

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу Солдаткіної Ольги Василівни
«Використання нано- та мікророзмірних матеріалів для розробки
електрохімічних сенсорів з покращеними аналітичними характеристиками»,
що представлена на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук
за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія

Визначення концентрацій важливих біологічно активних речовин є достатньо поширеним, точним методом отримання необхідної інформації щодо фізіолого-біохімічного стану популяції клітин, функціонування певних органів і макроорганізмів. Такий підхід є точним, але потребує складної пробопідготовки, вартісного обладнання та висококваліфікованого персоналу. Зважаючи на це, значні зусилля науковців направлені на розробку біосенсорів, застосування яких дозволяє значно спростити процедуру визначення активності ряду біологічно-активних речовин.

В останнє десятиріччя значна увага приділяється дослідженню нано- та мікророзмірних часток матеріалів різної природи для розробки високоефективних біотехнологій. Це обумовлено тим, що при зменшенні розміру часток твердих матеріалів значно зростає їх поверхня, на якій містяться різні функціональні групи, здатні взаємодіяти з органічними та мінеральними сполуками. Застосування наноматеріалів є перспективним напрямком розробки біосенсорів, що дозволяє покращити їх основні аналітичні характеристики: чутливість, відтворюваність результатів аналізу, операційна стабільність та інші.

Зважаючи на це, дисертаційна робота О.В. Солдаткіної, метою якої є розробка нових біотехнологічних підходів використання мікро- та нанорозмірних матеріалів для покращення аналітичних характеристик електрохімічних сенсорів є актуальною. Актуальність дисертаційної роботи підтверджується її зв'язком з тематичними планами кафедри молекулярної

біотехнології та біоінформатики Інституту високих технологій Київського національного університету імені Тараса Шевченка та лабораторії біомолекулярної електроніки Інституту молекулярної біології і генетики НАН України НАН України.

Для досягнення поставленої мети О.В. Солдаткіна застосувала значний арсенал сучасних біохімічних, хімічних, фізичних, фізико-хімічних та статистичних методів дослідження.

Структура та обсяг дисертації

Дисертаційна робота викладена на 177 сторінках, побудована за класичною схемою і включає анотацію, вступ, розділ літературного огляду, розділ матеріали та методи, трьох розділів, в яких викладені результати власних досліджень, розділ, що присвячений аналізу та узагальненню результатів досліджень, висновки та список цитованої літератури, що містить 174 посилання.

В літературному огляді дисертантом наводиться ґрунтовний аналіз існуючих методів аналізу ряду метаболітів, розглянуто переваги і недоліки існуючих електрохімічних біосенсорів, перспективність застосування ряду типів наноматеріалів у створенні біосенсорів і їх використання в різних сферах діяльності. На основі аналізу літератури дисертантом акцентується увага на проблемах, що потребують вирішення в дисертаційній роботі.

Наукова новизна досліджень, їх значення для науки і практики

Наукова новизна результатів дисертаційної роботи О.В. Солдаткіної полягає в наступному. Дисертанткою досліджено різні підходи щодо створення ферментних біосенсорів з використанням нано- та мікрочасток цеолітів при визначенні низки біологічно-активних речовин з застосуванням кондуктометричних, амперометричних та потенціометричних перетворювачів. Розроблені методи іммобілізації ферментів на наночастках цеоліту, які були успішно використані для іммобілізації уреазы, глюкозооксидази, глутаматоксидази та ацетилхолін естерази.

Показано, що адсорбція ферментів на моно шарі цеоліту дозволяє уникнути використання токсичних речовин (глутарового альдегіду) для іммобілізації ферменту і отримувати потенціометричні біосенсори з покращеними аналітичними характеристиками. Встановлено, що додавання цеолітів на 40% підвищувало відгуки кондуктометричного біосенсора при визначенні сечовини в аналітах. Для такого типу біосенсора оптимальні показники досягались за концентрації цеоліту 7,5%, в той час як для потенціометричного -15%. Створені на основі цеолітів біосенсори мали кращі характеристики (простоту і швидкість аналізу, високий рівень відтворюваності приготування біосенсорів) у порівнянні з результатами, отриманими при застосуванні традиційного методу іммобілізації. Дані переваги є особливо важливими для процесу стандартизації біосенсорів та їх подальшого широкого практичного застосування.

Дисертанткою показано, що для різних ферментів необхідно підбирати певний тип наноматеріалу, оптимальний для роботи біосенсори. О.В.Солдаткіною акцентується увага на певних перевагах кондуктометричних біосенсорів (простота будови та дешевизна) у порівнянні з амперометричними і потенціометричними.

Однією з найважливіших аналітичних характеристик біосенсорів є їх селективність, тобто здатність визначати тільки певну, цільову сполуку, не реагуючи на інші компоненти середовища. Для підвищення селективності біосенсора, зниження впливу інтерферуючих речовин на його відгук розроблена методика покращення селективності амперометричного перетворювача за рахунок нанесення на його чутливу поверхню фенілендіамінової мембрани. Показано, що така мембрана була проникною для перексиду водню, водночас є непроникною до інших інтерферуючих електроактивних речовин. Такий підхід використаний дисертанткою при розробці біосенсорів.

