

ОТЗЫВ

о кандидатской диссертации Нгуен Ван Ань

"Определение полиненасыщенных жирных кислот в составе триацилглицеринов и в супрамолекулярных комплексах методом ВЭЖХ",
представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук
по специальности 02.00.02 – аналитическая химия

Среди большого многообразия объектов химического анализа всегда выделяются смеси, содержащие близкие по физико-химическим свойствам соединения. Примером таких смесей могут служить масла, в состав которых входят высшие жирные кислоты, имеющие важное практическое значение. Применяемые для анализа таких объектов методы во многом устарели и не позволяют получать всю необходимую информацию об их качественном и количественном составе. Кроме того, полиненасыщенные соединения принадлежат к числу химически нестойких соединений и поэтому используемые на практике стандартные методы дериватизации, экстракции и концентрирования не позволяют в ряде случаев получать объективную картину по составу нативных масел. Одним из наиболее перспективных способов решения этой проблемы является разработка высокоселективных и эффективных ВЭЖХ-методик, позволяющих избегать предварительного химического модифицирования полиненасыщенных жирных кислот и их производных и в сочетании с разного рода детекторами проводить надежную качественную и количественную идентификацию компонентов подобных сложных смесей. Таким образом, поиск эффективных и селективных методов анализа полиненасыщенных жирных кислот и их производных – **важная** и **актуальная** задача, решению которой и посвящена диссертационная работа Нгуен Ван Ань.

Диссертация Нгуен Ван Ань имеет традиционную структуру и включает *введение, обзор литературы* (глава 1); *описание объектов исследования и методики эксперимента*, где подробно рассмотрены использованные материалы, оборудование, подготовка материалов к работе, использованные аналитические методы, а также представлена статистическая обработка экспериментальных данных (глава 2); *результатов и их обсуждение*, включающее исчерпывающую информацию о полученных новых данных и выявленных закономерностях (глава 3); *заключение; список условных обозначений и сокращений; список использованной литературы* (233 источника), а также *подробное приложение* (8 пунктов). Диссертация изложена на 189 стр., содержит 97 рисунков и 66 таблиц (с учетом приложения). Диссертационная работа **аккуратно оформлена**, содержит оглавление, написана с применением современной номенклатуры в области аналитической химии, хроматографии и рассмотренных гибридных методов, включает четкие и лаконичные формулировки основных полученных результатов и выводов; таблицы, графики и рисунки содержат всю необходимую информацию по полученным в диссертации новым данным.

Первая глава диссертации представляет собой подробный критический обзор по классификации жирных кислот в составе триацилглицеридов (ТАГ), содержащихся в растительных маслах; структуре и свойствам ТАГ, содержащих радикалы с сопряженными двойными связями, а также включает информацию по источникам и составу растительных масел, содержащих ТАГ, образованными радикалами с сопряженными двойными связями. Отмечу, что автору диссертации удалось представить огромный фактический материал в сжатой и доступной форме, что, несомненно, свидетельствует о хорошем владении информацией по изучаемому вопросу. Следующая часть анализа литературных данных посвящена обзору методов качественного и количественного определения сопряженных жирных кислот и их производных с помощью различных аналитических методов. Четко и критично обсуждаются спектроскопические методы (УФ- и ИК-спектроскопии), группа хроматографических методов (ГХ, ВЭЖХ, ТСХ), включая такие достаточно "экзотические" в обычной хроматографической практике варианты ВЭЖХ, как Ag^+ -ВЭЖХ. Нужно отметить, что обзор литературы не включает лишь перечисление ранее полученных данных по затронутой в диссертации проблеме. Напротив, рассматриваются достоинства и ограничения того или иного метода при решении конкретной аналитической задачи, обсуждаются возможные пути увеличения селективности и эффективности определения ТАГ с конкретными полиненасыщенными радикалами. Нельзя обойти вниманием и небольшой раздел, посвященный обсуждению связи между структурой и удерживанием молекул ТАГ в условиях ВЭЖХ: отмечаются общие закономерности удерживания ТАГ с насыщенными и ненасыщенными радикалами; перечисляются предложенные молекулярные дескрипторы, позволяющие дифференцировать близкие по строению и составу структуры ТАГ;

