

ОТЗЫВ

официального оппонента Бродского Ефима Соломоновича
на диссертационную работу Жеребкера Александра Яковлевича
«Изучение строения гуминовых веществ методами изотопного обмена и масс-спектрометрии»,
представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности
02.00.03 – органическая химия

Актуальность. Диссертационная работа А.Я. Жеребкера посвящена исследованию структуры одного из самых сложных и весьма важных объектов – гуминовых веществ (ГВ), играющих основную роль в процессах накопления и преобразования природных органических веществ.

Интерес к этим объектам никогда не ослабевал, но особенно усилился с появлением мощных и эффективных методов исследования. Это, во-первых, масс-спектрометрия ионного циклотронного резонанса с преобразованием Фурье (МС ИЦР ПФ) – метод, позволяющий достичь сверхвысокого разрешения и не только разделить большое число ионов, но и с высокой точностью измерить их массы и практически однозначно получить набор элементных формул для тысяч и десятков тысяч молекул. Именно такой метод необходим для получения адекватного представления о структуре столь сложных объектов, хотя и имеющих общие структурные элементы, но разнообразных по молекулярным массам, наличию и расположению функциональных групп и другим структурным особенностям. Во-вторых, это получивший сейчас большое распространение метод ионизации электрораспылением, позволяющий с высокой эффективностью ионизовать высокополярные и труднолетучие молекулы с образованием, в основном, однозарядных положительных и отрицательных ионов. С появлением таких аналитических возможностей начался «бум» исследований молекулярной структуры и состава сложных природных объектов, таких как рассеянное органическое вещество, нефти, угли, ГВ. Поэтому приятно, что данная работа находится на переднем крае исследований в данной области.

Тема, выбранная автором, весьма актуальна. Актуальна она по многим причинам: 1) необходимость совершенствования нового аналитического метода, возможности которого проявляются и совершенствуются прежде всего при исследовании сложных объектов; 2) необходимость по возможности более полного изучения состава ГВ – одного из важнейших природных органических веществ; 3) получение сведений для направленного синтеза гуминоподобных веществ, которые обещают найти применение в медицине и некоторых областях хозяйственной деятельности.

Общая характеристика работы. Цель работы - определение структурных фрагментов индивидуальных компонентов в составе гуминовых веществ методами селективного изотопного обмена и масс-спектрометрии ионно-циклотронного резонанса с преобразованием Фурье.

Диссертационная работа А.Я. Жеребкера содержит все необходимые разделы, отражающие суть проведенных исследований. Материал, представленный в диссертации, опубликован

рецензируемых научных журналах (18 печатных работ, из них 11 статей в изданиях, рекомендуемых ВАК), и прошел апробацию на российских и международных конференциях.

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, обсуждения результатов, экспериментальной части, выводов и списка литературы. Материал диссертации изложен на 143 страницах, содержит 10 таблиц, 16 схем и 72 рисунка. Список цитируемой литературы включает 274 наименований.

Литературный обзор посвящен общей характеристике гуминовых веществ, обобщению литературных данных по изучению структурно-группового состава гуминовых веществ методами спектроскопии ЯМР; анализу индивидуальных компонентов гуминовых веществ различных источников методом масс-спектрометрии; методам введения изотопных меток в состав органических молекул, в том числе гуминовых веществ, а также получению модельных гуминовых веществ путем окислительной поликонденсации.

Обзор отличается достаточной полнотой и тщательностью. Рассмотрены существующие представления о структуре ГВ как широкого набора молекулярных компонентов различного строения и молекулярных масс, которые могут рассматриваться как «псевдомолекулы», включающие ароматические фрагменты с алифатическими цепочками и функциональными группами (главным образом, карбоксильными и гидроксильными), полифенольными соединениями, полисахаридно-пептидными компонентами.

