

## Отзыв

официального оппонента Мухина Ивана Сергеевича, доктора физико-математических наук, на диссертационную работу Гладчука Алексея Сергеевича «ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМА ФОРМИРОВАНИЯ САМООРГАНИЗУЮЩИХСЯ РЕГУЛЯРНЫХ МОНОСЛОЕВ ЛЕНГМЮРА НА ПОВЕРХНОСТИ ТВЕРДОЙ ПОДЛОЖКИ ДЛЯ АНАЛИЗА АМФИФИЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ МЕТОДОМ МАЛДИ-МС», представленную на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальностям 1.3.2 «Приборы и методы экспериментальной физики» и 1.4.2. «Аналитическая химия».

### 1. Актуальность

Метод масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (МАЛДИ-МС) активно применяется при высокочувствительном анализе широкого круга аналитов, таких как большеразмерные молекулы и молекулярные комплексы. Данный метод находит свое применение при анализе качества пищевых продуктов, лекарственных средств и биологически активных добавок, а также в области медицины, в том числе при диагностике заболеваний. При этом, использование МАЛДИ-МС при исследовании низкомолекулярных соединений затруднено, т.к. в аналитическом сигнале преобладает вклад низкомолекулярных ионов матрицы, что снижает чувствительность методики. Для исследования объектов с низкими значениями  $m/z$  применяют избирательное введение в состав нейтральной молекулы хорошо ионизируемых групп, что также позволяет увеличить эффективное значение  $m/z$  и значительно повысить чувствительность и селективность анализа. Такой подход особенно актуален при определении амфифильных соединений, таких как длинноцепочечные спирты и свободные жирные кислоты. Добавление в состав молекулы атомов бария, выступающих также в качестве матрицы, в ряде случаев позволяет повысить выход ионов амфифильных соединений в виде их солей при воздействии на аналит лазерным излучением. Следует также подчеркнуть, что механизмы образования ионов в МАЛДИ являются не полностью изученными и по-прежнему привлекают интерес исследователей к изучению данной проблемы. Вариабельность МАЛДИ масс-спектров в зависимости от способов нанесения растворов аналита также является существенной особенностью метода.

Технология Ленгмюра обеспечивает формирование самоорганизующихся регулярных монослоев карбоксилатов металлов, при этом в стандартном исполнении не позволяет формировать аналиты некоторых соединений (в частности ряда свободных жирных кислот) и их последующий перенос на мишени МАЛДИ-МС. Для преодоления данного ограничения часть этапов пробоподготовки может быть перенесена

непосредственно на мишень, реализуя тем самым идеологию «лаборатория на мишени». В представленной работе реализован метод образования бариевых солей амфифильных соединений непосредственно на МАЛДИ мишени за счет формирования самоорганизующихся регулярных монослоев Ленгмюра и их последующего коллапсирования и разрушения в области проведения анализа, что, безусловно, является актуальной задачей. Применение полусферических капель водной субфазы, нанесенных на поверхность мишени, расширяет возможности анализа амфифильных соединений методом МАЛДИ-МС.

## **2. Обоснованность и новизна научных результатов диссертационной работы.**

В диссертационной работе Гладчука А.С. предложен метод формирования самоорганизующихся регулярных монослоев бариевых солей амфифильных соединений на поверхности мишени и апробирован при анализе свободных жирных кислот и жирных спиртов при исследовании методом МАЛДИ-МС различных объектов биологической природы. В работе адаптирована технология Ленгмюра к полусферической поверхности водной субфазы, предложен механизм формирования самоорганизующихся регулярных монослоев.

- показано, что ионизация бариевых солей амфифильных соединений происходит за счет отщепления нежирного кислотного остатка (или гидроксильной группы) под воздействием лазерного импульса с образованием иона  $[M-H+Ba]^+$ .

- доказано, что при нанесении n-гексанового раствора полипренолов на поверхность капли водной субфазы, содержащей ионы бария, на границе раздела фаз образуются алкоголяты бария, детектируемые методом МАЛДИ-МС.

- предложена оригинальная методика МАЛДИ-МС для анализа монослоев бариевых солей амфифильных соединений, формирующихся непосредственно на поверхности мишени.

- проведены оценки количественных характеристик методики определения свободных жирных кислот и спиртов.

Обоснованность сделанных в работе выводов и заключений подтверждается воспроизводимостью полученных экспериментальных данных и совпадений результатов экспериментов с известными теоретическими предсказаниями. Предложенный подход к организации и проведению исследований позволил провести анализ состава амфифильных соединений в различных анализатах биологического происхождения.