анализируются различные корреляционные зависимости "структура - удерживание", позволяющие не только идентифицировать неизвестные соединения из класса ТАГ, но и предсказывать их хроматографическое удерживание в выбранных условиях. Отрадно, что наряду с достижениями зарубежных ученых в решение сформулированной диссертации проблемы отмечается вклад и отечественной хроматографической школы. Отдельный раздел в обзоре литературы посвящен использованию различных супрамолекулярных агентов (растворы мочевины и циклодекстрины) с целью получения комплексов включения жирных кислот и их производных. Отмечается важность использования таких комплексов для целей концентрирования, экстракции и фракционирования различных изомеров жирных кислот, а также повышения биодоступности липидов посредством перевода их в супрамолекулярные комплексы. Основываясь на данных литературы, автор диссертации выдвигает тезис о том, что высокая химическая активность, многообразие молекулярных форм и близкие физико-химические характеристики (включая хроматографические параметры) сопряженных жирных кислот требуют поиска особых условий их определения, исключающих неконтролируемую дериватизацию нативных соединений; количественных методов их концентрирования и фракционирования и надежных способов идентификации отдельных соединений в сложных природных смесях (маслах). В качестве особого пожелания хотел бы порекомендовать автору диссертации опубликовать результаты выполненного анализа литературы в виде отдельного обзорного сообщения в одном из профильных изданий аналитической направленности. Таким образом, обзор данной литературы однозначно показывает **актуальность** и **перспективность** выполненного диссертационного исследования, поскольку вопросы по развитию хроматографических методов анализа химически лабильных природных соединений имеют огромное практическое значение и по целому ряду позиций пока остаются не решенными. Резюмируя анализ первой главы диссертации можно заключить, что **цель** диссертационного исследования о необходимости поиска оптимальных условий ВЭЖХ-определения ТАГ, содержащих радикалы кислот с сопряженными двойными связями в маслах семян растительных объектов и изучения супрамолекулярных комплексов жирных кислот и их производных с мочевиной и циклодекстринами **сформулирована четко, обоснованно и своевременно**.

В диссертационной работе исследованы образцы масел, выделенных из семян большого числа ботанических объектов, которые известны и однозначно охарактеризованы. Кроме того, были исследованы образцы сыра и молока различных торговых марок. Качество использованных в диссертационной работе реактивов и материалов, а также характеристики и параметры аналитического оборудования не позволяют сомневаться в надежности и воспроизводимости полученных данных. Детально и грамотно описаны этапы проведенного химического анализа: стадия экстракции масел из семян растений и жиров из образцов сыра и молока, очистки полученных экстрактов, а также контроль каталитической активности использованного сорбента с компонентами полученных экстрактов. Практически важными являются приведенные в диссертации сведения об условиях хроматографирования масел: выбор колонок, состава элюентов, условий элюирования (в том числе и Ag^+ -модифицирование) и способов детектирования. Методически грамотно изложены разделы, посвященные обработке первичных хроматографических данных, включая поправки на показания рефрактометрического и спектрофотометрического детекторов. Без сомнения, важной является информация по методам исследования комплексов включения изученных липидов с циклодекстринами и методика фракционирования сопряженных жирных кислот. Таким образом, из описания экспериментальной части диссертации непосредственно следует, что все представленные в работе экспериментальные данные **получены** автором **лично**, либо при его **непосредственном участии**, что подтверждается достаточно большим числом устных сообщений, сделанных Нгуен Ван Ань с соавт. на профильных конференциях разного уровня.

