

## ОТЗЫВ

на автореферат кандидатской диссертации Романовой Тамары Евгеньевны по теме «Применение методов ВЭЖХ- ИСП- АЭС для идентификации форм связывания кадмия и ртути в растениях»

Диссертация Романовой Т.Е. посвящена идентификации химических форм связывания токсичных элементов кадмия и ртути в природных объектах, что необходимо для изучения трансформации и транспорта элементов в живой природе; это позволяет правильно оценивать риски загрязнения окружающей среды и находить оптимальные способы его фиторемедиации. Для достижения поставленной цели в работе применялся комплексный подход, объединяющий разделение с последующим детектированием в рамках одной процедуры: высокоэффективная жидкостная хроматография с детектированием методом атомно- эмиссионной спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой (ВЭЖХ-ИСП-АЭС) с вводом элюата через пневматический распылитель и с применением реактора для генерации холодного пара ртути (ХП).

На 23 страницах автореферата автор ясно обосновал актуальность темы, цели и задачи работы, показал ее научную новизну и практическую значимость, а также изложил основные положения диссертации, которые выносятся на защиту. Основное содержание работы состоит из введения, 4-х глав, выводов, заключения, списка цитируемой литературы. Диссертация содержит 38 рисунков и 24 таблицы. В автореферате представлены 9 рисунков и 3 таблицы.

Литературный обзор посвящен обзору публикаций по методам и подходам к идентификации форм связывания микроэлементов в растениях, обобщены данные по методам отбора проб, извлечению форм кадмия и ртути из растений и подготовке образцов к анализу. Представлен критический обзор литературных данных по методам разделения в совокупности с элемент- и молекулярно — специфическими детекторами для изучения форм связывания элементов в растениях, обоснована целесообразность применения гибридных и комбинированных методов для выявления зон локализации элементов и исследования вещественного состава соединений, образующихся в объектах живой природы.

Во второй главе представлен перечень использованного оборудования, охарактеризован объект исследования — водяной гиацинт. Описана последовательность проведения лабораторных экспериментов с растениями и процедура подготовки проб исследуемых образцов. Представлены методики определения содержания ртути и кадмия в воде и растениях методом ИСП- АЭС, методика определения аминокислотного состава экстрактов растений с помощью ВЭЖХ, методика определения сульфгидрильных групп методом инверсионной вольтамперометрии.

Третья глава посвящена разработке подхода к идентификации форм связывания кадмия в растениях с применением методов ВЭЖХ- ИСП -АЭС. Изучали распределение кадмия в органах растений. Установлено, что большая часть элемента концентрируется в корне растения водного гиацинта, где он локализуется преимущественно в ризодерме и первичной коре.

Для извлечения фракций, содержащих кадмий, из растения применяли ступенчатую экстракцию, в процессе которой сначала извлекались водорастворимые формы кадмия, а затем кадмий из клеточной стенки. Полученные экстракты далее подвергали ВЭЖХ- анализу с элемент-селективным детектированием. Была проведена оптимизация условий хроматографического разделения и ИСП- АЭС детектирования кадмия в этой гибридной системе. После выявления зон локализации кадмия на хроматограмме, в режиме *offline* в отобранных фракциях определяли кадмий, сульфгидрильные группы (методом инверсионной вольтамперометрии) и аминокислоты (методом ВЭЖХ с предколоночной дериватизацией).

На основании полученных данных сделано предположение о связывании кадмия с крупными молекулами, содержащими большое количество сульфгидрильных групп, т. е. с металлотиенинами.

Четвертая глава посвящена разработке подхода к идентификации форм связывания ртути в растениях с применением метода ВЭЖХ- ХП- ИСП- АЭС. Для снижения пределов обнаружения была проведена оптимизация метода с использованием реактора для генерации паров ртути, что позволило в режиме *online* на хроматограмме получить предварительные данные о зонах локализации и формах связывания ртути.

Для количественной оценки распределения ртути между органами растения использовали транслокационный фактор (TF). Расчеты TF показали более медленный транспорт ртути в стебли и листья и высокую степень ее концентрирования в корне растения по сравнению с кадмием. Для визуализации пространственного распределения ртути в тканях растения применяли сканирующую электронную микроскопию в сочетании с энергодисперсионным определением химического состава (СЭМ- ЭДС). Исследования показали, что основная часть ртути находится в ризодерме, а также непосредственно на поверхности корня.

Были синтезированы и хроматографированы комплексы ртути с цистеином и глутатионом с целью идентификации этих соединений в корнях гиацинта. Для изучения форм связывания ртути в растениях была оптимизирована процедура ступенчатой экстракции и выбраны наилучшие параметры хроматографического разделения с использованием ион- парного реагента.

Вещественный состав отобранных фракций, содержащих ртуть, изучали в режиме *offline*. Было показано, что ртуть в экстракте из корня растения находится в двух основных формах: двухвалентного катиона  $Hg^{2+}$  и в виде пептидного соединения, содержащего цистеин (Cys), в соотношении Cys:Hg = 30:1. Это позволило отнести данную форму ртути к классу именно металлотиенинов, а не фитохелатинов, которые также могут связывать ионы металлов в растениях.

Выводы соответствуют содержанию автореферата.

В качестве замечаний следует отметить следующие:

1. Из реферата не совсем ясно, чем отличается понятие "комбинированные методы" от понятия "гибридные методы" анализа.
2. На стр. 5 описка: надо читать — фиторемедиации.

Сделанные замечания ни в коей мере не изменяют положительную оценку автореферата. Автореферат удовлетворяет всем предъявляемым требованиям и автор заслуживает присвоения ему степени кандидата химических наук.

Химик- эксперт

ЗАО Институт хроматографии «ЭкоНова»,

кандидат химических наук

Л.А. Кожанова

*Подпись Л.А.  
удостоверен*

*Начальник ОК Вексель, /Резанова Т.А./*