ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Ваулина Никиты Васильевича «Исследование ионного и молекулярного транспорта в биосенсорах на основе твердотельных нанопор из нитрида кремния», представленную на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 1.3.2 – Приборы и методы экспериментальной физики

Диссертационная работа Ваулина Никиты Васильевича «Исследование ионного и молекулярного транспорта в биосенсорах на основе твердотельных нанопор из нитрида кремния» посвящена изучению ионного и молекулярного транспорта в наноразмерных порах, сформированных в тонких непроницаемых твердотельных перегородках, а также исследованию методов оптического управления ионной проводимостью пор и способа фиксации белковых молекул в поровых каналах. В настоящее время существует необходимость развития методов исследования биологических молекул, а также разработки новых видов биологических сенсоров, включая инструменты для генетического анализа. Биологические сенсоры на основе одиночных нанопор не только обладают высокой чувствительностью по отношению к различным классам биологических объектов, но и позволяют проводить исследования без предварительной модификации исследуемых веществ. Преимуществами твердотельных сенсоров с нанопорами по сравнению с их биологическими аналогами являются высокая стойкость к внешним воздействиям, возможности получения сенсоров с заданными размерами пор и свойствами поверхности, а также возможность модификации порового пространства для оптимизации сенсорных характеристик. Важность создания новых, высокоэффективных твердотельных биосенсоров на основе нанопоровых технологий, востребованных в различных областях биологии и медицины, а также исследований управляемого ионного и молекулярного транспорта в нанопорах с помощью внешних воздействий делает тематику работы Н.В. Ваулина, несомненно, **актуальной**.

В качестве объектов исследования были выбраны SiNx мембраны с интегрированными одиночными нанопорами при толщинах слоев SiNx 30-40 нм. Размеры свободноподвешенных мембран, используемых в исследованиях ионного транспорта, составляли ~ 30*30 мкм, в экспериментах по детектированию и фиксации одиночных молекул ~ 80*80 мкм. Формирование одиночных нанопор в свободно подвешенных SiNx мембранах производили методом травления сфокусированным электронным пучком в просвечивающем электронном микроскопе. Исследования характеристик поровых каналов проводили также для пористых мембран из Al_2O_3 и C/Al_2O_3. Измерительные ячейки,

обладающие различным функционалом, в которые устанавливали исследуемые образцы одиночных SiN_x нанопор и пористых мембран, изготавливали методом фотополимерной 3D-печати.

В работе детально рассматриваются основные характеристики твердотельных нанопор и транспорта в нанопорах, подробно описаны процессы создания нанопоровых образцов и электрохимических измерительных ячеек, а также особенности проводимых экспериментов. В ходе выполнения работы автору удалось отработать оптимальный комплекс технологических процессов изготовления аморфных SiN_x мембран с заданной толщиной от 25 нм и формирования в них одиночных наноразмерных пор с контролируемыми размерами и формой. Дополнительно отработана методика формирования на поверхности SiN_x мембран плазмонных Au наноантенн для управления транспортными свойствами одиночных нанопор с помощью возбуждаемого поверхностного плазмонного резонанса.

Проведенное исследование влияния сфокусированного лазерного излучения с длиной волны 632 нм и мощностью 10 кВт/см² на ионный транспорт в одиночных нанопорах диаметром 5 нм позволило установить, что воздействие лазерного излучения приводит к росту удельной проводимости одиночных SiN_x нанопор на 6% в 1М спирто-водном растворе KCl, длодиночных плазмонных SiN_x нанопор наблюдался рост удельной проводимости на 10%.

Анализ полученных результатов также показал, что эффективного управления ионным транспортом в нанопорах можно добиться с помощью широкополосного оптического излучения галогенной лампы с низкой мощностью 35 мВт/см². Облучение плазмонной SiN_x нанопоры широкополосным излучением приводит к росту удельной проводимости поры на 35%.