В первой части главы 3 приводятся обоснованные аргументы при выборе оптимальных условий определения ТАГ методом ВЭЖХ. Автор диссертации отмечает, что удерживание изученных ТАГ на колонках с октил- и октадецилсиликагельными НФ из среды полярных элюентов подчиняется общеизвестным закономерностям сорбции в условиях ОФ ВЭЖХ. В результате анализа и обобщения влияющих на удерживание и разделение ТАГ различных факторов автор диссертации находит оптимальный набор параметров их хроматографирования в условиях ВЭЖХ (соста элюента, скорость ПФ, температура колонок и т.д.). Важным с позиции разрабатываемых в дальнейшем аналитических методик является то, что достигнутые показатели повторяемости факторов удерживания и относительного стандартного отклонения определения площадей пиков являются более чем приемлемыми. В диссертации показана эффективность инкрементного подхода к анализу

вклада функциональных групп и общих фрагментов в удерживание различных сорбатов. Установлено, что подобный подход позволяет определить видовой состав анализируемых ТАГ. В итоге, в диссертации удалось определить видовой состав ТАГ и даже тетраацилглицеридов (эстолидов) более 20 масел, содержащих молекулы липидов с сопряженными диеновыми, триеновыми и тетраеновыми фрагментами. Все перечисленное выше имеет, безусловно, большое методическое значение при анализе сложных смесей ТАГ. Во второй части главы 3 диссертации были предложены уравнения относительного удерживания на примере ТАГ, содержащих радикалы сопряженных октадекатриеновых кислот (СОК). Полученные уравнения оказались универсальными и не зависящими от марки используемого сорбента С18. В диссертации доказано, что внедрение предлагаемой системы индексаций позволяет существенно повысить межлабораторную воспроизводимость и аналитические возможности лабораторий при определении ТАГ с той или иной структурной особенностью. Важным **фундаментальным результатом** диссертации Нгуен Ван Ань, вносящим заметный вклад в развитие теории ВЭЖХ, следует считать предложенную модель строения стационарной ОФ, которая позволила объяснить различия в сорбции *цис*- и *транс*-изомеров ненасыщенных жирных кислот на алкилсиликагельных сорбентах. Важность предложенной модели в том, что она впервые позволяет аргументированно объяснить пространственную (*цис*-/*транс*-) селективность привитой алкильной фазы, интервал структурной селективности которой, как известно, не широк! Ограниченный объём отзыва не позволяет перечислить все положительные аспекты данной диссертационной работы. Упомяну лишь полученные интереснейшие данные по изучению тубулатоклатратов жирных кислот с мочевиной; комплексообразование изученных липидов с циклодекстринами, а также результаты разделения полиненасыщенных кислот посредством Ag^+ -ВЭЖХ. Замечу, что последний метод имеет большие аналитические возможности в анализе ТАГ с ненасыщенными фрагментами, поскольку в отличие от ОФ ВЭЖХ наблюдается обратный порядок элюирования полиненасыщенных жирных кислот. Все это придаёт исследованиям Нгуен Ван Ань **целостность и внутреннюю связь** между отдельными разделами диссертационной работы.

Достоверность полученных в диссертации Нгуен Ван Ань результатов и выводов по ряду основных позиций и положений, выносимых на защиту, не вызывает сомнений, поскольку они не противоречат современным представлениям из области жидкостной хроматографии природных соединений, экстракции, химии жирных кислот и их производных, спектрометрии, калориметрии, основам супрамолекулярной химии, методам вычислительной химии и др. и хорошо согласуются с известными литературными сведениями по проблеме выполненного исследования. Кроме того, в работе использованы современное аналитическое оборудование, классические "мокрые" методы анализа, известные квантово-химические программы, что является важным показателем надежности и достоверности полученных результатов и выводов. Хочется особо отметить скрупулезность и аккуратность выполненного экспериментального исследования, умелое владение методами квантовой химии, логику и четкую аргументацию в выборе объектов и средств исследования, а также ясную интерпретацию полученных данных. Нет сомнений в том, что настоящая диссертационная работа будет иметь продолжение с целью поиска новых аналитических решений применительно к хроматографии ненасыщенных жирных кислот и их производных, характеризующихся уникальными физико-химическими и биологическими свойствами.