В обзоре охарактеризованы возможности масс-спектрометрии сверхвысокого разрешения - МС ИЦР ПФ с ионизацией электрораспылением, позволяющей охарактеризовать молекулы, составляющих ГВ, их точными молекулярными массами и получаемыми из них элементными формулами. Особую роль в таком анализе играют способы представления и обработки огромного массива информации: оценка характера и поиск закономерностей распределения элементных составов молекул, диаграммы Ван-Кревелена и др. Эти методы позволяют охарактеризовать вклад соединений-прекурсоров различной природы в ансамбль молекул ГВ, что дает базу для суждения об их происхождении, трансформации и различии ГВ из разных источников. Это исключительно ценная информация, позволяющая на молекулярном уровне подтвердить и детализировать представления, основанные на анализе этих веществ обычными методами. Но более детальная информация о структуре молекул и наличии и виде функциональных групп может быть получена на основании исследования превращений молекул ГВ под действием различных факторов: деструкция, химические реакции, изотопный обмен. Мощным методом определения структуры столь сложных систем как ГВ является синтез более простых модельных веществ, содержащих элементы структуры ГВ. Отмечено, что совершенствование таких подходов позволит делать более обоснованные выводы о структурах индивидуальных компонентов гуминовых веществ. Обзор завершается постановкой задачи исследования и ее обоснованием на основании данных, приведенных в литературе.

Научная новизна и достоверность результатов исследования. Одним из важных результатов работы было исследование различных фракций гуминовых веществ, выделенных из воды, торфа, угля и почвы методом масс-спектрометрии ионного циклотронного резонанса с преобразованием Фурье.

Подбор оптимальных условий ионизации путем варьирования напряжения электрораспыления и состава растворителя, которые могут сильно влиять на эффективность ионизации ГВ разного происхождения, позволил впервые сравнить по данным МС ИЦР ПФ молекулярный состав ГК, выделенных из различных углей. На основе существующих методов обработки и визуализации больших объемов данных, в частности, диаграмм Ван Кревелена, произведено количественное сравнение образцов ГВ по суммарному вкладу компонентов, подобных предшественникам гуминовых веществ: лигнинам, таннинам и др. Обнаружено, что ароматические соединения являются основными компонентами всех ГВ. При этом отличительной особенностью угольных ГВ является максимальный вклад конденсированных таннинов, водных ГВ – вклад гидролизуемых таннинов, а для ГВ торфа и почвы характерно максимальное содержание лигниновых компонентов и присутствие углеводных фрагментов.

Для получения информации о химической структуре молекулярных компонентов были синтезированы структурные аналоги ГВ и использовано селективное введение изотопных меток. Структурные аналоги ГВ были получены путем этерификации ванилиновой кислоты с последующей конденсацией с калий этилмалонатом в присутствии безводного хлорида магния, затем была проведена окислительная поликонденсация продукта гидролиза полученного этил-3-(4-(этоксикарбонилокси)-3-метоксифенил)-3-оксипропионата с гидрохиноном в щелочных условиях с большим избытком персульфата калия. Реакционную смесь разделяли на гумино- и фульвоподобную фракции по аналогии с природными гуминовыми веществами.

Полученные модельные вещества охарактеризованы элементным анализом, спектроскопией ПМР и масс-спектрометрией сверхвысокого разрешения; показана высокая молекулярная гетерогенность модельных веществ и их сходство с ароматической частью природных гуминовых веществ. Анализ исходных и меченых синтетических продуктов методом МС ИЦР ПФ позволил определить структуру пяти индивидуальных соединений. Это удалось благодаря применению автором для детализации структуры молекул ГВ метода дейтериевого обмена скелетных протонов, основанного на способности кислот и оснований катализировать обмен различных типов протонов.

Изотопный обмен, позволяющий установить количество подвижных водородов по длине серий H/D, позволил не только приблизиться к истинной структуре ГВ путем синтеза и исследования составных частей молекул ГВ, но и усовершенствовать аналитические методы установления структуры на более простых системах. Было создано программное обеспечение, позволяющее обнаруживать серии H/D обмена по разнице масс атомов изотопов водорода (а также серии [CD₃-H], отражающих процесс этерификации при дейтерометилировании). Была

также изучена возможность дейтериевого обмена непосредственно в источнике ионизации электрораспылением при обогащении атмосферы между иглой распылителя и вакуумной частью масс-спектрометра парами D_2O . На модельных веществах (гидроксibenзойные и аминокислоты) было показано, что для смеси вода-метанол (1:1) в качестве растворителя и температуре осушительного капилляра масс-спектрометра $400^\circ C$ возможен обмен не только подвижных протонов, но и скелетных, участвующих в кето-енольной таутомерии. Отмечено, что обмен происходит не в газовой фазе, а в заряженных микрокаплях, в которых в режиме отрицательной ионизации присутствуют гидроксил-анионы.