Автором разработан метод фиксации одиночных белковых молекул 20S протеасом в области одиночных SiN_x нанопор диаметром 8-10 нм под действием приложенного электрического поля. Данный метод создает основу для исследования функциональной активности белков в режиме реального времени.

Научная новизна диссертационной работы Н.В. Ваулина определяется разработкой метода оптического управления ионной проводимостью одиночных нанопор (SiN_x и SiN_x с плазмонными Au оптическими антеннами) в растворах KCl при помощи широкополосного (λ = 400 - 1000 нм) излучения галогенной лампы и метода фиксации одиночных белковых молекул в области одиночной SiNx нанопоры под действием приложенного электрического поля. Разработанные впервые методы позволили снизить плотность мощности внешнего оптического излучения для управления ионным транспортом, экспериментально

подтвердить влияние спектрального состава оптического излучения на ионную проводимость нанопоры, а также показать возможность фиксации одиночных молекул 20S-протеасомы.

Практическая значимость работы заключается в апробации методов формирования свободноподвешенных SiN_x мембран толщиной 25-200 нм, одиночных нанопор заданного диаметра в SiN_x мембранах с помощью литографии сфокусированным электронным пучком, формирования Au плазмонных антенн-бабочек с размерами $\lesssim$ 600 нм на поверхности свободно подвешенных SiN_x мембран. Предложенный комплекс методов позволяет формировать устойчивые к агрессивным средам и механическим воздействиям одиночные нанопоры различных типов для нанопоровых сенсоров. Важной в практическом отношении является и разработанная методика изготовления измерительных электрохимических ячеек оригинальной конструкции, обеспечивающих возможность проведения экспериментов по оптическому управлению ионной проводимостью одиночных нанопор, а также методика фиксации одиночных молекул белков в области нанопор под действием приложенного электрического поля для исследования функциональной активности белковых соединений в реальном времени.

Представленные в работе результаты могут быть использованы научными группами, работающими в областях нанопорового детектирования, исследования ионного и молекулярного транспорта, а также анализа биологических молекул.

Большой объем выполненных на современном научном оборудовании технически сложных экспериментальных исследований, воспроизводимость экспериментальных результатов и их корреляция с данными численного моделирования подтверждают **достоверность** полученных **результатов** и **обоснованность** сделанных **выводов.**

Работа Ваулина Н.В., изложенная на 130 страницах и содержащая 44 рисунка и 2 таблицы, состоит из введения, трех глав (литературный обзор, описание экспериментальных установок и методов, исследование ионного и молекулярного транспорта в нанопорах), заключения и списка цитируемой литературы. Литературный обзор в достаточной степени отражает современное состояние исследований, относящихся к тематике диссертации Н.В. Ваулина – в списке литературы приведены ссылки на 106 литературных источников. Полученные результаты хорошо представлены научному сообществу – опубликовано 11 статей (в том числе 5 – в журналах, рекомендованных ВАК РФ и 6 – включенных в международные реферативные базы данных). Сделано 7 докладов на российских и международных конференциях. Сделанные замечания не снижают общего хорошего впечатления о представленной диссертации, в которой решены все поставленные

задачи, а личный вклад автора в выполнение работы, несомненно, является определяющим.

По работе можно сделать следующие замечания, касающиеся терминологии и собственно содержания работы.

1. Несколько странными выглядят словосочетания типа «одиночные наноразмерные поры в тонких непроницаемых мембранах». Понятно, что речь идет о нанопоре в твердом непроницаемом материале, а материал даже с одной порой – вполне проницаемая мембрана, по крайней мере, в физико-химическом смысле.