Диссертационная работа прошла необходимую **апробацию**. Основные результаты, положения и выводы диссертационной работы доложены и обсуждены на представительных профильных всероссийских и международных конференциях. По материалам диссертации опубликовано 28 работ, включая 12 статей в международных и академических изданиях, входящих в перечень ВАК и библиографические базы данных Web of Science и Scopus (7 статей), а также тезисы 16 докладов. Нельзя не отметить тот факт, что материалы диссертационной работы могут представлять большой практический интерес, в связи с чем можно рекомендовать членам научного коллектива запатентовать некоторые методики и найденные аналитические решения с целью закрепления приоритета в данной области исследований в нашей стране. Диссертационная работа Нгуен Ван Ань аккуратно оформлена, лаконично изложена и логично структурирована. Автореферат и публикации **полностью отражают** содержание диссертационной работы, соответствующей паспорту научной специальности 02.00.02 – аналитическая химия (п.2, 4, 7, 8, 10, 13 и 14).

Диссертационная работа Нгуен Ван Ань не лишена **отдельных недостатков** и связанных с ними **вопросов**.

1. При такой большой выборке изучаемых масел, автор диссертации не использует ни одного "чистого" ТАГ в качестве вещества-сравнения. Немного смущает то, что идентификация всех ТАГ выполнена без применения реперных соединений. Почему для оценки правильности количественных измерений не использован ни один из классических приёмов анализа ("*введено-найденно*"; "*независимый метод*"; "*метод стандартных образцов*")?

2. При выводе уравнения относительного удерживания ТАГ (стр.114 диссер.) в качестве реперного соединения использован ТАГ состава $ПУ_3$. Почему выбор сделан в пользу ТАГ именно этого состава? Как показывает анализ данных по составу изученных масел (табл.3.6-3.34 диссер.) пуниковая кислота ($ПУ$) входит в состав далеко не всех масел.

3. Не вполне ясно, каким образом идентифицировались изомеры (если идентифицировались?) ТАГ с разным взаимным расположением кислотных остатков в молекуле (например, α ЭЛП и α ЭПЛ)? Можно ли поделить такие изомеры в рассмотренных в работе условиях?

4. Почему предложенная модель строения "мономерной" С18-НФ не опробирована на примере более простых молекул (например, *цис-/транс*-алкенов, линейных и разветвленных алканов и др.)? В связи с этим возникает вопрос о "ширине" интервала *цис-/транс*-структурной селективности С18-фазы (проявляется ли для других классов веществ с неопредельными фрагментами)? К сожалению, отсутствуют данные по сравнению селективных свойств обычной С18-НФ и Ag^+ -НФ.

5. Какова стехиометрия изученных комплексов включения с участием β -циклодекстринов (β -ЦД)? На сколько корректно говорить о комплексе включения масла момордики (смесь веществ) или жирных кислот (каких именно?) с β -ЦД (табл.3.40, стр.137 диссер.)? Почему авторы исключают возможность эндоциклического комплексообразования компонентов масла с "внешними" ОН-группами β -ЦД? К сожалению, отсутствуют количественные данные об устойчивости комплексов включения изученных липидов с β -ЦД. Есть основания полагать, что по сравнению с объёмными молекулами гостя (терпены, нафталины, адамантаны и др.) комплексы β -ЦД с квазилинейными молекулами жирных кислот будут неустойчивыми (по данным литературы комплексы линейных молекул с более подходящим по диаметру α -ЦД будут более устойчивы)!

