

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 212.285.09,
СОЗДАННОГО 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
ДОКТОРА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 29.05.2018 г. № 4

О присуждении Козициной Алисе Николаевне, гражданство Российской Федерации, ученой степени доктора химических наук.

Диссертация «Электрохимические сенсорные системы на основе органических и неорганических наноразмерных модификаторов для бесферментного определения клинически значимых соединений» по специальности 02.00.02 – Аналитическая химия принята к защите 27 февраля 2018 г. (протокол заседания № 3) диссертационным советом Д 212.285.09, созданным на базе ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», Минобрнауки России, 620002, г. Екатеринбург, ул. Мира, 19; созданным приказом Минобрнауки России № 105/нк от 11.04.2012 г.

Соискатель, Козицина Алиса Николаевна, 1971 года рождения, кандидат химических наук с 2003 г., диссертацию на соискание ученой степени кандидата химических наук «Электрохимический иммуносенсор для диагностики клещевого энцефалита» защитила в 2003 году в диссертационном совете, созданном на базе Уральского государственного технического университета;

обучается в целевой докторантуре ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина» по специальности 02.00.02 – Аналитическая химия (предполагаемый срок окончания докторантуры – 31.08.2019 г.); работает в должности доцента 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 ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», Минобрнауки России..

Научный консультант – доктор химических наук, профессор, Брайнина Хьена Залмановна, ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», Химико-технологический институт, кафедра аналитической химии, профессор-консультант.

Официальные оппоненты:

Карякин Аркадий Аркадьевич, доктор химических наук, профессор, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Химический факультет, кафедра аналитической химии, лаборатория электрохимических методов, заведующий лабораторией;

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

Шпигун Лилия Константиновна, доктор химических наук, профессор, ФГБУН Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова Российской академии наук, г. Москва, лаборатория проблем аналитической химии, главный научный сотрудник

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет», г. Уфа – в своем положительном отзыве, подписанном Майстеренко Валерием Николаевичем, доктором химических наук, профессором, заведующим кафедрой аналитической химии, указала, что диссертационная работа Козициной Алисы Николаевны, направленная на создание электрохимических сенсорных систем на основе органических и неорганических наноразмерных модификаторов для бесферментного определения клинически значимых соединений, по актуальности решаемых проблем, новизне, объему проведенных исследований, по уровню их обсуждения, научной и практической значимости соответствует требованиям Положения о присуждении ученых степеней (Постановление Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 «О порядке присуждения ученых степеней» с изменениями постановления Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. №335 «О внесении изменений в Положение о присуждении ученых степеней»), предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени доктора химических наук по специальности 02.00.02 – Аналитическая химия.

Соискатель имеет 130 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 110 работ, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано 19 работ. Другие публикации по теме диссертации представлены в виде 6 патентов Российской Федерации на изобретения; глав в 2-х коллективных монографиях; 3 статей и 80 тезисов докладов, опубликованных сборниках материалов всероссийских (70) и международных (13) научных конференций. Общий объем опубликованных работ – 50,92 п.л., авторский вклад – 19,76 п.л.

В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах.

Наиболее значительные научные работы по теме диссертации:

статьи, опубликованные в рецензируемых научных изданиях, определенных ВАК:

1. Kositzina, A.N. Screen-printed enzyme-free electrochemical sensors for clinical and food analysis (Review) / K.Z. Brainina, **A.N. Kositzina**, A.V. Ivanova // *Comprehensive Analytical Chemistry*. – 2007. – V. 49. – P. 643 – 666 (3.2 п.л. / 1.5 п.л.).

2. Козицина А.Н. Каталитические системы на основе органических комплексов никеля (II) в хроноамперометрическом определении мочевины и креатинина / **А.Н. Козицина**, Ж.В. Шалыгина, С.С. Деденева, Г.Л. Русинов, С.Г. Толщина, Е.В. Вербицкий, Х.З. Брайнина // *Изв. РАН. Сер. химическая*. – 2009. – № 6. – С. 1091 – 1097 (0.9 п.л. / 0.2 п.л.).

