

Утверждаю

Проректор по научной деятельности
ФГАОУ ВПО «Казанский (Приволжский)
федеральный университет»



Д.К.Нургалиев

2014 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертацию Зяблова Александра Николаевича «Определение аминокислот в водных растворах пьезоэлектрическими сенсорами на основе молекулярно-импринтированных полимеров» на соискание ученой степени доктора химических наук по специальности 02.00.02 – аналитическая химия

Актуальность исследования. Представленная диссертация А.Н.Зяблова посвящена развитию актуального и важного направления современной аналитической химии, связанного с применением пьезокварцевых сенсоров. Сенсорные технологии востребованы практически во всех областях хозяйственной деятельности человека в связи с необходимостью в количественной информации о составе различных объектов, включая химические соединения, их смеси, промышленные материалы, потребительские товары, отходы производства и потребления и т.д. Пьезометрические сенсоры, использующие для получения аналитического сигнала особые свойства взаимного преобразования механических колебаний в электрический ток, обнаруженные у материалов с анизотропной кристаллической структурой, являются универсальными приборами, способными проводить измерение массы объекта независимо от его состава. Применение таких сенсоров в химическом анализе предполагает включение в их состав дополнительных рецепторных структур, которые обеспечивают избирательность присоединения определенного химического соединения или группы структурно родственных соединений.

Создание такие рецепторных структур и их введение в состав пьезометрических сенсоров является объектом интенсивных исследований. Несмотря на большое число работ, посвященных химическим сенсорам на основе пьезокварцевых преобразователей сигнала, их коммерческое применение ограничено анализом паров веществ в газовой фазе. Это связано с двумя обстоятельствами – более жесткими требованиями к селективности сигнала и мешающим влиянием жидкой фазы, влияющей на проявление пьезоэффекта и усложняющей линейную зависимость между изменением частоты колебаний и массой покрытия. Кроме того, функционирование пьезосенсоров в жидкой фазе осложняет стадии

регенерации чувствительного слоя и сокращает время жизни сенсора. В результате значительное число работ, связанных с использованием пьезокварцевых сенсоров в анализе жидкостей, посвящено эмпирической обработке условий измерения сигнала, не опирающейся на фундаментальные свойства анализируемых соединений и зачастую копирует частные решения, реализованные в хроматографии. Этого недостаточно для сложных случаев разделения, требующих высокой специализации рецепторной части и ее совместимости с трансдьюсером.

Представленная диссертация посвящена развитию одного из важных подходов, который в будущем претендует на универсальность и замену биологическим сенсорам, с их высокой селективностью и чувствительностью связывания аналита благодаря использованию биохимических механизмов распознавания. Речь идет о полимерах с молекулярными отпечатками – технологии изготовления высокоселективных сорбентов путем использования в качестве шаблона на стадии полимеризации молекул определяемых веществ.

Учитывая вышесказанное об актуальности развития сенсорных технологий, существующих на настоящий день, ограничениях их внедрения и перспективах развития полимеров с молекулярными отпечатками как универсальной платформы молекулярного распознавания, *цель диссертации* А.Н.Зяблова, посвященной развитию теоретических и методологических подходов к созданию высокочувствительных и селективных пьезоэлектрических сенсоров на основе молекулярно-импринтированных полимеров для определения аминокислот в жидких средах, является *актуальной, научно и практически значимой*.

Диссертация А.Н.Зяблова имеет традиционное строение и состоит из введения, шести глав и выводов. Работа изложена на 371 странице компьютерной верстки, включает 71 таблицу, 81 рисунок, список литературы из 551 источника и приложение.

Введение к диссертации содержит обоснование актуальности выбранной темы, цель и задачи, стоящие перед диссертантом, а также положения, составляющие научную новизну и практическую значимость, положения, выносимые на защиту, характеристику методического аспекта работы и вклада диссертанта. Дано описание структуры диссертации и апробации работы на конференциях различного уровня.

Обзор литературы состоит из трех составных частей, посвященных соответственно общим вопросам функционирования и разработки химических сенсоров, теории и практике применения пьезокварцевых сенсоров, а также существующим методам анализа аминокислот как основного объекта исследования. Обзор написано ясно и логично и адекватно отражает современное положение науки в охватываемых областях. В качестве незначительного замечания можно упомянуть некоторую затянутость объяснения термино-

логии и общих вопросов, связанных с химическими сенсорами. Некоторые разделы, содержащие слишком простые термины и понятия, вполне можно было бы сократить. С точки зрения обоснования темы и задач настоящего исследования наиболее полезна часть, описывающая существующие разработки в области пьезосенсорного анализа. Представленная информация касается как количественной составляющей (количественные характеристики определения), так и методологии выбора модифицирующих материалов. Заканчивается обзор удобным обобщением, резюмирующим особенности настоящего этапа развития пьезосенсорных технологий и убедительно показывающим необходимость проведенного исследования.

