

ОТЗЫВ

официального оппонента

на диссертацию

Романовой Тамары Евгеньевны

«Применение метода ВЭЖХ-ИСП-АЭС для идентификации форм связывания кадмия и ртути в растениях», представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 – аналитическая химия

Актуальность темы диссертации

Микрокомпоненты играют важную роль в функционировании живых систем (растения, животные, человек) и могут оказывать на них как положительное, так и негативное воздействие. Причем, степень воздействия зависит не только от концентрации элемента, но и от формы его нахождения.

Определение форм нахождения химических элементов в живых системах в настоящее время является одной из актуальных задач аналитической химии.

Другой важной задачей аналитической химии является гибридизация методов анализа или возможность перевода комбинированных методов анализа, сочетающих различные методы разделения и концентрирования с разнообразными методами определения в off-line режиме, в разряд гибридных методов, в которых методы разделения, концентрирования и определения неразрывно связаны и реализуются в одном приборе.

В этой связи работа Романовой Т.Е., посвященная применению гибридного метода ВЭЖХ-АЭС-ИСП для идентификации форм нахождения кадмия и ртути в образцах водяного гиацинта, является **актуальной**.

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки «Институт неорганической химии им. А.В. Николаева» СО РАН. Диссертационная работа состоит из введения, 4 глав, выводов и списка из 224 использованных литературных источников, изложена на 127 страницах машинописного текста, содержит 38 рисунков и 24 таблицы.

Во введении приведена актуальность работы, сформулированы цель и задачи исследования, научная новизна и практическая значимость работы.

Первая глава (обзор литературы) посвящена анализу опубликованных литературных данных. Литературный обзор создает весьма благоприятное

впечатление по широте и глубине рассмотрения опубликованных источников. В первом разделе (раздел 1.1) приведены основные термины, описывающие предмет исследования автора. *Однако следует отметить, что в данном разделе литературного обзора не приведено определение термина «форма связывания», использованного в названии диссертационной работы.* Соискателем проведен обстоятельный и критический анализ форм существования химических элементов в организме растений, в частности, кадмия и ртути. Рассмотрены основные подходы к пробоподготовке биологических объектов для дальнейшей идентификации форм элементов с использованием методов экстракционного и сорбционного концентрирования. При рассмотрении гибридных методов анализа детально рассмотрены преимущества и недостатки методов разделения форм элементов (высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), капиллярный электрофорез, газовая хроматография) и особенности их сочетания с элемент-селективными детекторами. Обстоятельно рассмотрены существующие подходы по гибридизации методов анализа. Литературный обзор заканчивается заключением и постановкой задачи.

Положительным качеством литературного обзора является последовательность изложения основных подходов и процедур, опубликованных в литературе, при этом структура литературного обзора органически связана со структурой экспериментальной части.

Во второй главе описаны используемое основное и вспомогательное оборудование, реактивы, методики определения кадмия и ртути в растениях и водах методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой (АЭС-ИСП), содержания аминокислот в экстрактах растений методом ВЭЖХ, содержания сульфгидрильных групп в экстрактах растений методом инверсионной вольтамперометрии и методика проведения эксперимента с растениями.

Третья глава посвящена идентификации форм связывания кадмия в растениях методом ВЭЖХ-АЭС-ИСП. Предварительно проведено определение валового содержания кадмия в корнях, стеблях и листьях водяного гиацинта. Проведено гистохимическое исследование распределения кадмия в корне водяного гиацинта дитизионовым методом. С использованием ступенчатой экстракции определено соотношение водорастворимых форм кадмия и его форм, связанных с пептидами и клеточной стенкой. Подробно описана оптимизация параметров работы гибридной системы ВЭЖХ-АЭС-ИСП и рабочие параметры ВЭЖХ и АЭС-ИСП при проведении анализа в комбинированном (off-line) режиме. Раздел 3.4 посвящен «выявлению соединений кадмия в экстрактах методом ВЭЖХ-ИСП-АЭС». Проведено

определение сульфгидрильных групп в компонентах экстракта методом инверсионной вольтамперометрии, распределения серы в тканях растения и экстрактах, аминокислотный состав.

