

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 212.285.09 НА БАЗЕ  
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО АВТОНОМНОГО  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ  
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «УРАЛЬСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ  
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ПЕРВОГО ПРЕЗИДЕНТА РОССИИ  
Б.Н.ЕЛЬЦИНА», МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ, ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ  
УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № \_\_\_\_

решение диссертационного совета от 14 июня 2016 г. № 4

О присуждении Сваловой Татьяне Сергеевне, гражданство Российской Федерации, ученой степени кандидата химических наук.

Диссертация «Разработка электрохимических иммуносенсоров для определения бактерий *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus* с использованием наночастиц  $Fe_3O_4$  в качестве прямой сигналообразующей метки» по специальности 02.00.02 – Аналитическая химия принята к защите 11 апреля 2016 г., протокол № 3 диссертационным советом Д 212.285.09 на базе ФГАОУ ВПО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н.Ельцина», Минобрнауки России; 620002, г. Екатеринбург, ул. Мира, 19; созданного приказом Минобрнауки России № 105/нк от 11.04.2012 г.

Соискатель, Свалова Татьяна Сергеевна, 1990 года рождения. В 2012 году окончила ФГАОУ ВПО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н.Ельцина»; обучается в очной аспирантуре ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н.Ельцина» по специальности 02.00.02 – Аналитическая химия (предполагаемый срок окончания аспирантуры – 30.09.2016 г.); работает в должности младшего научного

сотрудника кафедры аналитической химии Химико-технологического института ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», Минобрнауки России.

Диссертация выполнена на кафедре аналитической химии Химико-технологического института ФГАОУ ВПО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н.Ельцина», Минобрнауки России.

**Научный руководитель** – кандидат химических наук, доцент, Козицина Алиса Николаевна, ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н.Ельцина», Химико-технологический институт, кафедра аналитической химии, доцент.

Официальные оппоненты:

**Евтюгин Геннадий Артурович**, доктор химических наук, профессор, ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Химический институт им. А.М. Бутлерова, кафедра аналитической химии, заведующий кафедрой;

**Еремин Сергей Александрович**, доктор химических наук, профессор, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова», Химический факультет, кафедра химической энзимологии ведущий научный сотрудник,

дали положительные отзывы на диссертацию.

**Ведущая организация** – ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет», г. Уфа – в своем положительном заключении, подписанном Майстренко Валерием Николаевичем, доктором химических наук, профессором, заведующим кафедрой аналитической химии и Сидельниковым Артемом Викторовичем, кандидатом химических наук, доцентом кафедры аналитической химии, указала, что диссертационная работа Сваловой Татьяны Сергеевны по актуальности решаемой проблемы, объему проведенных исследований, уровню их обсуждения научной значимости соответствует требованиям п. 9 Положения о присуждении

ученых степеней, и может рассматриваться как завершенная научно-квалификационная работа, в которой содержится решение научной задачи, имеющее существенное значение для развития методов электрохимического иммуноанализа, а именно, разработки бесферментных электрохимических иммуносенсоров на основе наночастиц состава « $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -хитозан» и « $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -3-аминопропилтриэтоксисилан». Свалова Татьяна Сергеевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 – Аналитическая химия.

Соискатель имеет 13 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации – 13 работ, опубликованных в рецензируемых научных изданиях – 2.

Другие публикации представлены в виде 1 патента РФ на изобретение, 10 тезисов докладов международных (3) и российских (7) научных конференций. Общий объем опубликованных по теме диссертации работ 2,9 п.л., авторский вклад – 1,37 п.л.

Наиболее значительные научные работы по теме диссертации:

1. **Svalova T.** A new enzyme-free electrochemical immunoassay for *Escherichia Coli* detection using magnetic nanoparticles / A. Kozitsina, **T. Svalova**, N. Malysheva, Y. Glazyrina, A. Matern // Analytical letters. – 2016. - V. 49. – Is. 2. – P. 245-257 (1 п.л./0,3 п. л).

