

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора химических наук, профессора Ермолаевой Татьяны Николаевны на диссертационную работу Севко Дарьи Анатольевны «Концентрирование и определение фитостероидов с помощью молекулярно-импринтированных сорбентов и tandemной масс-спектрометрии высокого разрешения», представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 – «Аналитическая химия»

В настоящее время лекарственные препараты из растительного сырья находят широкое применение для лечения различных заболеваний, что обусловлено их малой токсичностью и высокой физиологической активностью. Для определения физиологически активных компонентов, в частности, фитостероидов рекомендованы флуоресцентный и радиоиммунный методы анализа в сочетании с ВЭЖХ, а также методы ВЭЖХ-ЯМР и ВЭЖХ-МС. Как правило, надежная идентификация и определение фитостероидов требуют селективного выделения соединений этого класса на стадии пробоподготовки. К настоящему времени описаны многостадийные способы извлечения и концентрирования фитостероидов методом жидкостной экстракции, требующие больших затрат времени и реактивов, а также методы препаративного хроматографического разделения, характеризующиеся невысоким выходом целевых компонентов. Поэтому диссертационная работа Севко Дарьи Анатольевны «Концентрирование и определение фитостероидов с помощью молекулярно-импринтированных сорбентов и tandemной масс-спектрометрии высокого разрешения», направленная на создание способов идентификации и определения фитостероидов в растительных экстрактах и лекарственных препаратах методом ВЭЖХ-tandemная масс-спектрометрия высокого разрешения без предварительного препаративного разделения или после группового концентрирования аналитов методом твердофазной экстракции с применением молекулярно-импринтированных сорбентов, **является актуальной в теоретическом и практическом плане.**

В диссертационной работе Севко Д.А. можно четко выделить две позиции:

- в результате изучения масс-спектрометрических характеристик фитостероидов с использованием стандартных образцов известной структуры (экдистена и туркестерона) методом tandemной масс-спектрометрии высокого разрешения и схем фрагментации фитостероидов предложен алгоритм идентификации фитостероидов в растительных экстрактах;

- обоснован способ получения молекулярных отпечатков фитостероидов на поверхности наночастиц TiO_2 с нанесенным золь-гель методом слоя диоксида титана и показаны преимущества сорбентов с молекулярными отпечатками эхдистена или его комплекса с 3-аминофенилборной кислотой для твердофазной экстракции и группового концентрирования фитостероидов из растительных экстрактов и лекарственных препаратов.

Научная новизна работы обусловлена следующим положением.

Установлены характеристические переходы для определения фитостероидов, подтверждены схемы их фрагментации при ионизации электроспреем, позволившие разработать алгоритм идентификации соединений класса фитостероидов в растительных экстрактах и фармпрепаратах на основе серпухи венценосной и левзеи без предварительного препаративного разделения и применения большого количества стандартных образцов.

Исследованы условия формирования отпечатков фитостероидов в системе матрица - подложка и показано, что воспроизводимость отпечатков и импринтинг - фактор возрастают при комбинации жесткой матрицы и конформационно жесткой подложки. Показано преимущество сорбентов, полученных методом молекулярного импринтинга эхдистена на основе наночастиц TiO_2 с нанесенным золь-гель методом слоя диоксида титана.

Диссертационная работа изложена на 131 стр. машинописного текста, содержит 46 рисунков, 7 схем и 29 таблиц. Работа имеет традиционное построение и состоит из введения, 2 глав обзора литературы, 2 глав экспериментальной части, выводов и списка цитируемой литературы (131 наименование).