О.В.Солдаткіною розроблено сенсори на основі каліксаренової мембрани для кількісного визначення аргініну в різних зразках. Встановлено, що застосування 10% розчину каліксарену є найбільш придатним для визначення аргініну за його концентрації від 5 мкМ до 5мМ. Показана перспективність його застосування для визначення аргініну за присутності інших амінокислот.

Створені лабораторні прототипи сенсорів протестовані шляхом аналізу реальних зразків. Кондуктометричний біосенсор на основі уреазі, адсорбованої на силікаліті, використаний для визначення концентрацій сечовини в зразках сироватки крові здорових та хворих на ниркову недостатність людей. Біосенсор для визначення аргініну також протестований на препаратах шести виробників. Отримані результати свідчать про перспективність застосування розроблених біосенсорів для визначення ряду біологічно активних сполук.

Створено двоферментний біосенсор для визначення аргініну. Найбільші відгуки такого біосенсора на аргінін спостерігали за концентрації аргінази в біоселективному електроді 5%.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків та рекомендацій, сформульованих в дисертації

Вищенаведене свідчить про те, що дисертаційна робота О. В. Солдаткіної має як фундаментальне, так і практичне значення, оскільки розроблені дисертанткою нові підходи покращення аналітичних характеристик біосенсорів можуть бути корисними для визначення глюкози, сечовини, глутамату, ацетилхоліну, аргініну в різних зразках.

Результати дисертаційної роботи добре висвітлені в 14 наукових публікаціях, серед яких 6 статей, один патент України, 7 тез доповідей. Статті за темою дисертаційної роботи опубліковані в іноземних журналах та в українському фаховому виданні. Висновки дисертаційної роботи є аргументованими і логічно витікають з отриманих автором результатів.

Автореферат дисертації відповідає її змісту. Все це свідчить про те, що робота заслуговує схвалення і підтримки.

До дисертантки є ряд питань та деякі зауваження.

1. Яким чином нормували кількість ферменту на поверхні біосенсора?

Так, на стор. 53 вказано, що масова частка глюкозооксидази в біоселективному елементі становила від 0,6 до 10,0 %. Як визначали цей показник в біоселективному елементі чи ці дані відносяться до вмісту ферменту в суміші, що використовувалась для іммобілізації?

2. На стор. 81 вказано, що одночасна іммобілізація уреазы з цеолітом H^+ Бета-30 сприяє підвищенню чутливості біосенсора. Оскільки цеоліти адсорбували на поверхні перетворювача за впливу відносно високих температур ($150^{\circ}C$), яким способом сорбували уреазу з цеолітом в даному випадку?

3. На сторінці 98 вказано, що прикріплення цеолітів до поверхні перетворювачів було нестійким. Чому відбувалось так і як запобігти цьому?

4. Чому відгуки біосенсорів на певні сполуки реєстрували при кімнатній температурі, адже для кожного ферменту, сорбованого на перетворювачі, характерний певний оптимум температури, що значно відрізняється від кімнатної?

5. На стор. 79 дисертант застосовує термін «спершу». На думку опонента краще було б писати «насамперед» чи «спочатку».

6. В табл.3.7 та по тексту (стор.79 та інші) приводиться «розведення зразку». Доцільно- «розведення зразка».

Вказані зауваження не знижують наукового значення представленої дисертаційної роботи, яка є важливим досягненням дисертанта.

Висновок по дисертації. Дисертаційна робота «Використання нано- та мікророзмірних матеріалів для розробки електрохімічних сенсорів з покращеними аналітичними характеристиками», що представлена на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.20- біотехнологія, є завершеним науковим дослідженням, в якому на

основі сучасних методичних підходів розроблено метод іммобілізації ферментів на поверхні електрохімічних перетворювачів, модифікованих нано- і мікрочастками цеолітів, оптимізовано селективність роботи біосенсора шляхом нанесення на електроди поліфенілендіамінової мембрани, розроблено кондуктометричний біосенсор на основі каліксаренової мембрани для селективного визначення аргініну.

Робота виконана на високому науково-методичному рівні. За актуальністю, новизною, науково-практичною значимістю результатів дисертаційна робота відповідає вимогам «Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 24.07. 2013 р. № 567, а її автор, Солдаткіна Ольга Василівна, заслуговує присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.20-біотехнологія.

Офіційний опонент, завідувач відділу мікробіологічних процесів на твердих поверхнях Інституту мікробіології


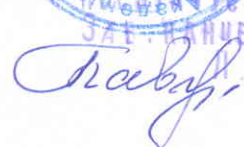
і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України,

доктор біологічних наук, професор

 І.К.Курдиш

4 квітня 2019 р.




 В.МАНАРЕЦЬ