

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу Бухариновой Марии Александровны «Моделирование электродных процессов на наночастицах золота и сенсоры на их основе для определения аскорбиновой и мочевой кислот», представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 – Аналитическая химия

Актуальность работы. Современная аналитическая химия большое внимание уделяет определению антиоксидантов, причем прорабатываются как вопросы разработки новых типов методик их аналитического определения, так и некоторые теоретические подходы к решению этой задачи. При выборе методов анализа часто останавливаются на электрохимических вариантах. Электрохимические методы анализа не требуют для своей реализации дорогостоящей аппаратуры, считаются достаточно хорошо изученными. Однако решение задач определения многих биологически активных соединений, особенно в малых концентрациях и в сложных по составу объектах, далеко не всегда однозначно. Поэтому работы в направлении совершенствования методов определения таких соединений, как аскорбиновая (АК) и мочевая (МК) кислоты, продолжаются.

Для реализации рационального подхода к решению этой задачи необходима и проработка теоретических аспектов применяемых методов. Работа Бухариновой М.А. лежит в русле исследований, проводимых на кафедре химии и физики УрГЭУ. В основу теоретического описания процессов, происходящих на электродах, модифицированных наночастицами золота, положены термодинамические представления, предложенные профессором Х.З. Брайниной. Эти представления развиты в данной работе при создании модели, пригодной для описания процессов электропревращения веществ на электродной поверхности с учетом ее энергетических особенностей. Адекватность предложенной математической модели и правомерность ее использования подтверждена на примере электроокисления нитрит-ионов, аскорбиновой и мочевой кислот на макро- иnanoструктурированных электродах. Показана перспективность использования этой модели для прогнозирования условий электрохимического определения биологически активных соединений. Все вышесказанное позволяет считать, что тема диссертационной работы Бухариновой М.А. является **актуальной**.

Цель работы. Автор диссертационной работы поставила перед собой сложную цель. В теоретическом плане предполагалось провести математическое моделирование процессов, происходящих на электродах, модифицированных наночастицами золота разных размеров. С другой стороны поставлена и практически значимая цель – разработка аналитических методик определения аскорбиновой и мочевой кислот в сложных объектах.

Детальное знакомство с текстом диссертации М.А. Бухариновой позволяет считать, что эти цели достигнуты. Разработана математическая модель, описывающая особенности электропревращения веществ на поверхности электродов. Модель проверена экспериментально. Автор также предложил два принципиально новых сенсора для вольтамперометрического определения аскорбиновой и мочевой кислот. Показано, что погрешности определения целевых веществ статистически незначимы.

Научная новизна диссертации состоит в следующем:

1. Для теоретического описания процессов электропревращения вещества, диффундирующего из объема раствора к поверхности исследованных автором модифицированных электродов, впервые предложена математическая модель, учитывающая энергетические особенности поверхности электродов.

2. Сопоставление экспериментальных и рассчитанных по математической модели вольтамперограмм позволило установить различия в механизме восстановления нитрит-ионов и аскорбиновой и мочевой кислот на модифицированных наночастицами золота электродах.

3. Установлены размерные эффекты, в частности, показано, что сдвиг вольтамперной кривой в катодную область потенциалов тем больше, чем меньше размер наночастиц и выше их поверхностная энергия.

Практическая значимость работы.

Предложен оригинальный бесферментный планарный сенсор сложного состава для определения мочевой кислоты на основе наночастиц золота, покрытых 2,5% раствором нафиона, а для достижения избирательности определения этой кислоты в присутствии аскорбиновой кислоты осуществлен подбор фонового электролита. Разработаны методики определения мочевой кислоты в образцах сыворотки крови и молока.

Для определения аскорбиновой кислоты разработан сенсор с использованием наночастиц золота, полученных по «зеленой» технологии. Разработана методика определения аскорбиновой кислоты без предварительной пробоподготовки во фруктовых соках.

Диссертация состоит из введения, 5 глав, заключения, списка использованных сокращений и списка цитированной литературы, включающего 186 наименований. Работа изложена на 128 страницах, включает 16 таблиц и 45 рисунков.

Во введении раскрыта актуальность темы исследования, определены цели и задачи, сформулирована научная, практическая значимость и положения, выносимые на защиту.

Глава I. Литературный обзор. Он является весьма многоплановым и включает характеристику известных методов получения наночастиц металлов, в частности, золота.