2. Постоянно встречаются словосочетания типа «буферный раствор электролита, даже тогда, когда речь идет об использованных в работе водных или спирто-водных растворах KCl (буферные растворы, о которых реально идет речь при исследованиях фиксации макромолекул, конечно, тоже электролиты). Почему все-таки для проведения измерений выбран именно хлорид калия, поскольку обычно для измерений хоть как-то связанных с биологическими объектами, используют хлорид натрия. Чем обусловлен выбор изопропанола как одного из компонентов спирто-водной смеси? Про воду написано ее удельное сопротивление (18 МОм×см), которое обычно пишут в паспорте производящей эту воду установки, а реальную – на момент приготовления растворов и промывки ячеек и пор – удельную электропроводность этой воды измеряли? И проводили ли измерения pH использованных жидких сред?

3. Так ли необходимо все сушить воздухом? И как проверялась его чистота? (Из опыта собственных экспериментов – полностью гидрофильная поверхность кварцевого стекла, мытая серной кислотой, кипящей сместью аммиака и перекиси водорода, бидистиллятом при кипячении после 20 минут на воздухе становится частично несмачиваемой).

4. Несколько странно выглядит уравнение (4) – активность компонента равна его мольной доле? На этой же странице – «валентность раствора» – валентность (а лучше заряд) есть только у ионов, а про электролиты иногда пишут z-z – электролит, то есть симметричный. А для описания потоков при нескольких действующих силах используют уравнения неравновесной термодинамики.

5. Уравнение (6), действительно, можно писать только в том случае, когда удельная электропроводность порового и свободного раствора одинаковы. Но дело не в том, что «влиянием заряда поверхности мембраны (стенок поры), можно пренебречь». При 0.1 М концентрации 1:1- зарядного электролита толщина ДЭС при 20 °С составляет ~ 1 нм и для слабозаряженных систем (практически все, кроме ионитов) при $C \geq 0.1$ М можно пренебречь влиянием ионов ДЭС на электропроводность порового раствора. И еще – в уравнении (6) 2-е слагаемое в скобках, относящееся к сопротивлению на входе и выходе

равно 1/d, а в уравнении (8) $R_{access} = \rho/2d$. Далее на стр. 26 – «…формуле (6), поскольку в ней не учитывается поверхностный заряд стенок поры» – снова дело не только и не столько в заряде стенок, а, в первую очередь, в количестве и подвижности противоионов в порах, которая может быть настолько снижена для специфически сорбирующихся ионов, что электропроводность в поровом канале будет меньше, чем в свободном растворе.

6. Знак и величина поверхностного заряда на границе контакта твердого тела с раствором электролита определяется изоэлектрической точкой данного материала, и может регулироваться подбором уровня pH раствора» – абсолютно неверное утверждение (стр. 23). Знак и величина заряда на границе раздела определяются химическим составом контактирующих фаз, а изоэлектрическая точка – это такой состав электролита, при котором электрокинетический потенциал равен нулю – может наблюдаться при любом заряде поверхности. Далее на стр. 23 – «слоем Стерна» – принятое написание слой Штерна. О каких изменениях конфигурации ДЭС идет речь (стр. 77)?

7. Не очень понятно, как «Транспорт молекул под действием градиента концентрации электролита (диффузионный механизм), подобно электроосмосу, формирует направленный поток ионов … (см. рисунок 10 – в.) [39]» (стр. 37) – о каких молекулах идет речь? На рис. 10 – в приведено нечто вроде начального состояния системы, состоящей из заряженного отрицательно канала, разделяющего растворы электролита разной концентрации. Преимущественный поток противоионов вызовет возникновение мембранного диффузионного потенциала, который будет тормозить противоионы и ускорять коионы. При разных концентрациях электролита по сторонам канала будет также наблюдаться осмос и электроосмос в поле мембранного потенциала, другое дело, что вклады этих потоков в реальных системах зависят от геометрии и состава жидкой фазы.

8. При какой температуре проводили измерения ионной проводимости? Табличное значение удельной электропроводности 0.5 М раствора KCl 5,12 См/м при 18 °С, температурный коэффициент изменения удельной электропроводности раствора (у автора 7 См/м)?

