

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Сваловой Татьяны Сергеевны на тему: «Разработка электрохимических иммуносенсоров для определения бактерий *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus* с использованием наночастиц  $Fe_2O_3$  в качестве прямой сигналообразующей метки», представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 – аналитическая химия.

### Актуальность работы.

Наиболее распространенным возбудителем инфекционных заболеваний бактериальной этиологии являются бактерии группы кишечной палочки *Escherichia coli*. Являясь грамотрицательным патогеном, бактерии *Escherichia coli* в норме населяют нижнюю часть кишечника теплокровных животных и человека. Некоторые штаммы *Escherichia coli* способны вызывать самые различные заболевания, включая тяжелые пищевые отравления, перитонит, кольпит и сепсис. Грамположительные бактерии *Staphylococcus aureus* относятся к возбудителям множества кожных и инфекционно-токсических заболеваний. Ключевыми факторами в борьбе с бактериальными патогенами являются быстрое и точное обнаружение источника инфицирования и контроль распространения бактериальных агентов в окружающей среде. Имеющиеся методы анализа этих бактерий или длительны, или требуют дорогостоящего оборудования. Актуальной задачей в настоящее время является разработка новых экспрессных, чувствительных, точных, недорогих и удобных в использовании методов, сенсоров и приборов для определения возбудителей инфекционных заболеваний в объектах окружающей среды, пищевых продуктах и биологических жидкостях пациентов. Электрохимические методы анализа, предлагаемые диссертантом, решают такую задачу.

Работа Сваловой Т. С. посвящена разработке электрохимических иммуносенсоров для определения бактерий *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus* с использованием наночастиц  $Fe_2O_3$  в качестве прямой сигналообразующей метки. Диссертантом исследованы:

- строение, состав и морфологические особенности синтезированных методом соосаждения наночастицы состава « $Fe_3O_4$ -хитозан» и « $Fe_3O_4$ -3-аминопропилтриэтоксисилан»;
- изучен характер электропревращений наночастиц  $Fe_3O_4$  в апротонной среде;
- изучено влияние модифицирующего покрытия на седиментационную устойчивость и электрохимические свойства наночастиц  $Fe_3O_4$ ;
- выбраны условия формирования аналитического сигнала от наночастиц магнетита в апротонной среде;
- исследованы кинетические особенности взаимодействия наночастиц « $Fe_3O_4$ -хитозан» и « $Fe_3O_4$ -3-аминопропилтриэтоксисилан» с клетками *Escherichia coli* ATCC 25992 и *Staphylococcus aureus* B-1266;
- выбран рабочий электрод для анализа. В качестве рабочего электрода выбран планарный платиновый электрод, модифицированный частицами магнетита. После электровосстановления модификатора в апротонной среде на анодной вольтамперной кривой наблюдаются аналитические сигналы (электрохимическая метка);
- изучена кинетика процесса окисления продуктов электроокисления модификатора, природы фонового электролита, выбран способ модифицирования поверхности электрода антителями;



- выбраны оптимальные условия формирования иммунокомплекса «антитело-меченая наночастица бактерия» на поверхности рабочего электрода и разработана алгоритм проведения процедуры анализа для количественного определения бактерий *Escherichia coli* ATCC 25992 и *Staphylococcus aureus* B-1266.

На основании разработанной методики проведены определения бактерий *Escherichia coli* ATCC 25992 и *Staphylococcus aureus* B-1266 в модельных суспензиях и реальных пробах с использованием разработанного электрохимического иммуносенсора. Правильность проводимых определений контролировалась известными методами анализа (бактериального посева и ИФА).

