

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу Д.А.Севко «*Концентрирование и определение фитостероидов с помощью молекулярно-импринтированных сорбентов и тандемной масс-спектрометрии высокого разрешения*», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 – Аналитическая химия.

Диссертационная работа Севко Д.А. посвящена разработке методов анализа некоторых видов фитостероидов с использованием концентрирования с помощью молекулярно-импринтированных сорбентов и детектирования тандемной масс-спектрометрией высокого разрешения с ионизацией электрораспылением.

Актуальность направления исследований диссертанта обусловлена как выбранными объектами исследования, так и использованными для выполнения работы методами. Известно, что фитостероиды играют огромную роль в жизнедеятельности растений, обеспечивая протекание различных процессов их метаболизма и защиту от вредителей. Активно развивается и применение этих соединений в качестве лекарственных средств и биологически-активных добавок. Поэтому потребность в разработке подходов к их обнаружению и идентификации, что из-за низких концентраций этих соединений в природных объектах подразумевает и создания микрометодов их выделения, крайне велика. Применение для решения этой задачи новейшей техники - тандемных масс-спектрометров высокого разрешения - обеспечивает недостижимые другими методами пределы обнаружения и резко увеличивает вероятность идентификации целевых соединений. Использование же поверхностного импринтинга позволяет получать сорбенты с крайне высокой селективностью сорбции.

Степень обоснованности, достоверности и новизны научных положений, выводов, рекомендаций и заключений. Достоверность полученных результатов подтверждается применением комплекса современных физико-химических методов исследования, получением воспроизводимых экспериментальных данных, не противоречащих современным научным представлениям и закономерностям. Полученный массив масс-спектральных данных высокого разрешения квалифицированно обработан. На основе его анализа сделаны оригинальные выводы об основных направлениях фрагментации ионов, образующихся при ионизации изучаемых соединений электрораспылением в присутствии муравьиной кислоты, что позволило разработать ранее не описанный алгоритм их экспрессного обнаружения в сложных матрицах. Обширное исследование возможности использования поверхностного импринтинга при создании селективных сорбентов для концентрирования целевых аналитов проведено на основе современных подходов к применению этого метода. Полученные результаты позволили выбрать наиболее оптимальный способ получения такого сорбента и создать картриджи для проведения ГФЭ изучаемого класса соединений. Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сделанных в работе, подтверждается публикациями соискателя в рецензируемых научных журналах и докладами на международных и всероссийских научных конференциях. Основные положения и выводы, представленные в диссертационной работе, не вызывают сомнений.

Значимость результатов диссертационной работы для науки и практики. Научная значимость работы заключается в развитии общих представлений о закономерностях фрагментации ионов, индуцируемой высокоэнергетическими соударениями, а также фундаментальных основ применения поверхностного импринтинга для создания селективных сорбентов. Разработанные автором методики могут быть использованы для обнаружения, идентификации и количественного определения различных экдизонов как в

растительных матрицах, так и в продуктах получения лекарственных средств и БАД.

Общая характеристика диссертационной работы. Диссертационная работа Д.А.Севко построена традиционно и состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, обсуждения результатов, выводов, списка литературы, включающего 131 источник. Материал диссертационной работы изложен на 131 странице, содержит 38 рисунков, 7 схем и 28 таблиц.

Собственным результатам автора предшествует обстоятельный литературный обзор, состоящий из двух разделов. В нем подробно описаны методы поверхностного импринтинга, а также способы определения фитостероидов различными физико-химическими методами. Литературный обзор вполне обосновывает выбор темы диссертационной работы.

Вторая глава работы посвящена описанию условий проведения экспериментов, режимов работы оборудования и использованных в работе реагентов и расходных материалов.

В третьей главе автор излагает результаты работы. Первая часть этой главы содержит сведения о разработке методики качественного и количественного анализа смесей изучаемых соединений с помощью тандемной масс-спектрометрии высокого разрешения. Автором показано, что в условиях ионизации электрораспылением наименьшие пределы обнаружения целевых аналитов достигаются при регистрации отрицательных ионов. Дальнейшая высокоэнергетическая активация соударением образующихся в ходе ионизации депротонированных ассоциатов аналитов с молекулами муравьиной кислоты приводит к образованию серии характеристичных ионов, которые могут быть использованы при анализе смесей подобных соединений с использованием регистрации выбранных реакций (MRM). Этот подход применен автором при качественном и количественном анализе реальных смесей фитостероидов.

Вторая часть третьей главы посвящена подбору оптимальной системы для поверхностного импринтинга экдизонов. Автором проводится систематический анализ возможности использования всех современных вариантов таких систем и делается вывод о наиболее подходящей системе на основе оксида титана IV. В третьей части показано, что использование импринтированных сорбентов на основе двуокиси титана позволяет разрабатывать экспрессные и селективные методики извлечения изучаемых соединений с помощью твердофазной экстракции.