9. Необходимы пояснения к уравнениям (20,21). Если L – длина, на входе z = 0, а выходе z = 1, то как становится безразмерной Lz? Если $c_\pm$ – концентрации ионов, а C_0 – концентрация электролита (см. стр. 24), то как стала безразмерной $C_\pm = C_0 c_\pm$ и т.д. Уравнения (27,28) – одинаковость с на входе и выходе – эти с внутри канала или снаружи? При прохождении тока, если канал меняет числа переноса ионов (а в разбавленных растворах для нанопор это точно наблюдается), то происходят изменения концентрации в объемном растворе в областях, прилегающих ко входу и к выходу из канала.

10. Автор пишет, что «медленный рост температуры раствора под действием излучения позволяет предположить, что значительный вклад в наблюдаемый рост уровня удельной проводимости поры вносит эффект фотовозбуждения дополнительного поверхностного заряда на стенках нанопоры», не делая реальной оценки роста проводимости просто за счет увеличения температуры и не приводя соображений о том, за счет каких групп происходит появление дополнительного заряда. Касаясь «химической» природы поверхностного заряда для исследованных нанопор, автор упоминает поверхностные состояния, соответствующие «оборванным состояниям Si», и состояния «связанные с N центрами», как влияет соотношение этих состояний на поверхности на абсолютную величину поверхностного заряда не обсуждается.

11. Для оксида алюминия известно, что заряд поверхности (для чистой поверхности) вплоть до pH 8-8.5 в растворах KCl положительный, нанесение углерода на поверхность, может, по-видимому, снижать величину заряда, возможно, вплоть до перемены знака, но для таких образцов особенно важна величина pH контактирующего с поверхностью электролита. Все эти подробности автор при анализе вольт-амперных кривых не обсуждает.

12. Про белковую молекулу нельзя писать, что она обладает «отрицательным поверхностным зарядом», поскольку при исследованиях границ раздела фаз термин поверхность относят к частицам, являющимся минимально возможным по объему коллективам молекул, могущим находиться в равновесии с окружающей средой, поэтому обычно пишут молекула отрицательно заряжена.

Указанные выше замечания не затрагивают содержания выводов и не снижают общей ценности работы, поэтому не могут изменить ее общую положительную оценку. Диссертационная работа Ваулина Н.В. представляет собой законченную научно-квалификационную работу, имеющую высокую научную ценность.

Диссертационная работа соответствует паспорту специальности 1.3.2 – Приборы и методы экспериментальной физики (пункт 1 «Изучение физических явлений и процессов, которые могут быть использованы для создания принципиально новых приборов и методов экспериментальной физики», пункт 6 «Разработка и создание экспериментальных установок для проведения экспериментальных исследований в различных областях физики», пункт 10 «Моделирование физических явлений и процессов»). Автореферат полностью и точно отражает содержание диссертации. Основные результаты диссертационной работы являются новыми и получены автором впервые. Диссертация соответствует критериям, установленным в Постановлении Правительства РФ от

24.09.2013г № 842 с учетом изменений и дополнений. «О порядке присуждения ученых степеней», предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук, а ее автор, Ваулин Никита Васильевич заслуживает присуждения степени кандидата физико-математических наук по специальности 1.3.2 – Приборы и методы экспериментальной физики.

Официальный оппонент,
Доктор химических наук по
специальности 1.4.10 Коллоидная химия,
профессор кафедры коллоидной химии
Института химии
Санкт-Петербургского
государственного университета Ермакова Людмила Эдуардовна

Дата 15.09.2025 г.
e-mail: l.ermakova@spbu.ru, ermakova3182@yandex.ru

Адрес места работы:
199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет»,
Кафедра коллоидной химии Института химии.

Сайт организации spbu.ru

Личную подпись Ермакова Л.Э. 1.7
заверяю
Заместитель начальника
Управления кадров О.Е. Суворова
15.09.2025