3. Kositzina, A.N. Some Peculiarities of Pulmonary Clearance Mechanisms in rats after Intratracheal Instillation of Magnetite (Fe_3O_4) Suspensions with Different Particle Sizes in Nanometer and Micrometer Ranges: Are We Defenseless against Nanoparticles / B. Katsnelson, L.I. Privalova, S.V. Kuzmin, T.D. Degtyareva, M.P. Sutunkova, O.S. Yeremenko, I.A. Minigalieva, **A.N. Kositsina**, N.A. Malakhova, Y.A. Glazyrina, V.Y. Shur, E.V. Nikolaeva // *J. Occup. Environ. Health*. – 2010. – V. 16. – № 4. – P. 503 – 519 (1.8 п.л. / 0.2 п.л.).

4. Kositzina, A.N. Hybrid electrochemical magnetic assay for Salmonella Typhimurium detection / Kh.Z. Brainina, **A.N. Kozitsina**, Y.A. Glazyrina // *IEEE Sensors journal*. – 2010. – V. 10. – №11. – P. 1699 – 1704 (1.2 п.л. / 0.6 п.л.).

5. Kositzina, A. Electroanalysis in the Evaluation of nanoparticle toxicity / Y. Suntsova, **A. Kozitsina**, T. Mitrofanova, K. Brainina, J. Beykin, Y. Lagereva, L. Tulakin, A. Matern // *Analytical and Bioanalytical Electrochemistry*. – 2013. – V. 5. – № 5. – С. 647 – 664 (1.6 п.л. / 0.7 п.л.).

6. Козицина, А.Н. Хроноамперометрическое определение мочевины и креатинина / **А.Н. Козицина**, С.С. Деденева, Ж.В. Шалыгина, А.В. Охохонин, Д.Л. Чижов, А.И. Матерн, Х.З. Брайнина // *Журн. аналитической химии*. – 2014. – № 8. – С. 833 – 838 (0.5 п.л. / 0.25 п.л.).

7. Козицина, А.Н. Бесферментный электрохимический метод определения *E.coli* с использованием нанокompозитов Fe_3O_4 с оболочкой SiO_2 , модифицированной ферроценом / **А.Н. Козицина**, Н.Н. Малышева, И.А. Утепова, Ю.А. Глазырина, А.И. Матерн, Х.З. Брайнина, О.Н. Чупахин // Журн. аналитической химии. – 2015. – Т. 70. – № 5. – С. 476 – 483 (0.6 п.л. / 0.25 п.л.).

8. Kozitsina, 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. / 0.4 п.л.).

9. Kozitsina, A.N. Amperometric detection of cholesterol using cobalt (II) chloride as an electrocatalyst in aprotic media / **A.N. Kozitsina**, A.V. Okhokhonin, A.I. Matern // Journal of Electroanalytical Chemistry. – 2016. – V. 772. – P. 89 – 95 (1.6 п.л. / 0.8 п.л.).

10. Kozitsina, A. Determination of *Staphylococcus aureus* B-1266 by an Enzyme-Free Electrochemical Immunosensor Incorporating Magnetite Nanoparticles / **A. Kozitsina**, T. Svalova, N. Malysheva, Y. Glazyrina, A. Matern, V. Rusinov // Analytical Letters. – 2017. – V. 50. – Is. 6. – P. 924 – 935 (1 п.л./0.4 п.л.).

Патенты РФ

1. Пат. 2397243 РФ. МПК C12N 1/02. Способ определения патогенных микроорганизмов / Х.З. Брайнина, **А.Н. Козицина**, Ю.А. Глазырина, М.Я. Ходос; заявл. 19.01.2009; опубл. 20.08.2010, бюл. № 23.