В целом работа представляет собой завершенное оригинальное научное исследование, тематика которого и полученные результаты соответствуют заявленной специальности 02.00.02 - Аналитическая химия. Основное содержание диссертации опубликовано в трех статьях в журналах, рекомендованных ВАК для публикации материалов кандидатских и докторских диссертаций. Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

Замечания и вопросы по диссертационной работе не носят принципиального характера, а относятся, скорее, к редакторской правке:

1. Во Введении Автор указывает, что решалась задача установления «...масс-спектрометрических характеристик соединений ... методом тандемной масс-спектрометрии высокого разрешения» (стр.7, абз.3). При этом метод ионизации, используемый для такой работы, не указан, хотя именно он предопределяет особенности ионообразования.
2. В Литературном обзоре (стр.33, табл.3) к методам визуального обнаружения экдистероидов в ТСХ ошибочно относятся измерения радиоактивности и масс-спектрометрический метод DART. Очевидно, что эти методы могут использоваться для детектирования в сочетании с планарной хроматографией, однако визуальными они не являются. Так же необходимо отметить, что помимо масс-спектрометрии DART, в этих целях активно используется масс-спектрометрия с мат-

рично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией и десорбцией электрораспылением.

3. Несколько сомнительны и представления автора о методах дериватизации при проведении ГХ/МС анализа фитостероидов: «Для повышения летучести аналитов получают их триметилсилильные и ацильные производные, однако полученные дериватизаты крайне чувствительны к присутствию следов воды, что затрудняет их получение и дальнейшую работу с ними ...» (стр.34). Помимо очевидных стилистических проблем этого утверждения, необходимо отметить, что номенклатура силильных производных не ограничивается введением ТМС-группы, а ацильные производные вполне устойчивы и не гидролизуются в присутствии влаги. Проблема наличия воды в аналитах, при этом, весьма актуальна, поскольку сами дериватизационные агенты легко деградируют.
4. При определении основных направлений фрагментации депротонированных аддуктов экдистена и туркестерона в условиях активации соударением (рис. 14, стр.59 и 15, стр. 60, схеме 2., стр. 61) автор предполагает, что процессы дегидратации протекают за счет элиминирования гидроксильной группы в третьем положении. Однако более вероятным выглядит элиминирование такой группы из положения 14: этот процесс точно так же протекает с образованием системы сопряженных двойных связей, но более выгоден с точки зрения пространственных факторов. Косвенным подтверждением этого является образование ионов-продуктов дегидратации в масс-спектре активации соударением туркестерона (рис.15, стр.61): при разрушении кольца D их относительная интенсивность резко падает.

Высказанные замечания не затрагивают сути проведенного исследования и не противоречат сделанным в работе выводам и положениям, выносимым на защиту.

Таким образом, можно заключить, что по объему теоретических и экспериментальных исследований, их актуальности, научной новизне и практической значимости диссертация Севко Д.А. полностью соответствует требованиям пп. 9, 10, 11, 13, 14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а её автор, Севко Дарья Анатольевна, заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 – Аналитическая химия.

Ведущий научный
сотрудник ИНХС РАН, к.х.н.

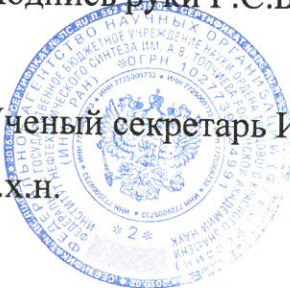
Роман Сергеевич Борисов

Дата 7 апреля 2016 г.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Ордена Трудового Красного Знамени Институт нефтехимического синтеза им. А.В.Топчиева Российской академии наук (ИНХС РАН)
119991, Москва, Ленинский просп.29
тел. (495)954-22-69
e-mail: borisov@ips.ac.ru

Подпись руки Р.С.Борисова удостоверяю:

Ученый секретарь ИНХС РАН,
к.х.н.



И.С.Калашникова

Председателю диссертационного
совета Д 501.001.88 ФГБОУ ВПО
«Московский государственный
университет имени М.В.Ломоносова
академику Ю.А.Золотову

Я, Борисов Роман Сергеевич, даю согласие быть официальным оппонентом по диссертационной работе Севко Дарьи Анатольевны «Концентрирование и определение фитостероидов с помощью молекулярно-импринтированных сорбентов и тандемной масс-спектрометрии высокого разрешения», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02-Аналитическая химия.