## **3. Научная ценность и практическая значимость результатов диссертационной работы.**

**Научная ценность** представленной к защите работы определяется комплексным развитием и объединением экспериментальных методов для формирования монослоев бариевых солей амфифильных соединений на поверхности МАЛДИ мишени за счет адаптации технологии Ленгмюра к полусферической поверхности водной субфазы, что использовано для образования мультимолекулярных структур. Применение н-гексанового раствора при нанесении на поверхность капли из водной субфазы, содержащей ионы бария, приводит к образованию алкоголятов бария на границе раздела фаз.

Данный подход позволил значительно понизить требования к количеству анализируемого образца, а также сократить время пробоподготовки для анализа свободных жирных кислот и жирных спиртов методом МАЛДИ-МС. Применимость метода была убедительно продемонстрирована при анализе различных объектов биологической природы. Полученные результаты обладают существенной значимостью как с фундаментальной точки зрения, так и открывают широкие возможности для применения метода МАЛДИ-МС при решении ряда прикладных задач.

**Практическая значимость** полученных результатов заключается в увеличении чувствительности анализа амфифильных соединений методом МАЛДИ-МС и сокращении времени, необходимого для пробоподготовки. Полученные оценки сходимости данных МАЛДИ-МС для исследованных биологических образцов хорошо соотносятся со значениями, получаемыми при проведении профилирования метаболитов, что указывает на потенциал применения рассматриваемого метода для решения задач метаболомики. Отдельно следует отметить предложенный метод автоматизации процесса регистрации масс-спектров при анализе свободных жирных кислот методом МАЛДИ-МС с использованием технологии Ленгмюра. Разработанная методика анализа свободных жирных кислот в виде их монокарбоксилатов бария внедрена и используется в лабораториях ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России и ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта».

#### **4. По рецензируемой диссертации можно сделать следующие замечания:**

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 масс-спектра, представленного на рисунке 11, для смеси из 6 стандартов СЖК 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 Ba. При этом, на вставке к рисунку приведено количественное процентное содержание элементов? При концентраций атомов менее 1% (как по массе, так и по составу) данный метод характеризуется высокой погрешностью. Было бы оправданным привести значение ошибки измерения. Также, линия C, присутствующая на представленном спектре, может относиться к паразитной углеродной пленке, всегда формирующейся в камере СЭМ 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 HSi в n-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 n-гексана?

К незначительным недостаткам работы можно отнести не вполне логичную последовательность описания результатов, представленных на рисунках 30 и 31. В тексте диссертации вначале рассматриваются данные и результаты, представленные на рисунке 31, а только потом переходят к рассмотрению и сопоставлению данных на рисунке 30. Было бы уместным изменить порядок рисунков. Также можно отметить, что формат предоставления данных на рисунке 32 (параграф 3.3.7) затрудняет самостоятельный анализ полученных результатов по исследованию профилирования СЖК в плазме крови крыс при интоксикации ацетатом ртути.

Указанные замечания не относятся к основным положениям работы и не снижают значимость полученных научных результатов, представленных в диссертации.

**Общее заключение по диссертации.** Представленная работа является комплексным законченным научным исследованием. Проведенные эксперименты и сделанные выводы заслуживают высокой оценки. Диссертация работа выполнена на высоком научном уровне и представляет как научный, так и практический интерес. Изложение материалов диссертации проведено на высоком академическом уровне, полученные результаты описаны в доступной форме.

Представленный обзор литературы позволяет судить о высокой степени новизны и актуальности исследования. Основные результаты работы опубликованы в высокорейтинговых научных изданиях, включая публикации в изданиях, рекомендованных ВАК. Автореферат и публикации соискателя в полной мере отражают содержание представленной диссертационной работы.

Полученные Гладчуком А.С. результаты и использованные методы решения поставленных в работе задач соответствуют специальностям 1.3.2 «Приборы и методы экспериментальной физики» и 1.4.2. «Аналитическая химия». Диссертация Гладчука А.С. полностью удовлетворяет требованиям и критериям, предъявляемым к подобным работам и приведенным в п.9 Положения ВАК РФ «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (в редакциях №335 от 21.04.2016, №748 от 02.08.2016 и №1168 от 01.10.2018), а ее автор, Алексей Сергеевич Гладчук, заслуживает присуждение ученой степени кандидата технических наук по специальностям 1.3.2 «Приборы и методы экспериментальной физики» и 1.4.2. «Аналитическая химия».

Официальный оппонент

Директор Высшей инженерно-физической школы  
Санкт-Петербургского политехнического университета Петра Великого  
доктор физико-математических наук, доцент

Мухин Иван Сергеевич

Адрес организации: Политехническая ул., 29, Санкт-Петербург, 195251

Электронная почта: [imukhin@yandex.ru](mailto:imukhin@yandex.ru)

Телефон: +7(951)661-02-58

Сайт: <http://www.sptbcsu.ru>