2. Пат. 2507512 РФ. МПК G01N27/30. Способ изготовления модифицированного электрода для электрохимического анализа (варианты) / Н.А. Малахова, А.В. Иванова, **А.Н. Козицина**, С.Ю. Сараева, Ж.В. Шалыгина, Л.И. Колядина, А.В. Охохонин, А.И. Матерн; заявл. 04.06.2012; опубл. 20.02.2014, бюл. № 5

3. Пат. 2542487 РФ. МПК C12Q 1/04, C12N 1/02, G01N 33/53, B82B 1/00. Способ определения содержания грамотрицательных патогенных бактерий в

анализируемой среде / **А.Н. Козицина**, Н.Н. Малышева, Ю.А. Глазырина, А.И. Матерн; заявл. 15.07.2013; опубл. 20.02.2015, бюл. № 5.

4. Пат. 2550955 РФ. МПК G01N33/58, G01N33/53 Способ электрохимического иммуноанализа для определения вирусов/антигенов вирусов / **А.Н. Козицина**, Н.Н. Малышева, Ю.А. Глазырина, А.И. Матерн, А.В. Иванова; заявл. 11.12.2013; опубл. 20.05.2015, бюл. № 14.

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

6. Пат. 2612143 РФ. Способ определения содержания бактерий с использованием в качестве метки модифицированных магнитных наночастиц / **А.Н. Козицина**, Т.С. Свалова, Ю.А. Глазырина, А.И. Матерн; заявл. 27.07.2015; опубл 02.03. 2017, бюл. № 7.

Главы в рецензируемых монографиях

1. Брайнина Х.З. Наноматериалы: риски и использование *in vivo* и *in vitro* в диагностике / Х.З. Брайнина, **А.Н. Козицина**, Ю.А. Глазырина, Л.В. Устинов // Проблемы аналитической химии. Т. 11: Химический анализ в медицинской диагностике / под ред. Г.К. Будникова. – М. : Наука. – 2010. – С. 164 – 178 (3.1 п.л. / 1.5 п.л.).

2. Брайнина Х.З. Химические и биохимические сенсоры: от биосенсоров к биочипам и мультисигнальным системам / Х.З. Брайнина, **А.Н. Козицина** // Проблемы аналитической химии. Т. 14: Химические сенсоры / под ред. Ю.Г. Власова. – М.: Наука. – 2011. – С. 314 – 344 (5.2 п.л. / 3.5 п.л.).

На автореферат поступили положительные отзывы:

1. Вершинина Вячеслава Исааковича, д-ра хим. наук, профессора кафедры аналитической химии ФГБОУ ВО «Омский государственный университет им.

Ф.М. Достоевского». Содержит замечания о формулировках положений, выносимых на защиту, метрологических характеристиках методик и отсутствии данных о селективности методик.

2. Канунниковой Ольги Михайловны, д-ра физ.-мат. наук, доц., ведущего научного сотрудника Физико-технического института, и Трубачева Алексея Владиславовича, канд. хим. наук, доц., главного специалиста Института механики ФГБУН «Удмуртский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук», г. Ижевск. Содержит замечания о необходимости пояснений о роли сольватных оболочек, указании диапазона размеров для всех типов наночастиц.

3. Михельсона Константина Николаевича, д-ра хим. наук, профессора кафедры физической химии Института химии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», г. Санкт-Петербург. Содержит замечания о формулировке приготовления двухключевого хлоридсеребряного электрода сравнения для работы в ацетонитриле, указании диапазона размеров для всех типов наночастиц, сопоставлении пределов обнаружения с практически необходимыми, о поставщиках бактерий и указании толщины пленок для толстопленочных планарных электродов.

4. Шеховцовой Татьяны Николаевны, д-ра хим. наук, профессора, профессора кафедры аналитической химии химического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», г. Москва. Содержит замечания об отсутствии обоснования объединения в группу клинически значимых аналитов бактерий, вирусов и органических соединений, выбора мочевины, креатинина и холестерина, соблюдении автором правильной аналитической терминологии и отсутствии в работе выводов.

5. Рублинецкой Юлии Вячеславовны, д-ра хим. наук, доцента, заведующей кафедрой аналитической и физической химии ФГБОУ ВО «Самарский государственный технический университет», г. Самара. Содержит замечания

о необходимости уточнения причин различного электрохимического поведения продуктов восстановления НЧ Fe_3O_4 , нечеткости масштаба на некоторых рисунках.