2. **Свалова Т.С.** Исследования электрохимических превращений наночастиц  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  в апротонных средах / А. Н. Козицина, **Т. С. Свалова**, Ю. А. Глазырина, А. В. Иванова, А. И. Матерн // Изв. РАН. Серия химическая. – 2016. №3. – С. 697-703 (0,7 п. л./0,15 п. л.).

3. Пат. 2538153 РФ. МПК C12N1/02, C12Q1/04, G01N33/00, B82B1/00 Электрохимический способ иммуноанализа для определения микроорганизмов / Козицина А. Н., Митрофанова Т. С. (Свалова Т. С.), Матерн А. И.; заявл. 22.03.2013; опубл. 20.02.2015, бюл. №1.

На автореферат поступили положительные отзывы от:

1. **Генералова Владимира Михайловича**, доктора технических наук, ведущего научного сотрудника отдела биофизики и экологических

исследований, и **Колосова Алексея Владимировича**, кандидата биологических наук, старшего научного сотрудника отдела биофизики и экологических исследований ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», г. Новосибирск. В отзыве имеются вопросы и замечания:

- термин «детектирование» и авторский синоним «определение» используется не совсем корректно. Детектирование (от лат. *detectio* обнаружение) – преобразование электрических колебаний. Термин *индикация* (указание, намек, подсказка) отражает более точно возможности формирования прямого электрохимического отклика от наночастиц и получения аналитического сигнала для дальнейшего использования в электрохимическом иммуноанализе;

- таблицы в тексте должны быть самодостаточны, а в таблице 4 автореферата совершенно непонятно, что такое  $\langle t \rangle$  и в каких единицах этот параметр измеряется (если это время, то это, секунды, часы, сутки?).

2. **Стожко Наталии Юрьевны**, доктора химических наук, профессора, заведующей кафедрой физики и химии Института торговли, пищевых технологий и сервиса ФГБОУ ВО «Уральский государственный экономический университет», г. Екатеринбург. В отзыве имеются вопросы:

- сдвиг потенциала максимального тока окисления наночастиц магнетита с разным полимерным покрытием в анодную область (рис. 6) свидетельствует о том, что в ряду  $\text{Fe}_3\text{O}_4 < \text{Fe}_3\text{O}_4\text{-хитозан} < \text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2\text{-NH}_2$  возрастает перенапряжение электроокисления наночастиц, т.е. анодный процесс замедляется, а не наоборот;

- не совсем ясно, каким образом производили расчет электронов для тока пика  $E_{\text{pa1}}$  (рис. 2b), если учесть, что катодная составляющая тока вносит определенный вклад в его формирование?

3. **Карякина Аркадия Аркадьевича**, доктора химических наук, профессора, заведующего лабораторией электрохимических методов кафедры аналитической химии Химического факультета ФГБОУ ВО

«Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», г. Москва. Без замечаний.

4. **Супрун Елены Владимировны**, кандидата химических наук, старшего научного сотрудника лаборатории биоэлектрохимии ФГБУН «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича», г. Москва. В отзыве имеются вопросы:

- рисунок 2 требует обозначения начала развертки потенциала и подробного пояснения по каждому из сигналов, зарегистрированных на вольтамперограммах;

- выбор значений потенциала предварительного восстановления ( $-2,5$  и  $-1,3$  В) для регистрации сигнала наночастиц  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  остается не ясным;

- за счет каких именно ковалентных взаимодействий происходит «встраивание» наночастиц « $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2\text{-NH}_2$ » в клеточную стенку бактерий?

