меченого тритием цвиттерионного ПАВ (CAPB). Это позволило исследовать адсорбцию CAPB на границе вода/октан в присутствии лизоцима и определить коэффициенты распределения этого ПАВ между водной и углеводородной фазы при взаимодействии с белком. Предложенный метод может служить основой для получения различных новых образцов ПАВ, пригодных для их исследования методом сцинтиллирующей фазы.

Таким образом, работа содержит новые научные результаты, которые дают основания представить диссертацию Р.А. Иванова по специальности 02.00.11 коллоидная химия. При этом работа полностью соответствует паспорту специальности 02.00.11 коллоидная химия – объектом исследования являются межфазные адсорбционные слои и смеси белка с ПАВ; методы, использованные в работе, направлены на формирование равновесных систем водная смесь белка с ПАВ/межфазный адсорбционный слой/углеводород, на изучение их структуры и свойств. Выбранная область исследования включает изучение стабилизирующих свойств композиций биополимера (белка) с ПАВ и основ поведения биополимеров и поверхностно-активных веществ на жидких границах раздела фаз. Диссертационная работа Р.А. Иванова содержит новые научные результаты, имеющие теоретическую и практическую значимость. Научные положения, выводы и рекомендации, представленные в работе, достоверны и обоснованы.

При обсуждении работы, наряду с высказанными выше замечаниями, хотелось бы обратить внимание на следующее.

1. В диссертации рассмотрено распределение компонентов между двумя жидкими фазами. Очевидно, что при установлении равновесия транспорт белка и

ПАВ, а также их комплексов из водной фазы в углеводородную протекает через межфазный адсорбционный слой, включая процессы адсорбции и десорбции. Почему бы не рассмотреть распределение компонентов между сосуществующими тремя фазами, рассматривая межфазный слой в качестве самоорганизовавшейся третьей фазы? Зная адсорбцию и оценив толщину слоя, несложно рассчитать в нем концентрацию компонентов, а затем коэффициенты распределения.

2. При введении тритиевой метки в белок и ПАВ остается вопрос: не изменяются ли при этом поверхностно-активные и комплексообразующие свойства этих веществ?

3. По-видимому, для более точного описания полученных закономерностей (например, при описании схем адсорбции, рис. 15-17 автореферата и рис. 52-54 диссертации) лучше было бы использовать не концентрации ПАВ, а концентрационное/молярное соотношение ПАВ:белок.

4. В диссертационной работе для определения стехиометрического состава гидрофобизированного комплекса использовались косвенные методы. Думается, было бы полезным подтвердить эти данные экспериментальными методами, позволяющими непосредственно изучать взаимодействия белка с ПАВ при комплексообразовании.

5. Не могу не остановиться на нескольких замечаниях в отношении представления результатов и оформления работы. К сожалению, автор не всегда указывает размерности величин, приведенных в таблицах (*диссертация стр. 89, таблица 4; стр.130-135, таблицы 3-8*). В некоторых случаях неправильно приводятся подписи осей ординат на рисунках (*диссертация: стр.59, рис. 14; стр. 61, рис. 17; стр. 64, рис. 18; стр. 65, рис. 19. Автореферат: стр. 8, рис. 1; стр. 9, рис. 2, 3; стр. 10, рис. 4*). При изображении схем адсорбции следовало бы изобразить комплекс в межфазном слое таким образом, чтобы гидрофильные группы связанного ПАВ были ориентированы в водную фазу (*диссертация: стр. 105, рис. 52; стр. 106, рис. 53. Автореферат: стр. 21, рис. 15; стр. 22, рис. 16*).

Перечисленные замечания не снижают общего, весьма благоприятного впечатления от рецензируемой диссертационной работы.

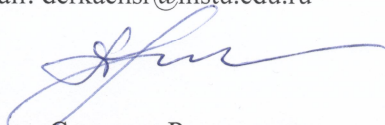
Автореферат диссертации полно отражает ее содержание, а личный вклад автора подтверждается необходимым числом публикаций в журналах, рекомендованных ВАК для публикации работ, обсуждающих содержание кандидатских диссертаций. Публикации адекватно отражают результаты, вошедшие в диссертацию, они неоднократно докладывались на различных российских и международных научных конференциях.

На основании приведенных выше соображений необходимо заключить, что диссертационная работа Р.А. Иванова по актуальности, научной новизне и практической значимости полностью отвечает требованиям п.9 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», предъявляемым к диссертациям, представляемым на соискание ученой степени кандидата наук. Она является научно-квалификационной работой, имеющей существенное значение для коллоидной химии. В работе получены новые экспериментальные данные и разработаны подходы в области поверхностных явлений (межфазных адсорбционных слоев), которые в совокупности представляют собой научное достижение в актуальной области исследований.

Автор работы – Роман Александрович Иванов заслуживает присуждения ему ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.11 – коллоидная химия.

Официальный оппонент

Доктор химических наук, профессор
Заведующий кафедрой химии ФГОУ ВПО
«Мурманский государственный технический университет» (МГТУ)
Тел.: +7 8152 40333
e-mail: derkachsr@mstu.edu.ru



Деркач Светлана Ростиславовна

25 февраля 2015 г.

Подпись официального оппонента доктора химических наук, профессора
Деркач Светланы Ростиславовны подтверждаю,

Ученый секретарь Ученого совета МГТУ



Пронина Т.В.