6. Жарниковой Ирины Викторовны, д-ра биол. наук, ведущего научного сотрудника научно-производственной лаборатории препаратов для диагностики особо опасных и других инфекций ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора, г. Ставрополь. Без замечаний.

7. Еремина Сергея Александровича, д-ра хим. наук, профессора, ведущего научного сотрудника кафедры энзимологии химического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», г. Москва. Без замечаний.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их широкой известностью своими достижениями в области электроаналитической химии, разработки сенсоров и способов, их высокой научной компетентностью в области электрохимических исследований органических и биологических молекул и способностью определить научную и практическую ценность диссертации.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

- **разработана** концепция применения наночастиц благородных, переходных металлов/оксидов, соединений органической и неорганической природы в качестве электрокатализаторов, сигналообразующих меток в электрохимических бесферментных вариантах биоанализа, устанавливающая алгоритмы направленного выбора, синтеза и модификации наноматериалов для решения конкретных аналитических задач, связанных с определением органических соединений диагностического значения и созданием соответствующих способов и электрохимических бесферментных сенсоров и иммуносенсоров;

- предложены возможные схемы протекания электродных реакций наночастиц Fe_3O_4 , выбраны рабочие условия формирования сигнала, обусловленного указанным наноматериалом, в водных и апротонных средах. Установлена связь электрохимических параметров процессов и характера превращений магнетита. Выявлены закономерности, связывающие условия синтеза наночастиц, нанокompозитов магнетита с различным поверхностным покрытием на размерные, морфологические параметры, седиментационную устойчивость и электрохимическую активность получаемых наноматериалов;

- доказана взаимосвязь между природой наноматериалов, способом их получения и электрокаталитической активностью и чувствительностью определения различных аналитов на примере наночастиц серебра, золота смешанного состава, оксида никеля (II), органических соединений никеля (II), тиоцианата калия, хлоридов никеля (II) и кобальта (II) в окислении мочевины, креатинина, холестерина. Исследована кинетика электродных реакций и влияние различных факторов на активность применяемых электрокатализаторов.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

- доказана возможность применения новых вариантов электрохимических способов количественного определения мочевины, креатинина и холестерина с использованием наночастиц оксидов никеля, серебра, золота, их сплавов, наночастиц типа ядро-оболочка с различным соотношением золота и серебра, органических соединений никеля (II), тиоцианата калия, хлоридов никеля (II) и кобальта (II) в качестве катализаторов окисления аналита, а полимеров с молекулярными отпечатками на креатинин и холестерин или ионообменный сорбент при определении мочевины, обеспечивающих селективность определения; новых бесферментных электрохимических иммуносенсоров и гибридных вариантов вольтамперометрических способов для определения бактерий *Escherichia coli* ATCC 25992 и *Staphylococcus aureus* B-1266 с использо-

ванием в качестве прямых сигналообразующих меток нанокompозитных частиц на основе Fe_3O_4 с различным, в том числе электроактивным, покрытием и бактерий *Salmonella typhimurium* SL 7207 с использованием наночастиц магнетита;

- применительно к тематике диссертации результативно использован современный арсенал электрохимических методов анализа, включая спектроскопию электрохимического импеданса и вращающийся дисковый электрод для изучения окислительно-восстановительных превращений модификаторов и катализаторов в водных и апротонных средах. Для характеристики различных типов наноматериалов, а также взаимодействия последних с различными клетками привлечены методы зондовой микроскопии. Результаты, полученные разными методами (бактериальный посев, ИФА метод, спектрофотометрия) и разработанными способами и сенсорами сопоставлены и показана близость, правильность этих результатов;

- изложены результаты исследований и теоретические выводы, связанные с развитием нового поколения бесферментных сенсоров/иммуносенсоров на основе материалов, имитирующих биологические молекулы;