Приведено описание их физических и химических свойств. Затронуты вопросы проявления «размерного эффекта», определяющего зависимость физических и химических свойств наночастиц от их степени дисперсности и формы. Большое внимание уделено сущности физико-химического подхода к описанию процессов электрохимического превращения наночастиц металлов, сформулированного в работах профессора Х.З. Брайниной.

Отмечается, что теоретические исследования особенностей процессов электроокисления наночастиц металлов и их свойств описаны в достаточном количестве работ. Но подхода к описанию процессов электропревращения вещества на наночастицах к настоящему времени предложено не было.

Следующие два раздела обзора литературы посвящены характеристике работ по аналитическим методам определения аскорбиновой и мочевой кислот. Литературный материал рассмотрен критически, выделены сильные и слабые стороны опубликованных в литературе методик. Цитируемые работы систематизированы в двух таблицах. Один абзац в конце обзора литературы является итоговым, переходным к основному тексту диссертации.

Вторая глава посвящена описанию используемых реагентов и оборудования, а также описанию методик эксперимента.

Следует отметить, что автором использованы реагенты последних лет выпуска, аттестованные при выпуске известными фирмами. Степень чистоты используемых реагентов очень высокая и соответствует требованиям прецизионной вольтамперометрии.

Измерения физико-химических свойств используемых материалов проведены на современном оборудовании. Воспроизводимость результатов подтверждена сравнением разных методов, методом «введено – найдено». Статистическая обработка результатов проведена корректно.

Подробно описан синтез наночастиц золота, особенное внимание уделено описанию «зеленого» метода синтеза, предложенного автором работы.

В этой же главе описано экспериментальное исследование свойств, полученных разными методами наночастиц. Проведено исследование оптических свойств золей золота спектрофотометрическим методом и методом светорассеяния. Совместное обсуждение полученных результатов позволило оценить средневзвешенный диаметр частиц в исследованных золях.

Для оценки формы, размера синтезированных наночастиц и их распределения в золе был использован метод просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) высокого разрешения. Определенный этим методом размер частиц близок к результатам спектрофотометрических исследований.

Электронно-микроскопические изображения поверхности стеклоуглеродного электрода, модифицированного наночастицами золота разного размера, показали, что частицы достаточно равномерно распределены на поверхности электрода, но также присутствуют агломераты частиц.

Глава 3 посвящена математическому моделированию процессов электропревращения вещества на твердофазных и наноструктурированных электродах.

Основу подхода к моделированию процессов электропревращения веществ на электродах заложили предложенные проф. Брайниной Х.З. физико-химические модели электроокисления наночастиц на модифицированных электродах. В данной работе физико-химическая модель усложнена. Рассмотрены три возможных случая протекания процесса:

1. Е – чисто электрохимический
2. ЕС – электрохимический, включающий каталитическую стадию
3. ЕР – электрохимический, с последующей пассивацией поверхности электрода адсорбированным продуктом реакции.

Выведены уравнения, описывающие эти случаи. Ключевым является уравнение для расчета величины диффузионного тока для наноструктурированного электрода с включением свободной поверхностной энергии Гиббса наночастиц ΔG° , Дж/моль ($\Delta G^\circ = 0$ для макроэлектрода).

Адекватность предложенной физико-математической модели и правомерность ее использования подтверждена на примере рассмотрения процессов электроокисления нитрит-ионов, АК и МК на макро- и наноструктурированных электродах.

Для нитрит-ионов экспериментально получены вольтамперограммы и теоретические кривые, рассчитанные без ($\Delta G^\circ = 0$) и с учетом наноэффектов (ΔG° отлично от нуля). Наноэффекты должны проявляться в сдвиге кривой в сторону более отрицательных потенциалов. Потенциалы полуволны окисления нитрит-ионов, зарегистрированные с использованием объемного электрода и ансамбля наночастиц, практически совпадают, что свидетельствует об отсутствии наноэффекта в этом процессе.

Для аскорбиновой кислоты сдвиг вольтамперных кривых, полученных на наноструктурированных электродах, относительно объемного золотого четко выражен. Если использовать электроды, модифицированные наночастицами разного размера, с уменьшением размера наночастиц и возрастанием их свободной поверхностной энергии, сдвиг вольтамперограмм в сторону отрицательных потенциалов становится больше. Совпадение экспериментальных и рассчитанных кривых подтверждает проявление наноэффектов в рассматриваемом случае.