Глава 2 «Объекты и методы исследования» несколько шире, чем просто описание методик измерений и используемой аппаратуры и реактивов. Автор дает развернутую характеристику аминокислот и их количественных характеристик с точки зрения особенностей их строения, а также подробное описание полимеров, использованных для молекулярного импринтинга. Это представляется целесообразным, поскольку именно эти аспекты определяют новизну получаемых результатов и достигнутые результаты. Столь же тщательно изложены методы исследования, классифицированные по объектам – для жидких и твердых фаз. Для всех методов физико-химического анализа, включая квантово-химические расчеты, А.Н.Зяблов сначала приводит базовые понятия с их последующей конкретизацией для выбранных условий эксперимента. Возможно, как и в случае литературного обзора, включение ряда фундаментальных и общеизвестных (типа «плотность есть отношение массы к объему образца») понятий не является обязательным. Но это остается на усмотрение автора и в целом не влияет на общую положительную оценку данного раздела, который не позволяет усомниться в достоверности полученных автором собственных экспериментальных результатов.

Глава 3 «Теоретическое обоснование функционирования пьезосенсоров» рассматривает импедиметрическую модель функционирования пьезосенсора, которая основана на комплексном акустическом сопротивлении (импедансе) системы пьезосенсор – среда. Автором сначала рассмотрены феноменологические модели, описывающие поведение таких систем безотносительно к процессам, протекающим на поверхности резонатора, с помощью эквивалентных схем, аналогичных схемам измерения электрохимического импеданса, но только с переменным акустическим сопротивлением вместо электрического. После этого им рассмотрены процессы, усложняющие поведение пьезосенсора по сравнению с классическим уравнением Зауэрбрея, в частности, с учетом диссипации энергии при распространении акустических колебаний в упруго-вязких средах. Основной особенностью предложенной модели является представление о наличии на поверхности сенсора

тонкого слоя жидкости (в случае анализа растворов), который в силу взаимодействий с границей раздела масс, увеличивает массу, колеблясь вместе с резонатором, и рассеяние энергии колебаний. Таким образом, сигнал пьезокварцевого сенсора перестает зависеть только от массы вещества, взаимодействующего с поверхностью или рецепторным слоем. Наличие такого вязко-эластичного слоя не учитывает молекулярных взаимодействий, и автор дополняет импедиметрическую модель рассмотрением ионных взаимодействий, протекающих при формировании двойного электрического слоя на электроде и на слое рецептора.

Глава 4 «Межмолекулярные взаимодействия в системе аминокислота - вода» продолжает теоретическое рассмотрение вопросов, связанных с влиянием природы вещества на пути его определения применительно к цвиттер-ионам аминокислот. Методами вискозиметрии, денситометрии, кондуктометрии, диэлькометрии, ИК-спектроскопии и компьютерного моделирования исследовано взаимодействие в системе аминокислота – вод» и влияние pH на его характер. Рассчитаны параметры молярного объема боковой цепи, показателя гидратированности, мольной поляризации, адиабатической сжимаемости аминокислот. По экспериментальным данным рассчитаны подвижность ионов аминокислот. Квантово-химические расчеты по данным ИК-спектров позволили установить длины связей и энергии взаимодействия различных форм аминокислот. Совокупность полученных результатов позволила сделать вывод о структурирующем влиянии аминокислот на воду с преобладающим влиянием гидрофобного радикала и построить ряды изменения ряда параметров (скорость ультразвука, коэффициенты сжимаемости) в зависимости от природы и концентрации индивидуальных аминокислот.

Глава 5. «Взаимодействия на межфазных границах полимер - раствор аминокислоты» посвящена созданию молекулярных отпечатков в полимерных материалах на основе коллоксилина и полиамидокислоты. Процесс получения молекулярных отпечатков включал реакцию дегидратации раствора прекурсора полимера с темплатом при нагреве с образованием полиимидов. В случае реакции имидизации процесс контролировали по изменению массы покрытия при последовательном увеличении температуры смеси. Полученные термограммы позволили рассчитать зависимость степени завершенности реакции от параметров взаимодействия полимеров с водой и от природы темплата. Для коллоксилина установлено стабилизирующее влияние вязкой пленки коллодия, уменьшающее частоту пьезокварцевого резонатора относительно чистой поверхности в силу своих вязко-эластичных свойств. При переходе вязкого слоя в пленку (при удалении растворителя) скачкообразно увеличивало частоту резонатора до нового стационарного значения. Автор весьма подробно интерпретирует ИК-спектры получаемых покрытий с целью установле-

ния механизма дегидратации и возможного влияния взаимодействия с водой молекул-темплатов.