В обзоре литературы (глава 1) рассмотрены методы поверхностного импринтинга и современные методы определения фитостероидов. Убедительно показаны достоинства методов поверхностного молекулярного импринтинга, в частности, в полиэлектролитные мультислой и на поверхности неорганических носителей (силикагеля, магнитных частиц и диоксида титана), обеспечивающие высокие значения степени импринтинга различных соединений. Обсуждены достоинства и недостатки хроматографических методов определения фитостероидов. Рассмотрены существующие подходы к идентификации и подтверждению структуры новых соединений класса фитостероидов. В целом обзор литературы дает достаточно подробное представление об известных к настоящему времени методах определения фитостероидов. Диссертант демонстрирует способность к квалифицированному обсуждению литературных данных, планированию и обоснованию задач исследования.

Глава 2 (Экспериментальная часть) включает описание реактивов и оборудования, используемых при выполнении работы, а также методик

получения молекулярно импринтированных полимерных слоев на различных носителях.

Результаты исследования изложены в *главе 3*, включающей описание процессов получения масс-спектрометрических характеристик стандартов фитостероидов и ВЭЖХ-МС/МС-определения фитостероидов в растительных экстрактах и препаратах, обоснование условий экспрессной идентификации соединений класса. Существенное внимание уделено исследованию условий поверхностного импринтинга фитоэкидистероидов в полиэлектролитные мультислой или слои белка, а также оболочку на основе полученного золь-гель методом слоя диоксида титана на поверхности наночастиц TiO_2 , характеризующуюся большей стабильностью молекулярного отпечатка, что связывается автором с увеличением конформационной жесткости матрицы. Показано, что существенное увеличение степени импринтинга фитоэкидистероидов наблюдается при применении в качестве темплата комплекса экидистена с 3-аминофенилборной кислотой. Молекулярно-импринтированные сорбенты на основе наночастиц TiO_2 использованы для создания картриджей для селективного извлечения фитоэкидистероидов из растительного экстракта методом твердофазной экстракции.

По результатам ознакомления с работой можно высказать ряд замечаний:

1. Результаты анализа растительных препаратов методом ВЭЖХ-МС/МС (табл. 4 и 5) представлены только значением содержания фитостероида с доверительным интервалом, однако величины относительного стандартного отклонения не приводятся. Также отсутствуют результаты проверки правильности способа определения, с чем это связано?
2. Образование воспроизводимых молекулярных отпечатков фитостероидов автор связывает с оптимальной комбинацией «конформационно жесткой матрицы» и «конформационно жесткой подложки». Влияет ли на стабильность молекулярных отпечатков химический состав матрицы?
3. В диссертации (стр. 73) сказано, что «после удаления темплата из полимерной структуры в ней остается полость, по форме и размеру соответствующая темплату (отпечаток)». Однако в этом определении не отражено одно из главных свойств молекулярного отпечатка – он должен отвечать темплату по химической функциональности, поскольку это обеспечивает селективность его взаимодействия с молекулой темплата. Из диссертации не ясен характер взаимодействия матрицы и темплата, за счет каких связей происходит повторное связывание молекулярно-импринтированных слоев с фитоэкидистероидами?

Сделанные замечания не снижают высокой положительной оценки работы в целом.

Общее впечатление о диссертационной работе Севко Д.А. несомненно положительное, результаты исследований отражены в 3 статьях в рецензированных научных журналах, входящих в перечень ВАК, 5 тезисах докладов на конференциях различного уровня. Научные положения и заключения, сформулированные в диссертации, обоснованы и базируются на большом объеме экспериментальных исследований, выполненных на современном аналитическом оборудовании, поэтому сомнений не вызывают.

Диссертационная работа Севко Д.А по объему, актуальности и научной новизне, практической значимости и публикациям по материалам экспериментальных исследований отвечает п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» (утверждено постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присвоения ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 – аналитическая химия.

Ермолаева Татьяна Николаевна, д.х.н., профессор
ФГБОУ ВПО
«Липецкий государственный технический университет»,
профессор кафедры химии
398600, г. Липецк, ул. Московская, 30;
Телефон: (4742)328131; e-mail – ermolaeva@stu.lipetsk.ru



10.04.2016 г.