5. **Гунцова Александра Владимировича**, доктора химических наук, доцента, заведующего кафедрой общей и физической химии, и **Хлыновой Натальи Михайловны**, кандидата химических наук, доцента, доцента кафедры общей и физической химии ФГБОУ ВО «Тюменский индустриальный университет», г. Тюмень. В отзыве имеются вопросы:

- четыре планарных электрода, описанные в методологии и методах исследования, которые были выбраны для разработки бесферментных электрохимических иммуносенсоров (стр. 14), на рисунке 5 обозначены иначе (без соответствующих пояснений), чем в тексте (стр. 9);

- на рисунке 4б приведены количества электричества (в микрокулонах), возможно обусловленные добавками бензойной кислоты без всяких пояснений;

- при сравнении чувствительности электрохимических иммуносенсоров (стр.19) указано, что в случае применения сенсора тип 3 чувствительность определения заметно снижена, что обусловлено меньшим количеством иммобилизованных антител. Следовало бы попытаться указать вероятную причину (физико-химический механизм) такого уменьшения.

**6. Колпаковой Нины Александровны**, доктора химических наук, профессора кафедры физической и аналитической химии Института природных ресурсов ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский политехнический университет», г. Томск. Без замечаний.

**7. Слепченко Галины Борисовны**, доктора химических наук, профессора кафедры физической и аналитической химии Института природных ресурсов, и **Акенева Юрия Анваровича**, научного сотрудника НИЛ №506 кафедры физической и аналитической химии Института природных ресурсов ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский политехнический университет», г. Томск. В отзыве имеются вопросы и замечания:

- стр. 15 автореферата. Если полимерные покрытия облегчают процесс окисления наночастиц  $Fe_3O_4$ , то почему на вольтамперограммах окисления модифицированных ими наночастиц наблюдается сдвиг потенциалов пиков в анодную область, а не в катодную?;

- к числу пожеланий автору работы, на наш взгляд, следует отнести рассмотрение возможности получения градуировочной зависимости не для количества электричества ( $Q$ ), а высоты анодного пика железа ( $I$ ). Это связано с тем, что не все электрохимические анализаторы имеют возможность измерения площади под пиком, что требует дополнительных расчетов от аналитика, использующего методики, разработанные автором.

**8. Шпигун Лилии Константиновны**, доктора химических наук, профессора, заведующей лабораторией проблем аналитической химии ФБУН Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова Российской академии наук, г. Москва. В отзыве имеется замечание: следует отметить, что не вполне корректно называть такие композиты наночастицами – это наноструктурированные материалы, в которых модифицирующим агентом все-таки являются наночастицы  $Fe_3O_4$ , а не наоборот.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их компетентностью в области электроаналитической химии

и, в частности, разработки электрохимических сенсоров и методов для определения различных классов биоаналитов, что подтверждается публикациями в рецензируемых российских и международных научных изданиях.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

– **разработаны** бесферментные электрохимические иммуносенсоры для определения бактерий *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus* с использованием в качестве прямой сигналообразующей метки наночастиц  $Fe_3O_4$ ;

– **предложены** оригинальные подходы для детектирования бактерий с использованием разработанных электрохимических иммуносенсоров и алгоритмов определения с применением наночастиц магнетита в качестве прямой сигналообразующей метки;

– **доказана** перспективность дальнейшего практического применения разработанных электрохимических иммуносенсоров для анализа моно- и многокомпонентных объектов;

– теоретические выкладки и трактовка результатов исследования проводилась в рамках принятых в науке **понятий и терминов**.

**Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:**

– **доказано**, что наночастицы магнетита способны к окислительно-восстановительным превращениям на поверхности рабочего электрода после их предварительного восстановления в апротонной среде, причем характер электропревращений зависит от потенциала предварительного электролиза;

– **применительно к проблематике диссертации результативно использован** комплекс современных физико-химических методов исследования для синтеза и модифицирования поверхности наночастиц, определения морфологических особенностей и состава синтезированного материала, изучения характера их электропревращений в апротонной среде, исследования взаимодействия наночастиц с бактериальными клетками

*Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus* и, в конечном счете, установления линейной зависимости аналитического сигнала метки, включенной в иммунокомплекс на поверхности рабочего электрода, от концентрации целевых бактерий в анализируемой суспензии;

