

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА**  
**24.1.029.01 (Д002.034.01) НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО**  
**БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ ИНСТИТУТ АНАЛИТИЧЕСКОГО**  
**ПРИБОРОСТРОЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК (ИАП РАН),**  
**Г. САНКТ-ПЕТЕРБУРГ**  
**ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА**  
**НАУК**

аттестационное дело № \_\_\_\_\_

решение диссертационного совета от «24» марта 2023 г. № 7

о присуждении Гладчуку Алексею Сергеевичу, гражданину Российской Федерации, ученой степени кандидата технических наук.

Диссертация «Исследование механизма формирования самоорганизующихся регулярных монослоев Ленгмюра на поверхности твердой подложки для анализа амфифильных соединений методом МАЛДИ-МС» по специальностям 1.3.2 (01.04.01) «Приборы и методы экспериментальной физики» и 1.4.2 (02.00.02) «Аналитическая химия» принята к защите 23.12.2022 г., протокол № 20/2, диссертационным советом 24.1.029.01 (Д002.034.01) на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт аналитического приборостроения Российской академии наук (ИАП РАН), 198095, Санкт-Петербург, ул. Ивана Черных, д.31-33, лит.А, приказ 714/нк от 02.11.2012 г.

Соискатель: Гладчук Алексей Сергеевич, 1996 года рождения, окончил в 2019 году магистратуру Санкт-Петербургского государственного политехнического университета Петра Великого по направлению подготовки 16.04.01 «Техническая физика», в 2019 г. поступил в очную аспирантуру Санкт-Петербургского государственного университета по направлению 04.06.01 «Химические науки» по профилю 02.00.11 «Коллоидная химия». В настоящее время работает в должности научного сотрудника лаборатории химической и токсикологической диагностики - испытательном центре экологических исследований Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова ФМБА России» и в должности младшего научного сотрудника лаборатории биомедицинской масс-спектрометрии Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт аналитического приборостроения Российской академии наук».

Диссертация выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова ФМБА России» и Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет».

**Научные руководители:** Подольская Екатерина Петровна, кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории химической и токсикологической диагностики Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова ФМБА России», г. Санкт-Петербург.

Суходолов Николай Геннадьевич, доктор химических наук, доцент кафедры коллоидной химии Института химии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», г. Санкт-Петербург.

**Официальные оппоненты:**

Ганеев Александр Ахатович - доктор физико-математических наук, профессор, руководитель группы Спектрометрии ООО «Люмэкс», представил на диссертацию и автореферат **положительный отзыв**, в котором содержится следующее замечание:

- 1) На стр. 99 использована неправильная терминология: *Как показано в Таблице 12, замена n-гексана на изопропиловый спирт привела к незначительному снижению чувствительности предложенного подхода: от 5 нг/мл для n-гексана до 20 нг/мл для изопропанола.* Чувствительность не измеряется в нг/мл - в данном случае речь идет о незначительном увеличении предела обнаружения. Впрочем, увеличение предела в 4 раза трудно назвать незначительным.

Мухин Иван Сергеевич - доктор физико-математических наук, доцент, директор Высшей инженерно-физической школы Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский Политехнический университет Петра Великого», представил на диссертацию и автореферат **положительный отзыв**, в котором содержатся следующие замечания и вопросы:

- 1) В работе указано, что монослои получали в чашке Петри, заполненной водным раствором ацетата бария таким образом, чтобы верхний мениск незначительно выступал за пределы краев чашки. Какой количественный параметр использовался для определения «незначительности выступа»? Влияла ли высота мениска на качество формируемых пленок Ленгмюра-Блоджетт? Как при этом контролировалось давление при формировании конденсированного монослоя?
- 2) При анализе МАЛДИ (матрично-активированная лазерная десорбция/ионизация) масс-спектра, представленного на рисунке 11, для смеси

из 6 стандартов СЖК (свободные жирные кислоты) указано, что величины полученного сигнала были недостаточны для достоверного детектирования бариевых солей лауриновой и тридекановой кислот. Какой количественный параметр при этом использовался?