Для оценки структуры полимеров с молекулярными отпечатками А.Н.Зяблов провел моделирование комплексов аминокислот с мономером, используя теорию функциональной плотности. Исследования проводили также для полимеров, отпечатков не содержащих, и для гидратированных молекул аминокислот. Предварительные расчеты энергий взаимодействия с немодифицированными полимерами показали отсутствие специфических взаимодействий с аминокислотами. Результаты квантово-химических расчетов позволили предложить структуры «отпечатков» и обосновать избирательность связывания ими определенных аминокислот по сравнению с их аналогами.

Помимо квантово-химических расчетов, различие в структуре, гидратации, способности к удерживанию аминокислот полимеров при получении в них молекулярных отпечатков было подтверждено рядом других физических методов, включая электронную микроскопию, исследования изотерм сорбции, ИК- и масс-спектроскопию.

В обобщение полученных результатов подтверждена способность полимеров с отпечатком глицина к молекулярному распознаванию данной аминокислоты, но не валина, а также более высокая эффективность технологии импринтинга частично имидизированной полиамидокислоты по сравнению с коллоксилином.

Глава 6. «Определение аминокислот в растворах пьезоэлектрическими сенсорами» может рассматриваться как иллюстрация возможностей определения аминокислот в водных растворах и подтверждение закономерностей, ранее установленных для полимеров, аминокислот и их комплексов комплексом физико-химических методов. На примере адсорбции аминокислот на немодифицированном преобразователе сигнала подтверждено исходное утверждение о том, что в жидких средах сенсор следует относить не к массчувствительным, а к акустическим, а на величину сигнала влияет не только масса аналита, но и характеристики его взаимодействия с водой, определяющие вязко-эластичные свойства части раствора, контактирующей непосредственно с пьезокварцевым резонатором. Так, не установлено корреляции сигнала с молярной массой аминокислот, показано, что α - и β -аланин, лейцин и изолейцин при одинаковых молярных массах дают различные градуировочные зависимости. Подтверждена формула Каназава, предсказывающая зависимость сигнала от плотности и вязкости анализируемого раствора.

Использование пьезосенсоров, модифицированных полимерами с молекулярными отпечатками, существенно увеличивает абсолютную величину сигнала и его чувствительность к аналиту по сравнению с немодифицированными сенсорами. Определены значения импринтинг-факторов и аналитические характеристики определения аминокислот как в

однокомпонентных растворах, так и в смесях, включая лекарственные препараты и пищевые добавки. Полученные результаты метрологически оформлены и не вызывают сомнений в части достоверности и корректности представления.

Характеризуя диссертацию А.Н.Зяблова в целом, следует отметить, что это фундаментальное многогранное исследование, которое выполнено в лучших традициях Воронежской школы пьезоанализа. Автором грамотно и уместно применены современные физико-химические методы исследования, позволившие охарактеризовать модифицирующих покрытия и интерпретировать полученные результаты с привлечением новых взглядов на природу сигнала пьезосенсора. Им получены новые результаты, количественно характеризующие возможности молекулярного распознавания в процессе импринтинг двух принципиально различных матриц – одной, получаемой путем поликонденсации непосредственно по месту и второй, формируемой физически при испарении растворителя. Применение термоанализа, хромато-масс-спектрологии и ИК-спектрологии позволило выявить ключевые стадии формирования «отпечатков», установить различия в характеристиках импринтинга полученных покрытий и сделать предположения о природе процессов, влияющих на сигнал пьезосенсора. Особый упор сделан на влияние аналитов на структуру воды, что находится в русле основного исходного посыла автора, рассматривающего пьезосенсор в жидких средах как индикатор не изменений массы поверхностного слоя, а как комплексный зонд, устанавливающий изменения тонкого приповерхностного слоя в рамках варьирования вязкоэластичных характеристик ламинарного течения, возникающего при акустических колебания в жидкости.

К работе имеется ряд замечаний непринципиального характера.

1. Глава 3 содержит достаточно большой и хорошо структурированный материал, призванный установить разницу между поведением пьезосенсора в воздухе (с применимостью уравнения Зауэрбрея) и в жидкости. При этом по тексту не вполне понятно, где речь идет о представлении имеющихся на данный момент данных, а где – о новом материале, полученном автором, и в чем состоит собственный вклад автора в указанный раздел. Кроме того, ряд положений, касающихся формирования двойного электрического слоя с участием аминокислот при различных рН, повторяется далее в главе 6.