Подпись д.х.н., проф. Ермолаевой Т.Н. заверяю
Нач. отдела делопроизводства, архива и контроля за исполнением документов ЛГТУ
Алексеева Л. А.

A large, stylized handwritten signature in blue ink is written across the bottom of the page, overlapping the text of the official's name.

Сведения об официальном оппоненте
(Согласие на оппонирование)

Я, Ермолаева Татьяна Николаевна, согласна быть официальным оппонентом по диссертационной работе Севко Дарьи Анатольевны на тему «Концентрирование и определение фитостероидов с помощью молекулярно-импринтированных сорбентов и тандемной масс-спектрометрии высокого разрешения», предоставленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 – Аналитическая химия.

О себе сообщаю:

Ученая степень: доктор химических наук

Шифр и наименование специальности: 02.00.02 – Аналитическая химия

Ученое звание: профессор

Должность: профессор ФГБОУ ВПО «Липецкий государственный технический университет»

Место и адрес работы: ФГБОУ ВПО «Липецкий государственный технический университет»

398600, Россия, г. Липецк, ул. Московская, д.30

Телефон (4742)328131

Адрес электронной почты etn@stu.lipetsk.ru

Адрес места жительства (регистрация):

398025, Г.Липецк, ул. Индустриальная, 3а, кв.15

Паспорт: серия 42 02 761162, выдан Советским ОМ УВД г. Липецка

Страховое свидетельство ГПС №039-190-553-65

Опубликованные работы по специальности оппонируемой диссертации:

1. Т.Н. Ермолаева Е.Н. Калмыкова. Возможности пьезокварцевых иммуносенсоров для выявления инфекций и ранней клинической диагностики. В кн. Химический анализ в медицинской диагностике. Т.11. Проблемы аналитической химии/Отделение химии и наук о материалах РАН. - М. Наука, 2010. С.212-243.
2. Т.Н. Ермолаева, Е.Н. Калмыкова, Ю.В. Нартова. Аналитические возможности пьезокварцевых биосенсоров. В кн. Биохимические методы анализа. Т.12. Проблемы аналитической химии/Отделение химии и наук о материалах РАН. - М. Наука, 2010. С.277-303.
3. Tatyana Ermolaeva and Elena Kalmykova. Capabilities of Piezoelectric Immunosensors for Detecting Infections and for Early Clinical Diagnostics: In book "Advances in immunoassay Technology"/ Edited by Norman H.L. Chiu and Theodore K. Christopoulos. - 2012. Published by InTech (Croatia). ISBN 979-953-307-304-9.
4. Т.Н. Ермолаева, О.В. Воронежцева. Иммунохимические методы определения остаточных количеств лекарственных веществ в пищевых продуктах. В кн. Фармацевтический анализ. - Изд-во "Аргмак-Медиа", 2013. - С. 470-495.
5. Т.Н. Ермолаева, Е.Н. Калмыкова. Пьезокварцевые сенсоры: аналитические возможности и перспективы. - Липецк: ЛГТУ, 2007, 190 с.
6. Ермолаева Т.Н., Калмыкова Е.Н. Пьезокварцевые иммуносенсоры. Аналитические возможности и перспективы // Успехи химии, 2006. том .75.-№5.- С.445-459.