- 3) На рисунке 16 представлен спектр энергодисперсионной рентгеновской (EDX) спектроскопии, явно показывающий присутствие пиков, характерных для Ва. При этом на вставке к рисунку приведено количественное процентное содержание элементов? При концентрации атомов менее 1% (как по массе, так и по составу) данный метод характеризуется высокой погрешностью. Было бы оправданным привести значение ошибки измерения. Также линия С, присутствующая на представленном спектре, может относиться к паразитной углеродной пленке, всегда формирующейся в камере СЭМ (сканирующая электронная микроскопия) под действием сфокусированного электронного пучка (см. спектр от подложки в исходном состоянии).
- 4) На рисунке 19 представлены спектры комбинационного рассеяния света (КРС) пленки стеарата бария, полученные в разных областях пленки и водной капли. Убедительно показано формирование пленок различной толщины в различных областях образца (наиболее тонкие пленки формировались на поверхности капли водной субфазы). Было бы оправданным представить аналогичные спектры КРС от различных областей образца после испарения раствора HSt в н-гексане и промывания образца.
- 5) При рассмотрении механизмов образования самоорганизующихся монослоев бариевых солей амфифильных соединений, полученных на поверхности МАЛДИ мишени с каплей, выделяется перемещение монослоев с поверхности водной субфазы на подложку под действием силы тяжести. Учитывался ли вклад сил поверхностного натяжения, возникающих на границе раздела жидкой фазы МАЛДИ мишени и н-гексана?

**Ведущая организация** – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Физико-технический институт им. А.Ф. Иоффе Российской академии наук, г. Санкт-Петербург – **в своем положительном заключении**, утвержденном доктором физико-математических наук, заместителем директора Павлом Николаевичем Брунковым, подписанном Рутьковым Евгением Викторовичем, доктором физико-математических наук, профессором, ведущим научным сотрудником ФТИ им. А. Ф. Иоффе РАН, указала, что диссертация Гладчука А.С. полностью отвечает требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а соискатель заслуживает присуждения ученой степени кандидата технических наук по специальностям 1.3.2 (01.04.01) и 1.4.2 (02.00.02), а также отметила следующие замечания:

- 1) предложенный в работе физический механизм коллапсирования слоев Ленгмюра не в полной мере подтвержден экспериментально . В работе отсутствует дательное обсуждении альтернативных механизмов, что важно для понимания физической картины процесса.
- 2) В работе имеют термины, которые могут быть отнесены к научному жаргону, а также опечатки.

Соискатель имеет **11 (одиннадцать)** опубликованных статей, из которых по теме диссертации **5 (пять)**. Работы опубликованы в рецензируемых научных изданиях, входящих в Перечень ВАК РФ и международные библиометрические базы SCOPUS и/или Web of Science. Также соискатель имеет **25 (двадцать пять)** публикаций в материалах всероссийских и международных научных конференций.

К наиболее значимым работам, отражающим основное содержание диссертации, относятся:

1. Podolskaya, E.P. Thin Film Chemical Deposition Techniques as a Tool for Finger printing of Free Fatty Acids by Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry / E.P Podolskaya, **A.S. Gladchuk**, O.A. Keltsieva, P.S. Dubakova, E.S. Silyavka, E. Lukasheva, V. Zhukov, N. Lapina, M.R. Makhmadaliev, A.M. Gzgzyan, N.G. Sukhodolov, K.A. Krasnov, A.A. Selyutin, A. Frolov // Analytical Chemistry. – 2019. – V. 91, №2. – P. 1636-1643.
2. **Гладчук, А.С.** Оптимизация методики анализа свободных жирных кислот с помощью комбинации МАЛДИ-масс-спектрометрии и технологии получения монослоев Ленгмюра / **А.С. Гладчук**, Е.Г. Батоцыренова, Е.П. Подольская // Научное приборостроение. – 2020. – Т. 30, № 1. – С. 39–49.
3. **Gladchuk, A.** High-Throughput Finger printing of Rhizobial Free Fatty Acids by Chemical Thin-Film Deposition and Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry / **A. Gladchuk**, J. Shumilina, A. Kusnetsova, K. Bureiko, S. Billig, A. Tsarev, I. Alexandrova, L. Leonova, V.A. Zhukov, I.A. Tikhonovich, C. Birkemeyer, E. Podolskaya, A. Frolov //Methods and Protocols. – 2020. – V. 3.– P. 36.
4. **Gladchuk, A.S.** A new approach for analysis of polyprenols by a combination of thin film chemical deposition and matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry / **A.S. Gladchuk**, K.A. Krasnov, O.A. Keltsieva, Y.K. Kalninia, M.L. Alexandrova, N.S. Ivanov, M.Z. Muradymov, N.V. Krasnov, V.L. Reynyuk, N.G. Sukhodolov, E.P. Podolskaya // Rapid Communications in Mass Spectrometry. – 2021. –V. 35, № 21. – P. e9185.
5. **Gladchuk, A.S.** Self-organization of stearic acids alts on the hemispherical surface of the aqueous subphase allows functionalization of matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry target plates for on-plate immobilized metal

affinity chromatography enrichment / **A.S. Gladchuk**, E.S. Silyavka, V.V. Shilovskikh, V.N. Bocharov, I.M. Zorin, N.V. Tomilin, N.A. Stepashkin, M.L. Alexandrova, N.V. Krasnov, A.Yu. Gorbunov, V.N. Babakov, N.G. Sukhodolov, A.A. Selyutin, E.P. Podolskaya // *Thin Solid Films.* – 2022. – V. 756. – P. 139374

**На автореферат диссертации поступили следующие отзывы:**

1. От Курдюкова Дмитрия Александровича, кандидата химических наук, ведущего научного сотрудника лаборатории физики аморфных полупроводников ФТИ им. А.Ф.Иоффе РАН.

Замечания:

- За счет чего достигается такая высокая чувствительность МАЛДИ-МС анализа амфифильных соединений в виде их бариевых солей?
- Не совсем понятен принцип выбора сигнала для нормирования интенсивностей сигналов в масс-спектрах. В различных экспериментах используются сигналы с различными  $m/z$  для нормализации интенсивности. Чем определялась стратегия нормализации интенсивностей сигналов?

2. От Ходорковского Михаила Алексеевича, кандидата физико-математических наук, директора НИК «Нанобиотехнологии» Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого».

Замечания:

- В тексте автореферата отсутствует информация о достижениях других научно-исследовательских групп в этой области. Соответственно, возникает вопрос, какие преимущества имеет разработанная методика по сравнению с другими современными методами определения амфифильных соединений?
- Не совсем понятно, что означает «...волнообразный характер формирования пленки вследствие комплекса процессов, связанных с перемещением образовавшейся пленки по поверхности водной субфазы испарением *n*-гексана.». Автору следовало более подробно описать этот процесс.

3. От Шкурова Валерия Александровича, кандидата химических наук, технического директора ООО«ЕвроИнструмент».

Замечания:

- Какое влияние оказывает тип поверхности МАЛДИ мишени на формирование самоорганизующихся регулярных монослоев бариевых солей амфифильных соединений и эффективность их анализа методом МАЛДИ-МС?

4. От Маметнабиева Тажира Эскеровича, кандидата химических наук, начальника отдела маркетинга научно-технических разработок Управления научных исследований Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования "Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет)".

Замечания:

- Из текста автореферата неясно, почему в качестве добавки к водной субфазе была использована 2,5-дигидроксibenзойная кислота в концентрации 0,25 мг/мл. Типичные концентрации растворов МАЛДИ матриц, используемые в рутинном анализе, лежат в диапазоне 5-20 мг/мл. Проводилась ли оценка эффективности МАЛДИ-МС анализа амфифильных соединений при больших концентрациях 2,5-дигидроксibenзойной кислоты?
  - Чем обусловлено использование такого большого (около 30000) числа лазерных импульсов при регистрации масс-спектров?
5. От Луцкого Дениса Сергеевича, кандидата технических наук, доцента кафедры общей и физической химии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский горный университет».
- Без замечаний.
6. От Краснова Ильи Александровича, кандидата технических наук, владельца продукта Департамента разработки белковых препаратов АО «Биокад».
- Без замечаний.