2. Следует согласиться с автором, что поведение пьезосенсора в жидких средах не сводится к регистрации адсорбции, а должно учитывать особенности распределения акустических колебаний в слое жидкости, примыкающем к сенсору. Однако фактически автор не использует эти особенности в последующей работе: аналитическое применение разработанных пьезосенсоров с молекулярными отпечатками базируется на калибровочных кривых, эмпирически.

3. Большая и полезная работа по характеристике множественных взаимодействий в системе аминокислота – полимер выполнена в условиях конкретных физико-химических методов, которые радикально отличаются от таковых в водных растворах аминокислот. Насколько справедливы будут полученные таким образом заключения о влиянии гидратации аминокислот на их взаимодействие с полимерами?

4. Автор опирается на результаты масс-спектропии и ИК-спектропии полимеров, но не приводит сведения о том, насколько регулярно и воспроизводимо их строение. Например, известно, что коллоксилин имеет достаточно сложную структуру с аморфными и структурированными доменами, которые, очевидно, по-разному будут проявляться в спектрах и в реакциях с низкомолекулярными амфолитами, такими как аминокислоты. Далее, приведенные масс-спектры не могут быть использованы для количественного анализа продукта. Говорить о том, что они доказывают изменение состава при импринтинге или удалении темплата, не приходится.

5. Работа содержит определенное число неточностей, среди которых с точки зрения аналитической химии наибольшее значение имеет вид градуировочных уравнений. Очевидно, в том числе, из ознакомления с приложениями, что регрессии построены в полулогарифмических координатах, а значит, показатели точности относятся к логарифмам величин концентраций, тогда как по тексту утверждается, что графики построены в линейных координатах.

6. Учитывая, что докторская диссертация предполагает определенный уровень обобщения, желательнее было бы в заключении обсудить более тесные связи между первой – теоретической, – и второй, практической частью работы. В частности, каким образом следует использовать представления о пьезосенсоре как акустическом сенсоре и сведения о термодинамике взаимодействия полимера с молекулярными отпечатками с темплатами на стадии конструирования пьезосенсора и насколько универсальны тем закономерности, которые выявлены автором на примере определения аминокислот в водных растворах?

Указанные замечания не снижают общего благоприятно впечатления о работе. Материалы диссертации прошли хорошую апробацию на многочисленных конференциях и знакомы научной общественности. Полученные результаты опубликованы в научных журналах, рекомендованных ВАК для докторских диссертаций. Автореферат отражает содержание диссертации.

Не вызывает сомнения, что диссертация отвечает специальности «аналитическая химия», поскольку в ней рассмотрены методологические, теоретические и прикладные

аспекты пьезоанализа органических соединений в жидких средах (области исследований 4, 8, 10, 13 паспорта специальности).

Прикладное значение исследований связано с предложенными способами получения полимерных мембран, в том числе, с молекулярными отпечатками, а также с методами определения аминокислот в конкретных фармацевтических препаратах и пищевых добавках.

С результатами исследования следует ознакомить организации, работающие в области анализа пищевых продуктов и пьезосенсорного анализа: Липецкий государственный технический университет, Саратовский, Кубанский, Ленинградский, Московский государственные университеты, Томский национальный исследовательский политехнический университет, Институт общей и неорганической химии им.Н.С.Курнакова РАН (г.Москва), РНЦ «Прикладная химия» (Санкт-Петербург).

На основании вышесказанного считаем, что диссертация Зяблова А.Н. «Определение аминокислот в водных растворах пьезоэлектрическими сенсорами на основе молекулярно-импринтированных полимеров» соответствует требованиям Положения о порядке присуждения ученых степеней (Постановление Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842), предъявляемым к докторским диссертациями как научно-квалификационная работа, в которой на основании выполненных автором исследований разработаны теоретические положения, совокупность которых можно квалифицировать как научное достижение в области пьезосенсорного анализа. Автор работы, Зяблов Александр Николаевич, достоин присуждения ученой степени доктора химических наук по специальности 02.00.02 – аналитическая химия.

Отзыв заслушан и утвержден на заседании кафедры аналитической химии ФГАОУ ВПО «Казанский (Приволжский) федеральный университет» 10 декабря 2014 г., протокол №6.

Заведующий кафедрой аналитической химии
Химического института им.А.М.Бутлерова
доктор химических наук, профессор



Г.А.Евтюгин

Адрес: Казань, 420008, ул.Кремлевская, 18
КФУ, кафедра аналитической химии.

Тел.: 843-2337491,

E-mail: Gennady.Evtugyn@kpfu.ru