Применение H/D обмена в NaOD и DCI для гиматомелановых кислот, выделенных из трех различных углей, показало, что молекулы с одинаковым элементным составом, обнаруженные во этих образцах, представляют собой структурные изомеры. В их структуре обнаружены лигнинные компоненты, отличающиеся степенью замещения ароматического кольца, а основными заместителями ароматических колец являются гидроксильная и метоксильная группы.

Дейтерометилирование в сочетании с масс-спектрометрией сверхвысокого разрешения позволило оценить количество карбоксильных групп в молекулах гуминовых веществ, выделенных из воды, торфа и угля. Показано, что количество карбоксильных групп, определяющих кислотные свойства этих веществ, коррелирует с данными спектроскопии ПМР для тех же образцов по интегральному вкладу протонов карбоксильной группы. Несмотря на различную природу исследуемых образцов, молекулы с близким молекулярным составом имеют одинаковое количество карбоксильных групп. Подобная информация не может быть получена другим методом.

Наконец, для более детальной характеристики кислотных свойств ГВ были исследованы фракции гуминовых кислот из воды и угля, полученные на гидрофобном полимерном сорбенте при последовательном уменьшении рН элюента (7, 5, 3, 2), что отвечает переходу от рКа фенольной группы к кето- и поликарбоновым кислотам. Фракции, выделенные при рН = 7, были отнесены к конденсированным таннинам и лигнинам, при рН = 2 – к полкарбоновым кислотам. Близкий состав фракций обоих образцов согласуется с предположением об одинаковом распределении карбоксильных групп по молекулярным компонентам гуминовых веществ независимо от источника их происхождения.

В экспериментальной части диссертационной работы достаточно полно и корректно описаны условия подготовки проб и съемки образцов методами ЯМР и масс-спектрометрии.

Таким образом, в работе предложен новый способ определения структурных фрагментов в составе индивидуальных компонентов гуминовых веществ методом масс-спектрометрии ионного циклотронного резонанса с преобразованием Фурье в сочетании с изотопным обменом и синтезом модельных соединений – структурных предшественников ГВ. Применение самых современных физико-химических методов анализа органических соединений, использование различных

изотопных меток, синтез модельных гуминовых веществ показывает междисциплинарный характер работы и обуславливает достоверность полученных результатов.

Можно заключить, что сформулированная цель работы автором достигнута, и поставленные задачи в целом выполнены. Представленные научные положения, выводы и рекомендации являются обоснованными. Автореферат и публикации полностью отражают содержание диссертации.

По существу, работа лишена существенных методических недостатков. Текст диссертационной работы оформлен должным образом. Тем не менее, можно сделать следующие замечания:

Употребляемые автором термины «Конденсированные соединения / Ароматические соединения» по существу, противопоставляют ароматические и конденсированные соединения, хотя под конденсированными подразумеваются полициклические ароматические соединения.

С.16. – выражение «номинальная масса состоит из множества пиков» - это жаргон. Имеются и другие опечатки и неудачные выражения.

Ссылки 54 и 56 одинаковы.

В выводах практически не отражены достижения автора по разработке аналитических методик и приемов за исключением п.2. «Предложен подход к определению типа структурной изомерии аналогов ГВ с помощью изотопного обмена и МС ИЦР ПФ». Между тем в положениях, выносимых на защиту, имеется пункт «Методические подходы к селективному введению изотопных меток в углеродный скелет ГВ с помощью каталитического Н/Д обмена и способ интерпретации данных изотопной МС ИЦР ПФ». И действительно, в тексте описаны исследования, обоснования и приемы определения оптимальных условий ионизации ГВ различного происхождения, введения изотопных меток в процессе ионизации, возможность простого разделения гуминовых веществ на фракции в соответствии с их кислотно-основными свойствами и др. Вероятно, это должно быть отражено в выводах.