В результате проведенных исследований диссертантом Сваловой Т. С. получены новые научные результаты:

- Впервые исследованы особенности электрохимических превращений наночастиц  $Fe_3O_4$  в растворе ацетонитрила, используемых в качестве прямой сигналообразующей метки в разработанных электрохимических иммуносенсорах для количественного определения бактерий *Escherichia coli* ATCC 25992 и *Staphylococcus aureus* B-1266. Установлено, что характер окислительно-восстановительных превращений наночастиц магнетита на поверхности рабочего электрода в апротонной среде зависит от потенциала предварительного электролиза. Предложены схемы протекания электрохимических превращений наночастиц  $Fe_3O_4$  на поверхности рабочего электрода в апротонной среде после предварительного электролиза при потенциалах -2,5 В и -1,3 В. Выбраны условия формирования прямого электрохимического отклика от  $Fe_3O_4$  в апротонной среде для дальнейшего использования наночастиц в качестве метки в электрохимическом иммуноанализе.
- Впервые установлено, что покрытие хитозаном и 3-аминопропилтриэтоксисиланом не влияет на электрохимическую активность наночастиц магнетита в апротонной среде. Обоснована возможность использования наночастиц « $Fe_3O_4$ -хитозан» и « $Fe_3O_4$ -3-аминопропилтриэтоксисилан» в качестве прямой сигналообразующей метки для количественного определения бактерий. Показано, что наночастицы  $Fe_3O_4$ , модифицированные хитозаном и 3-аминопропилтриэтоксисиланом, проявляют большую седиментационную устойчивость по сравнению с немодифицированными наночастицами.
- Изучена кинетика процессов взаимодействия наночастиц « $Fe_3O_4$ -хитозан» и « $Fe_3O_4$ -3-аминопропилтриэтоксисилан» с бактериальными клетками *Escherichia coli* ATCC 25992 и *Staphylococcus aureus* B-1266.
- Установлена линейная зависимость величины прямого аналитического сигнала наночастиц магнетита, включенных в иммунокомплекс на поверхности рабочего электрода, от количества бактерий *Escherichia coli* ATCC 25992 и *Staphylococcus aureus* B-1266 в модельных суспензиях.
- Впервые определены чувствительность, точность и селективность разработанных электрохимических иммуносенсоров для детектирования бактерий *Escherichia coli* ATCC 25992 и *Staphylococcus aureus* B-1266 в сравнении с методами бактериального посева и ИФА на модельных суспензиях, смесях бактерий и реальных пробах.



### Практическая значимость работы.

Синтезированы наночастицы « $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -хитозан» и « $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -3-аминопропилтриэтоксисилан», проявляющие выраженную электрохимическую активность в апротонной среде, для количественного определения бактерий *Escherichia coli* ATCC 25992 и *Staphylococcus aureus* В-1266. Определены размеры, форма и состав синтезированного материала.

Разработана новая методика введения метки в материал электрода, которую, вероятно, можно использовать и для определения других бактерий. Разработана новая дешевая, простая, экспрессная электрохимическая методика определения бактерий в анализируемых пробах.

### Заключение.

Работа относится к разделу химии 02.00.02 – аналитическая химия и имеет большое прикладное значение. Положения и выводы, сформулированные в диссертации, экспериментально доказаны. Основные научные результаты диссертации опубликованы в 2-х статьях в зарубежных и отечественных журналах, входящих в перечень ВАК РФ, в одном патенте на изобретение и 10 тезисов докладов. Автореферат достаточно полно раскрывает содержание диссертации. Оформление автореферата соответствует установленным требованиям.

На основе изучения автореферата можно заключить, что диссертационная работа Сваловой Татьяны Сергеевны является большим по объему, рационально спланированным и завершенным научным исследованием, научная новизна которого не вызывает сомнений. Опубликованные работы отражают содержание автореферата. Результаты исследований обсуждались на Международных и Всероссийских конференциях.

Диссертационная работа «Разработка электрохимических иммуносенсоров для определения бактерий *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus* с использованием наночастиц  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  в качестве прямой сигналообразующей метки» соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, как научная квалификационная работа, а автор работы - Свалова Татьяна Сергеевна заслуживает присуждения искомой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 – аналитическая химия.

Доктор химических наук, профессор кафедры физической и аналитической химии Института природных ресурсов Национального исследовательского Томского

политехнического университета

634050, г. Томск, Ленина, 30.

nak@tpu.ru

контактный телефон: 8 (3822)56 16 40

Колпакова Нина Александровна

«ЗАВЕРЯЮ»

Ученый секретарь Национального

исследовательского Томского

политехнического университета

20.05.2016



Ананьева О.А.

(Ананьева О.А.)