**Все отзывы на автореферат диссертации положительные.**

**Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их большим опытом работы в таких областях, как аналитическое приборостроение, масс-спектрометрия, аналитическая химия и материаловедение, в частности, функционализация поверхности твердой подложки для приборного применения, связанных с тематикой данной диссертации, что подтверждается публикациями в соответствующих сферах исследования. Официальные оппоненты и ведущая организация не имеют совместных проектов и публикаций с соискателем.**

**Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:**

*В рамках специальности 1.3.2 (01.04.01) «Приборы и методы экспериментальной физики»*

**предложено новое техническое решение – модифицированная МАЛДИ**

мишень, являющаяся новым узлом источника ионов и прибора в целом и **повышающая эффективность** пробоподготовки при анализе амфифильных соединений;

**показано**, что проведенная адаптация технологии Ленгмюра к полусферической поверхности водной субфазы позволяет формировать коллапсированные монослои амфифильных соединений непосредственно на поверхности МАЛДИ мишени и тем самым обеспечить требуемую эффективность пробоподготовки при проведении анализа методом МАЛДИ-МС;

**впервые описан** механизм образования самоорганизующихся регулярных монослоев бариевых солей амфифильных соединений, сформированных на поверхности МАЛДИ мишени, и их самопроизвольного перемещения с полусферической поверхности водной субфазы на подложку с последующим образованием мультимолекулярных структур, аналогичных коллапсированным монослоям;

**впервые установлено**, что при анализе монослоя, состоящего из бариевых солей амфифильных соединений, ионизация происходит за счет отщепления нежирного кислотного остатка (или гидроксильной группы) под воздействием лазерного импульса с образованием иона  $[M-N+Ba]^+$ .

*В рамках специальности 1.4.2 (02.00.02) «Аналитическая химия»*

**впервые показано**, что полипренолы могут быть проанализированы методом МАЛДИ-МС в виде моноалкоголятов бария из монослоя, сформированного на границе раздела фаз при нанесении n-гексанового раствора полипренолов на полусферическую поверхность водной субфазы, содержащей ионы бария;

**разработана** новая методика МАЛДИ-МС анализа амфифильных соединений в виде их бариевых солей в составе слоев, формирующихся непосредственно на поверхности МАЛДИ мишени.

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

*В рамках специальности 1.3.2 (01.04.01) «Приборы и методы экспериментальной физики»*

**Доказано**, что технология Ленгмюра при переносе с плоской поверхности на полусферическую поверхность капли позволяет формировать на твердой подложке мультимолекулярные структуры на основе коллапсированных самоорганизующихся регулярных слоев бариевых солей амфифильных соединений.

На основе проведенных исследований процесса формирования структур, **обнаружено** самопроизвольное перемещение монослоев с полусферической поверхности водной субфазы на подложку.

**Установлено**, что при переходе амфифильных соединений в их бариевые соли

удается достичь существенного увеличения выхода ионов под воздействием лазерного импульса в ходе МАЛДИ-МС анализа по сравнению с недериватизированными амфифильными соединениями. Ионизация происходит за счет отщепления нежирного кислотного остатка (или гидроксильной группы) с образованием иона  $[M-H+Ba]^+$ .

*В рамках специальности 1.4.2 (02.00.02) «Аналитическая химия»*

**Выявлено**, что полипренолы образуют моноалкоголяты бария в результате реакции на границе раздела фаз при нанесении n-гексанового раствора полипренолов на полусферическую поверхность водной субфазы, содержащей ионы бария.

**Установлено**, что в результате реакции солеобразования на поверхности капли водной субфазы формируется регулярный монослой, что позволяет проводить воспроизводимый анализ свободных жирных кислот в виде их бариевых солей.