6. По тексту и оформлению диссертации имеется несколько замечаний: 1) зачем приводить ссылку английский (переводной) вариант статьи, если оригинал опубликован на русском языке (см. например, ссылки 6, 62, 147, 160, 161 и др.); 2) не совсем корректен термин "ион-серебряная ВЭЖХ" (стр.25 диссер.); 3) что означает термин "конъюгированные" кислоты (стр.21 диссер.)?

Важно подчеркнуть, что сформулированные выше замечания и возникшие вопросы не сильно влияют на общую **положительную оценку** диссертации Нгуен Ван Ань, а замечания и вопросы по целому ряду позиций следует рассматривать как элементы научной дискуссии.

Результаты работы **могут быть использованы** в проведении научных исследований в Московском государственном университете им. М.В. Ломоносова (г. Москва), Санкт-Петербургском государственном университете (г. Санкт-Петербург), Воронежском государственном университете (г. Воронеж), Саратовском государственном университете (г. Саратов), Пермском государственном университете (г. Пермь), Самарском университете (г. Самара), Институте геохимии и аналитической химии РАН им. В.И. Вернадского (г. Москва), Башкирском государственном университете (г. Уфа), Новосибирском государственном университете (г. Новосибирск) и в других научно-образовательных центрах страны, а также в учебных курсах по методам разделения и концентрирования в аналитической химии, теории и практики хроматографических методов анализа, химии супрамолекулярных структур, а также квантово-химическим методам моделирования сложных физико-химических явлений. Не вызывает сомнений тот факт, что найденные новые подходы и аналитические решения к анализу полиненасыщенных жирных кислот в составе триацилглицеридов и в супрамолекулярных комплексах найдут использование в анализе широко круга реальных объектов, включая продукты питания, фармацевтические препараты и другие сложные смеси природных липидов. Кроме того, могут оказаться полезными сведения по комплексообразованию жирных кислот и их производных с мочевиной и циклодекстринами для создания новых методик эффективного и селективного концентрирования и фракционирования близких по свойствам соединений из сложных природных объектов. Нельзя не упомянуть и значение данной работы для развития теории ВЭЖХ, связанное, прежде всего, с пониманием молекулярного механизма разделения высоколипофильных соединений на сорбентах различной природы.

Диссертационная работа Нгуен Ван Ань "Определение полиненасыщенных жирных кислот в составе триацилглицеринов и в супрамолекулярных комплексах методом ВЭЖХ" полностью соответствует требованиям пункта 9 "Положения о порядке присуждения ученых степеней", утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года №842, как научная квалификационная работа, в которой содержится решение задач, имеющих существенное значение для развития селективных методов экстракции и высокоэффективной жидкостной хроматографии при определении химически лабильных полиненасыщенных органических соединений в составе триацилглицеридов растительных масел, а также применения супрамолекулярных агентов и организованных сред для концентрирования и фракционирования липидов с последующим их селективным и эффективным разделением. Безусловно, Нгуен Ван Ань, **заслуживает присуждения** ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 – аналитическая химия.

Официальный оппонент:

доктор химических наук

(специальности 02.00.04 – физическая химия и

02.00.02 – аналитическая химия), член НСАХ РАН,

доцент кафедры аналитической и физической химии

химико-технологического факультета Самарского

государственного технического университета

(443100, г. Самара, ул. Молодогвардейская, 244

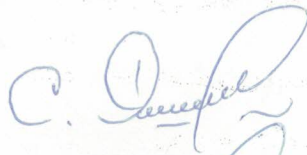
Самарский государственный технический университет,

химико-технологический факультет, кафедра аналитической

и физической химии

e-mail: snyashkin@mail.ru,

тел.: (846) 3222251



Яшкин Сергей Николаевич

8 июня 2020 года

Подпись д.х.н., доцента Яшкина С.Н. заверяю:

Ученый секретарь СамГТУ, д.т.н.



Ю.А. Малиновская