Возникает также вопрос о сопоставлении масс-спектров разных образцов. Автор сам констатирует, что ГВ разной природы имеют разную эффективность ионизации в условиях электрораспыления, в частности, соединения, содержащие больше гидрофобных структур, имеют меньшую эффективность ионизации, чем более гидрофильные структуры. Это может вызвать трудности при количественном сравнении разных образцов, например, на Рис.2.1. Даже внутри одного образца могут быть такие структуры, так что соотношение между ними может меняться при изменении условий ионизации. Впрочем, это не может быть поставлено в упрек автору, так как количественные аспекты МС ИЦР ПФ – это одна из важнейших проблем аналитических применений этого метода, которая еще в общем не решена.

Заключение. В целом, отмеченные недостатки не влияют на ценность полученных результатов и положительную оценку представленной работы. Работа выполненной на высоком научном уровне, в ней исследован широкий набор гуминовых веществ различного происхождения

методом масс-спектрометрии ионного циклотронного резонанса с преобразованием Фурье, найдены закономерности изменения молекулярного состава в зависимости от источника происхождения ГВ. Синтезированы модельные гуминовые вещества, которые достаточно полно воссоздают их ароматические компоненты. Примененный подход введения изотопных меток в сочетании с масс-спектрометрией позволил установить основные структурные фрагменты индивидуальных компонентов гуминовых веществ, в том числе распределение карбоксильных групп по молекулярному ансамблю. Обнаружена возможность осуществления быстрого дейтериеводородного обмена протонов, связанных с углеродным скелетом, непосредственно в источнике ионизации электрораспылением масс-спектрометра. Показана также возможность простого разделения гуминовых веществ на фракции в соответствии с их кислотно-основными свойствами.

Таким образом, диссертационная работа А.Я. Жеребкера по поставленным задачам, уровню выполнения и научной новизне полученных результатов полностью соответствует требованиям ВАК РФ, предъявляемым к кандидатским диссертациям (п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 года № 842), а её автор – Александр Яковлевич Жеребкер заслуживает присуждения ему ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.03 – органическая химия.

Ф.И.О. составителя	Бродский Ефим Соломонович
ученая степень:	доктор химических наук (05.11.11 – хроматография и хроматографические приборы)
почтовый адрес:	119071, г. Москва, Ленинский проспект, 33
телефон:	+7 (499) 135-13-80
адрес электронной почты:	efbr@mail.ru
наименование организации:	ФГБУН «Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН
должность:	И.о. заведующего лабораторией аналитической экотоксикологии



Е. С. Бродский

Подпись Е. С. Бродского заверяю,



Подпись Е. С. Бродского
 заверяю, зав. канц. ИПЭЭ РАН Сер
 "26" мая 2017г.

Федеральное государственное
бюджетное учреждение науки
Институт проблем экологии и
эволюции им А.Н. Северцова
Российской академии наук
(ИПЭЭ РАН)
119071, Москва, Ленинский пр-т, 33

В диссертационный совет Д 501.001.97
при Федеральном государственном бюджетном
образовательном учреждении высшего
образования «Московский государственный
университет имени М.В. Ломоносова»
от д.х.н. Бродского Ефима Соломоновича

Настоящим даю согласие выступить официальным оппонентом на защите диссертации Жеребкера Александра Яковлевича на тему: «Изучение строения гуминовых веществ методами изотопного обмена и масс-спектрометрии», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.03 – органическая химия.

О себе сообщаю следующие сведения:

1. Бродский Ефим Соломонович, гражданин РФ.
2. Ученая степень: доктор химических наук (05.11.11 – хроматография и хроматографические приборы).
3. Ученое звание: старший научный сотрудник
4. Место работы: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН».
5. Должность: и.о. заведующего лабораторией аналитической экотоксикологии.
6. Адрес места работы:

119071, г. Москва, Ленинский проспект, 23. Тел: +7 (495) 954-55-34

e-mail: efbr@mail.ru

7. Основные работы по профилю оппонируемой диссертации:

Шелепчиков А.А., Бродский Е.С. Обнаружение и идентификация следовых количеств неизвестных хлорорганических веществ методом хроматомасс-спектрометрии высокого разрешения // Масс-спектрометрия, 2014, 11(1), 13-21.

Шелепчиков А.А., Бродский Е.С., Васина О.И. Метоксипроизводные октахлордибензо-п-диоксина в почве Вьетнама // ДАН, 2012, 442(5), 642-644.