Электроокисление мочевой кислоты проведено с точки зрения протекания процесса по двум механизмам:

1. Е – электрохимический процесс, без промежуточных химических стадий;
2. ЕС – электрохимический процесс, включающий каталитическую стадию.

В работе Бухариновой М.А. установлено путем сравнения рассчитанных и экспериментальных вольтамперограмм, что окисление МК на макро- и наноструктурированных электродах не осложняется каталитической стадией.

С другой стороны, показано, что проявление размерных эффектов при электроокислении МК происходит в меньшей степени по сравнению с АК. Размерный эффект более заметен для наночастиц, радиус которых не превышает 7 нм.

Тот факт, что для АК по сравнению с МК размерные эффекты выражены более значительно, авторы предполагают использовать при разработке сенсоров для определения АК или МК при их совместном присутствии.

Глава 4 посвящена описанию сенсора на основе частиц золота для определения мочевой кислоты.

В качестве подложки для сенсора был взят толстопленочный углеродсодержащий электрод (ТУЭ). Основываясь на теоретических исследованиях, с использованием предложенной математической модели в качестве модификатора выбраны наночастицы золота, полученные цитратным методом Туркевича с радиусом 5 нм (цит-Au).

Для устранения влияния АК поверхность цит-Au/ТУЭ была покрыта раствором нафиона (Nf) – катионообменного полимера. Выбрана оптимальная концентрация нафиона.

Установлено, что 100-кратный избыток глюкозы и мочевины, 70-кратный креатинина, 10-кратный триптофана и 5-кратный избыток АК не оказывают существенного влияния на сигнал МК.

Важным преимуществом разработанного сенсора является возможность определения МК в молоке без предварительных операций разделения и концентрирования. Планарность конструкции обеспечивает возможность использования в портативных устройствах для *on site* и *in-situ* анализа. Разработанный сенсор на основе ТУЭ, модифицированного наночастицами золота и нафиона, показал хорошие аналитические характеристики: низкий предел обнаружения, широкий диапазон линейности, высокую селективность определения МК в присутствии АК.

Проведен анализ образцов сыворотки крови.

Правильность определения оценивали по методу «введено-найдено». Величина Sr для 2.5%Nf/цит-Au/ТУЭ не превышает 3.2 %. Осуществлено сравнение предлагаемого автором электрода с референтным ферментативным спектрофотометрическим методом.

Результаты определения МК двумя рассматриваемыми методами хорошо согласуются. Значения F- и t-критериев меньше критических при $P = 0.95$, что подтверждает отсутствие систематических ошибок и точность определения.

Предложенный сенсор был использован для определения МК в образцах молока без предварительной пробоподготовки при 50-кратном разбавлении.

В главе 6 представлен сенсор на основе наночастиц золота для определения аскорбиновой кислоты (АК).

В качестве подложки при разработке сенсора была выбрана углеродная вуаль. Для модифицирования электрода выбраны наночастицы фито-Au, полученные экологичным методом «зеленого» синтеза. Это является преимуществом, поскольку такие наночастицы являются биосовместимыми и низкотоксичными. Кроме того, автором показано, что фито-Au/УВЭ является электрохимически инертным. Осужден выбор подходящего фонового электролита. Максимальная величина тока окисления АК наблюдается при pH 6, поэтому для дальнейших исследований в качестве фонового электролита использовали фосфатный буферный раствор с pH 6.

Разработанный фито-Au/УВЭ имеет два линейных диапазона (ЛД): 1 – 10 мкМ и 10–5730 мкМ. Предел обнаружения (ПО) и предел количественного определения (ПКО) составляют 0.05 мкМ и 0.15 мкМ соответственно. Установлено, что определению АК не мешает 100-кратный избыток глюкозы, 500-кратный избыток сахарозы, 600-кратный избыток лимонной кислоты и фруктозы, 800-кратный избыток винной и 1000-кратный избыток яблочной кислот.

Сравнение с литературными данными показывает, что у разработанного Бухариновой М.А. сенсора предел обнаружения и диапазон линейности не только сопоставимы, но и лучше по сравнению со многими другими модифицированными электродами. Разработанный сенсор был использован для определения АК в образцах фруктовых соков. В качестве референтного использован метод потенциометрического титрования. Результаты определения АК двумя рассматриваемыми методами достаточно близки. Значения F- и t-критериев меньше критических при $P=0.95$, что подтверждает отсутствие систематических ошибок и точность определения.