О себе сообщаю следующие данные:

Фамилия, имя, отчество	Борисов Роман Сергеевич
Ученая степень (№ диплома)	Кандидат химических наук, диплом серия КТ №154248
Шифр и название научной специальности, по которой защищена диссертация	02.00.03 Органическая химия
Полное наименование организации, являющейся основным местом работы	Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Ордена Трудового Красного Знамени Институт нефтехимического синтеза им. А.В. Топчиева Российской академии наук
Занимаемая должность (с указанием структурного подразделения)	Ведущий научный сотрудник лаборатории спектральных исследований

Список основных публикаций официального оппонента по теме диссертации в рецензируемых научных изданиях за последние 5 лет (не более 15 публикаций):

1. V.G. Zaikin R.S. Borisov Yu. Polovkov, M.S. Slyundina. Reactive matrices for matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry of primary amines // European Journal of Mass Spectrometry, 2015, 21, pp. 403-411.
2. А.П. Топольян, Д.А. Стрижевская, М.С. Слюндина, М.А. Беляева, О.М. Иванова, В.А. Коршун, А.В. Устинов, И.В. Михура, А.А. Формановский,

- Р.С. Борисов. Дериватизация первичных аминов катионом трис(2,6-диметоксифенил)метилия для анализа методом масс-спектрометрии МАЛДИ// Масс-спектрометрия, 2015, 12 (4), с.253.
3. R. S. Borisov, N. Yu. Polovkov, D. I. Zhilyaev, and V. G. Zaikin. A Simple and Easy Approach to the Derivatization of Alcohols for Study by Soft Ionization Mass Spectrometry Methods// Journal of Analytical Chemistry, 2015, 70 (13), pp. 1542–1545.
 4. Р.С. Борисов, Н.Ю. Половков, Д.И. Жилиев, С.А. Эспарса, В.Г. Заикин. Масс-спектрометрия с активируемой графитом лазерной десорбцией/ ионизацией (ГАЛДИ) в комбинации с тонкослойной хроматографией // Масс-спектрометрия, 2014, 11 (2), с.107 -112.
 5. Р.С. Борисов, Д.И. Жилиев, С.А.Эспарса Сандоваль, Н.Ю. Половков, В.Г. Заикин. Сочетание планарной хроматографии и масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией для анализа биологически активных соединений // Масс-спектрометрия, 2014, 11 (4), с.220.
 6. R.S. Borisov, D.I. Zhilyaev, N. Yu. Polovkov, V.G. Zaikin. Simple approach to derivatization of alcohols and phenols for the analysis by matrix(surface)-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry // Rapid Communication in Mass Spectrometry, 2014, 28, p.2231.
 7. R. S. Borisov, N. Yu. Polovkov, D.I. Zhilyaev, V. G. Zaikin. Matrix effect in matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectra of derivatized oligomeric polyols // Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2013, 27(2), pp. 333-338.
 8. Р.С. Борисов, М.И. Закиров, М.В. Овчаров, В.Г. Заикин. Исследование 1,1'-дизамещенных солей 4,4'-бипиридиния различными вариантами масс-спектрометрии // Масс-спектрометрия, 2013, 10, с. 19-24.
 9. R. S. Borisov, N. Yu. Polovkov, D. I. Zhilyaev, V. G. Zaikin, A. A. Vinogradov, A. V. Ivanyuk. Determination of the MolecularMass Characteristics of Polyethylene Oligomers with Terminal Iodine Atoms by MALDI Mass Spectrometry after Derivatization// Journal of Analytical Chemistry, 2013, 68(14), pp. 1227–1228.
 10. V.G.Zaikin, R.S.Borisov, N.Yu. Polovkov, D.I. Zhilyaev, A.A.Vinogradov, A.V Ivanyuk. Characterization of low-molecular weight iodine-terminated polyethylenes by gas chromatography/mass spectrometry and matrix-assisted laser desorption /ionization time-of-flight mass spectrometry with the use of derivatization // European Journal of Mass Spectrometry (2013), 19(3), 163-173.

11. R. S. Borisov, N. Yu. Polovkov, V. G. Zaikin. Preliminary derivatization during investigation of polymers with labile bonds via matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry// Polymer Science Series B, 2012, 54 (9-10), pp 472-476.
12. Borisov, R. S.; Polovkov, N. Y.; Gorjainov, S. V.; Zaikin, V. G. Determination of Composition of Poly(ethylene-co-propylene) Glycoles at Molecular Level by MALDI Mass Spectrometry Following Preliminary Derivatization // International Journal of Polymer Analysis and Characterization, 2012, 17(8), с.608-615.

Согласен на включение моих персональных данных в аттестационное дело соискателя и их дальнейшую обработку.

Членом экспертного совета ВАК не являюсь.

Ведущий научный
сотрудник ИНХС РАН, к.х.н.

Р.С.Борисов

Подпись руки Р.С.Борисова удостоверяю:

Ученый секретарь ИНХС РАН,
к.х.н.



И.С.Калашникова