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

*В рамках специальности 1.3.2 (01.04.01) «Приборы и методы экспериментальной физики»*

адаптация технологии Ленгмюра к полусферической поверхности водной субфазы позволила разработать способ функционализации поверхности МАЛДИ мишени слоями стеаратов металлов для целей биоорганического анализа, что отражено в ряде публикаций (в том числе, публикация №5).

*В рамках специальности 1.4.2 (02.00.02) «Аналитическая химия»*

разработанная методика полуколичественного МАЛДИ-МС анализа свободных жирных кислот, отличающаяся простотой, воспроизводимостью, высокой чувствительностью и экспрессностью, внедрена и используется в лаборатории молекулярной токсикологии и экспериментальной терапии ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России (акт внедрения № 1/22 от 14.11.2022) для разработки методов экстракции и анализа свободных жирных кислот из биологических образцов при разработке модели лекарственного стеатоза на клеточной линии НераRG и в лаборатории раннего эмбриогенеза ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта» (акт внедрения № 1-22 от 24.11.2022) для определения влияния концентрации свободных жирных кислот на компетентность ооцитов.

Кроме того, результаты, полученные в рамках данной работы, могут быть положены в основу методик скрининга амфифильных соединений для контроля качества лекарственных средств, биологически активных добавок и продуктов питания, а также использованы в научно-исследовательских медицинских учреждениях для разработки новых методов диагностики заболеваний.



### **Оценка достоверности результатов исследования выявила:**

Достоверность научных положений, результатов и выводов диссертации обусловлена корректностью методов, применяемых для решения поставленных задач; большим объемом экспериментальных данных, подтверждающих основные выводы и научные положения, полученные с применением современных инструментальных средств; использованием стандартных образцов известного состава для разработки аналитических подходов; контролем условий экспериментов; воспроизводимостью результатов; сходимостью полученных результатов с известными экспериментальными данными, а также результатами практической апробации разработанных подходов и методик. Достигнутые научные результаты были многократно представлены на всероссийских и международных научно-технических конференциях, а также опубликованы в реферируемых научных российских и зарубежных журналах.

### **Личным вкладом соискателя является:**

- участие в разработке метода формирования монослоев бариевых солей амфифильных соединений на поверхности МАЛДИ мишени: осуществление исследования структур, полученных на плоской и полусферической поверхностях, обработка экспериментальных данных, участие в обсуждении механизма формирования самоорганизующихся регулярных слоев Ленгмюра на поверхности твердой подложки;
- исследование процесса образования ионов при анализе амфифильных соединений в виде их солей бария методом МАЛДИ-МС: моделирование систем для различного ионообразования, выполнение эксперимента, обобщение, систематизация и оформление полученных данных;
- участие в разработке методики анализа амфифильных соединений в виде монокарбоксилатов бария методом МАЛДИ-МС: определение оптимальных условий анализа, оптимизация методики для анализа в режиме автоматической регистрации масс-спектров, расчет количественных параметров методики, адаптация методики анализа свободных жирных кислот к ненасыщенным длинноцепочечным спиртам, статистическая обработка экспериментальных данных, оформление результатов.
- апробация методики МАЛДИ-МС анализа амфифильных соединений в виде их солей бария при исследовании видоспецифичности состава свободных жирных кислот в двух близких видах ризобий *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* RCAM1026 и *Sinorhizobium meliloti* RCAM1021.
- участие в написании и подготовке научных публикаций по теме диссертационной работы.

На заседании 24 марта 2023 года Диссертационный совет принял решение присудить Гладчуку Алексею Сергеевичу ученую степень кандидата технических наук.

Для проведения тайного голосования Диссертационный совет в количестве 17 человек, из них 17 докторов наук, участвовавших в заседании, из 21 человека входящих в состав совета, дополнительно введены на разовую защиту 3 человека, проголосовали: за – 20, против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель  
Диссертационного совета  
д.т.н., профессор

В.Е. Курочкин

Ученый секретарь  
Диссертационного совета  
д.ф.-м.н.

А.Л. Буляница

Дата оформления заключения

4 марта 2023 г.

М.П.