Высокая селективность сенсора обеспечила его успешное применение при анализе фруктовых соков без дополнительной пробоподготовки. Простота и меньшая трудоемкость определения АК вольтамперометрическим методом с использованием фито-Au/УВЭ являются существенными преимуществами по сравнению с методом потенциометрического титрования.

В целом диссертационная работа производит цельное впечатление и представляется квалификационной работой, выполненной на высоком научном и экспериментальном уровне. Благоприятное впечатление производит большой объем выполненных экспериментальных исследований. Достоверность результатов обеспечивает применение значительного числа современных физико-химических методов анализа и исследования веществ. Все основные положения, сформулированные в работе, экспериментально обоснованы. Предлагаемая математическая модель процессов электропревращения веществ на модифицированных наночастицами электродах проверена при сравнении расчетных и экспериментальных вольтамперограмм.

При чтении работы возникли некоторые **замечания и вопросы**:

1. При описании математической модели процессов электропревращения веществ на модифицированных наночастицами электродах (глава 3, стр. 48 – 51) хотелось бы, чтобы четче были выделены предпосылки, отличающие разработанный в данной диссертационной работе подход от ставшего уже классическим подхода в работах Х.З. Брайниной. Может быть, это замечание является следствием того, что классический подход описан в литобзоре и оторван от предлагаемых в данной работе идей.
2. При создании сенсора для определения мочевой кислоты (МК) в качестве дополнительного модификатора поверхности электрода использован нафион. Какова роль этого вещества в процессах, реализующихся при работе электрода?
3. На стр.73 диссертации разность потенциалов окисления аскорбиновой и мочевой кислот при pH=5 объясняется их разным ионным состоянием. Поскольку константы ионизации этих кислот достаточно близки, то для того, чтобы утверждать, что при pH=5 мочевая кислота находится не в анионной форме, а аскорбиновая в анионной, по мнению оппонента, следовало бы провести расчет мольных долей соответствующих частиц в растворах этих кислот при заданном значении pH.
4. В списке публикаций М.А. Бухариновой нет патентов. Почему не патентовался «зеленый» способ синтеза наночастиц золота?

Высказанные замечания и вопросы не имеют принципиального характера и не влияют на общую положительную оценку диссертационной работы М.А. Бухариновой.

Сделанные по результатам работы выводы обоснованы и логично вытекают из полученных диссиденткой экспериментальных данных.

Результаты исследования М.А. Бухариновой апробированы на конференциях разного уровня, в том числе и на международных. По результатам работы опубликовано 5 статей в рецензируемых научных изданиях, определенных ВАК и Аттестационным советом УрФУ, глава в коллективной монографии и тезисы 12 докладов всероссийских и

международных конференций. Автореферат соответствует основному содержанию диссертации.

Таким образом Бухариновой М.А. выполнено завершенное в рамках поставленных целей исследование, заключающееся в разработке новых теоретических и экспериментальных подходов к совершенствованию электрохимических методов анализа, а именно вольтамперометрии, что соответствует паспорту специальности 02.00.02 – Аналитическая химия.

Диссертация Бухариновой М.А. по актуальности, научной новизне и практической значимости соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней в УрФУ» (приказ ректора УрФУ № 879/03 от 21.10.2019), предъявляемым к кандидатским диссертациям и может рассматриваться как завершенная научно-квалификационная работа, посвященная решению актуальных задач развития электрохимических методов анализа, а ее автор, Бухаринова Мария Александровна, заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 – Аналитическая химия.

Кандидат химических наук, доцент,
заведующая кафедрой аналитической химии
и химии окружающей среды

Института естественных наук

Уральского федерального университета
имени первого Президента России Б.Н. Ельцина

Неудачина Людмила Константиновна

20.11.2020

Федеральное государственное образовательное учреждение высшего образования
Уральский федеральный университет имени первого Президента России
Б.Н.Ельцина (ФГОУ ВО УрФУ имени первого Президента России Б.Н.Ельцина)

620002, Екатеринбург, ул. Мира, 19

Телефон +7-922-618-37-14

Адрес электронной почты: Ludmila.Neudachina@urfu.ru