7. Ермолаева Т.Н., Калмыкова Е.Н., Шашканова О.Ю. Пьезокварцевые биосенсоры для анализа объектов окружающей среды, пищевых продуктов и для клинической диагностики. // Рос. хим. журн. 2008. Т. LII, N 2. С. 17-29.
8. Karaseva N.A., Ermolaeva T.N. Piezoelectric immunosensor for the detection of chloramphenicol in food//Talanta, 2012. том . 93, P. 44-48
9. Шашканова О.Ю., Мелихова Е.В., Ермолаева Т.Н. Амплификация сигнала пьезокварцевого иммуносенсора на основе каликс[6]арена для определения С-реактивного белка с помощью наночастиц золота// Сорбционные и хроматографические процессы, 2013. Т.13, №5. С. 720-727.
10. Соболева И.Г., Карасева Н.А., Ермолаева Т.Н. Массочувствительные сенсоры для определения антибиотиков на основе полимеров с молекулярными отпечатками, полученными методом электрохимической полимеризации// Сорбционные и хроматографические процессы, 2013. Т.13, №1. С. 5-9.10.
11. N.A. Karaseva, , T.N. Ermolaeva. Piezoelectric immunosensors for the detection of individual antibiotics and the total content of penicillin antibiotics in foodstuffs. Talanta Volume 120, March 2014, Pages 312–317.
12. Ермолаева Т.Н., Чернышова В.Н., Чеснокова Е.В., Бессонов О.И. Пьезокварцевые сенсоры на основе полимеров с молекулярными отпечатками - формирование распознающего слоя на поверхности электрода сенсора// Сорбционные и хроматографические процессы, Т.15, №2. С. 151-167.
13. Ермолаева Т.Н., Чернышова В.Н., Бессонов О.И. Микро- и наночастицы полимеров с молекулярными отпечатками – синтез, характеристика и применение в пьезокварцевых сенсорах// Сорбционные и хроматографические процессы, 2015. Т.15, №3. С. . 345 - 365.
14. Nadezhda Karaseva&Tatyana Ermolaeva. A regenerable piezoelectric immunosensor on the basis of electropolymerized polypyrrole for highly selective detection of Staphylococcal Enterotoxin A in foodstuffs// Microchim Acta, 2015. Volume 182, Issue 7-8, pp 1329-1335.
15. Nadezhda A. Karaseva , Olga V. Farafonova, Tatyana N. Ermolaeva. Highly sensitive detection of okadaic acid in seafood products via the unlabeled piezoelectric sensor// Food Analytical Methods, published online 9 October 2015: DOI 10.1007/s12161-015-0332-2
16. Nadezhda Karaseva, Tatyana Ermolaeva and Boris Mizaikoff. Piezoelectric sensors using molecularly imprinted nanospheres for the detection of antibiotics//Sensors and Actuators B. Volume 225, 31 March 2016, Pages 199–208.
17. Elena Don., Olga Farafonova, Suzanna Pokhil, Darya Barykina, Marina Nikiforova, Darya Shulga, Alena Borshcheva, Sergey Tarasov, Tatyana Ermolaeva and Oleg Epstein. Use of piezoelectric immunosensors for detection of interferon- gamma interaction with specific antibodies in the presence of released-active forms of antibodies to interferon-gamma// Sensors 2016, 16(1), 96.

Профессор, д.х.н.

Т.Н. Ермолаева

Подпись д.х.н., проф. Ермолаевой Т.Н. заверяю

Нач. отдела делопроизводства, архива и контроля за исполнением документов ЛГТУ

Алексеева Л. А.



ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ЛИПЕЦКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
(ЛГТУ)

Московская ул., д. 30, Липецк, 398600.

Тел.: (4742) 31-15-28, 32-80-00, факс (4742) 31-04-73, E-mail: mailbox@stu.lipetsk.ru

ОКПО 02069875, ОГРН 1024840843631, ИНН/КПП 4826012416/482601001

02.03.2016 № 11-241/1106

На № _____

« _____ » _____ 2016 г.

Председателю совета Д 501.001.88.
по защите диссертаций на соискание
ученой степени кандидата наук, на
соискание ученой степени доктора
наук, заведующему кафедрой
аналитической химии, академику
ЗОЛОТОВУ Ю.А

Я, Ермолаева Татьяна Николаевна, согласна быть официальным оппонентом по диссертационной работе Севко Дарьи Анатольевны на тему «Концентрирование и определение фитостероидов с помощью молекулярно-импринтированных сорбентов и тандемной масс-спектрометрии высокого разрешения», предоставленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 – Аналитическая химия.

Профессор, д.х.н.



Т.Н. Ермолаева