- раскрыта необходимость оценки токсического эффекта полученных и охарактеризованных наночастиц металлов и их оксидов с учетом динамики их проникновения в клетку (на примере клеточной культуры WI 38), с проведением определения соответствия между действующими концентрациями наночастиц и параметрами жизнеспособности и функциональной активности;

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

- разработаны запатентованы и испытаны алгоритмы, устройства для проведения количественного определения содержания возбудителей инфекционных заболеваний, а также мочевины, креатинина и холестерина. Прове-

денные испытания по сравнительному определению содержания инфекционных агентов, мочевины, креатинина, холестерина в модельных и реальных объектах с использованием разработанных бесферментных электрохимических иммуносенсоров, вариантов и традиционно используемых в медицинской диагностике методов показали, что предложенные разработки соответствуют по чувствительности, селективности референсным лабораторным методам анализа, но имеют преимущества в простоте использования и стоимости. Результаты исследования явятся основой для создания портативных устройств (акты испытаний, полученные в ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» (г. Новосибирск) и Екатеринбургском медицинском научном центре профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий Роспотребнадзора (г. Екатеринбург));

- **определены** перспективы дальнейшей разработки в указанном научном направлении, связанные с расширением перечня определяемых клинических показателей и реализации предложенных методических решений в создании высокочувствительных измерительных устройств, ориентированных на использование вне медицинских учреждений, непосредственно больными в рамках государственной стратегии развития персонифицированной медицины;

- **представлены** рекомендации по развитию предложенных оригинальных подходов и внедрения разработанных устройств и их близких аналогов для успешного использования в клинико-лабораторном анализе, эколого-аналитическом мониторинге, производственном контроле сырья и полуфабрикатов, качества лекарств и пищевой продукции.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

- достоверность обеспечена применением сертифицированного оборудования, проведением оценки правильности результатов анализа с использованием независимых лабораторных методов анализа. Полученные результаты хорошо воспроизводимы и статистически достоверны;

– **теория** построена на известных фактах и согласуется с экспериментальными данными, полученными соискателем, а также с данными, опубликованными в мировой научной литературе;

– **идея базируется** как на анализе экспериментальных данных, так и на обобщении передового опыта в области электрохимических методов анализа;

– **установлено**, что полученные автором результаты хорошо согласуются с известными литературными данными и в некоторых случаях превосходят их.

Личный вклад соискателя состоит в обосновании теоретических представлений и новых методологических подходов к созданию вариантов бесферментных электрохимических способов и сенсоров с применением в качестве альтернативы ферментам веществ и материалов небиологической природы и совершенствованию методов электроанализа для исследования цитотоксичности наноматериалов; постановке целей и решении основных задач; анализе, обобщении и интерпретации полученных результатов; разработке методик и алгоритмов количественного анализа некоторых инфекционных агентов и биохимических показателей; подготовке публикаций, формулировании выводов и защищаемых положений диссертации.

Диссертационная работа Козициной А.Н. является завершенной, самостоятельной научно-квалификационной работой, соответствующей требованиям п. 9 Положения о присуждении ученых степеней. В работе решена научная проблема развития теоретических и прикладных основ функционирования электрохимических бесферментных сенсоров/иммуносенсоров, рассматриваемых как альтернатива традиционным средствам клинической диагностики, имеющая важное социально-экономическое значение для перехода России к персонализированной медицине и высокотехнологичному здравоохранению, кроме того для эколого-аналитического мониторинга, производственного контроля сырья и полуфабрикатов, качества лекарств и пищевой продукции.

На заседании 29 мая 2018 г. диссертационный совет принял решение при-
судить Козициной А.Н. ученую степень доктора химических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количе-
стве 21 человека, из них 6 докторов наук по специальности рассматриваемой
диссертации, участвовавших в заседании, из 29 человек, входящих в состав
совета, проголосовали: за – 21, против – нет, недействительных бюллетеней –
нет.

Председатель
диссертационного совета



Бекетов Аскольд Рафаилович

Ученый секретарь
диссертационного совета

Семенищев Владимир Сергеевич

29.05.2018 г.