– **изложены** доказательства правильности и воспроизводимости определения бактерий *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus* с использованием разработанных электрохимических иммуносенсоров как в модельных суспензиях, так и в реальных пробах;

– **раскрыта** взаимосвязь между величиной прямого аналитического сигнала наночастиц магнетита, включенных в иммунокомплекс «антитело-меченая бактерия» на поверхности планарного платинового электрода, от концентрации целевой бактерии (*Escherichia coli* или *Staphylococcus aureus*) в исследуемой пробе;

– **изучено** взаимодействие бактерий *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus* с наночастицами магнетита и установлены различия в кинетике взаимодействия бактерий с наночастицами в зависимости от строения клеточной стенки микроорганизма и природы модифицирующего покрытия наночастиц;

– **проведена модернизация** метода гибридного электрохимического иммуноанализа для определения бактерий с использованием в качестве метки наночастиц  $Fe_3O_4$ .

**Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:**

– **разработаны** бесферментные электрохимические иммуносенсоры для количественного определения бактерий *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus* с использованием в качестве метки наночастиц  $Fe_3O_4$ , способных генерировать прямой аналитический сигнал в апротонной среде (получен патент РФ на изобретение);

– **определены** метрологические характеристики разработанных электрохимических иммуносенсоров для количественного определения

бактерий *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus* (диапазон линейности  $10\text{-}10^5$  КОЕ/мл, предел обнаружения целевой бактерии 9,3 КОЕ/мл и 8,7 КОЕ/мл соответственно; величина относительного стандартного отклонения не превышает 10%);

– **созданы** алгоритмы определения бактерий *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus* в водных объектах с использованием в качестве прямой сигналообразующей метки наночастиц магнетита, способных к окислительно-восстановительным превращениям в апротонной среде;

– **представлены** результаты количественного определения бактерий *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus* в модельных суспензиях и реальных пробах, достоверность которых подтверждена в независимой аналитической лаборатории (ФГУН ГНЦ ВБ «Вектор», г. Новосибирск).

**Оценка достоверности результатов исследования выявила, что:**

– **для экспериментальных работ** использовали надежные физико-химические методы исследований, а также современное сертифицированное, высокоточное и чувствительное оборудование и материалы;

– **теоретические положения** согласуются с результатами проведенных соискателем экспериментов и имеющимися литературными данными по исследуемым вопросам;

– **идея базируется** на обобщении передового мирового и российского опыта в области создания иммуносенсоров, а также на анализе полученных экспериментальных данных;

– **установлено** качественное и количественное совпадение результатов определения содержания бактерии *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus* в модельных и реальных объектах с использованием разработанных электрохимических иммуносенсоров в сравнении с широко используемыми лабораторными методами детектирования бактерий – методом иммуноферментного анализа и методом бактериального посева с подсчетом колоний (выполнено в независимой лаборатории ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» (г. Новосибирск));

– **использованы** современные методики сбора и обработки информации в базах данных Scopus, Web of science, PubMed, научной электронной библиотеки eLIBRARY.

**Личный вклад соискателя** заключался в постановке и проведении научных экспериментов, анализе и систематизации полученных результатов, а также в подготовке публикаций по выполненной работе.

Диссертационная работа Сваловой Татьяны Сергеевны является завершенной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи, которая заключается в разработке бесферментных электрохимических иммуносенсоров для количественного определения бактерий *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus* с использованием в качестве прямой сигналообразующей метки наночастиц  $Fe_3O_4$ , имеющей существенное значение для развития методов электрохимического иммуноанализа,.

На заседании 14 июня 2016 года диссертационный совет принял решение присудить Сваловой Т.С. ученую степень кандидата химических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 25 человек, из них 6 докторов наук по специальности рассматриваемой диссертации, участвовавших в заседании, из 29 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 25, против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель

диссертационного совета

Ученый секретарь

диссертационного совета



Бекетов Аскольд Рафаилович

Семищев Владимир Сергеевич

14 июня 2016 г.