В четвертой главе приведены результаты по идентификации форм связывания ртути в растениях с применением метода ВЭЖХ-АЭС-ИСП. Определено валовое содержание ртути в корнях, стеблях и листьях водяного гиацинта в зависимости от времени его выдерживания в растворе, содержащем ртуть, исследовано распределение ртути в срезах корня методом сканирующей электронной микроскопии с энергодисперсионным анализом химического состава (СЭМ-ЭДС). Методом последовательного выщелачивания (ступенчатая экстракция) определено распределение ртути между фракциями (деионизованная вода, 10^{-3} М и 2 М HCl) в зависимости от времени выдерживания растения в растворе ртути. Для идентификации форм ртути в экстрактах синтезированы соединения ртути и метилртути с цистеином и глутатионатом, исследовано их хроматографическое разделение. Детально описана процедура оптимизации работы гибридной системы для определения форм ртути в on-line и off-line режимах. Подробно описано определение форм ртути в водном экстракте корня растения методом ВЭЖХ-АЭС-ИСП. Раздел 4.7 посвящен практическому применению разработанных подходов для определения форм ртути в водяном гиацинте в зоне рассеяния Урского месторождения.

Научная новизна и достоверность полученных результатов

Предложены подходы к определению форм нахождения элементов в растениях на примере соединений кадмия и ртути с использованием ступенчатой экстракции и метода ВЭЖХ-АЭС-ИСП.

Разработаны приемы сочетания ВЭЖХ и АЭС-ИСП для реализации гибридного метода ВЭЖХ-АЭС-ИСП определения кадмия вводом элюата непосредственно в распылительную камеру спектрометра и определения ртути методом холодного пара с использованием гидридной системы.

Определены оптимальные условия работы гидридной системы и проведено сопоставление результатов по определению кадмия и ртути в on-line и off-line режимах.

Достоверность полученных результатов не вызывает сомнений. Эксперимент выполнен на высоком уровне с использованием современных физико-химических методов исследования: ВЭЖХ, АЭС-ИСП, СЭМ-ЭДС. Содержание сульфгидрильных групп в полипептидах определено с использованием метода инверсионной вольтамперометрии. Объем проведенных исследований соответствует поставленным целям и достаточен

для обоснования выносимых на защиту положений. Примененные приборы, реактивы, методы исследования адекватны намеченной цели и задачам. Для оценки правильности результатов использованы традиционные способы: проведение исследований на модельных растворах, использование метода «введено-найдено». Полученные в работе результаты сопоставлены с другими известными данными, на которые в тексте диссертации имеются ссылки.

Обоснованность положений, выносимых на защиту, и выводов по работе

Положения, выносимые на защиту, не вызывают возражений, имеют научную новизну, теоретически обоснованы и экспериментально доказаны. Выводы по работе соответствуют содержанию диссертации, базируются на большом экспериментальном материале, не противоречат имеющимся литературным данным, на которые в тексте диссертации имеются соответствующие ссылки.

Практическая значимость работы

Предложены два варианта сочетания ВЭЖХ и АЭС-ИСП с непосредственным введением элюата в распылительную камеру АЭС-спектрометра и через гидридную систему.

Выработаны рекомендации по определению форм нахождения химических элементов в растениях.

Полученные результаты могут быть использованы при исследовании биоаккумуляции химических элементов различными растениями и их использования для фиторемидитации водоемов.

Разработанные подходы продемонстрированы при определении форм нахождения ртути в водяном гиацинте, выдержанном в природных водах на территории Урского месторождения (Кемеровская область).

Значение результатов диссертации для науки и производства

Полученные в диссертационной работе Романовой Т.Е. результаты имеют теоретическое и практическое значение для развития научных исследований по определению форм нахождения химических элементов в живых системах. Соискателем предложены подходы по ступенчатому экстракционному выделению и концентрированию различных форм химических элементов и их последующему определению гибридным методом ВЭЖХ-АЭС-ИСП. Предложенный подход по сочетанию ВЭЖХ и АЭС-ИСП непосредственным введением элюата в распылительную камеру спектрометра может использоваться для определения форм нахождения

широкого круга химических элементов, а сочетание ВЭЖХ и АЭС-ИСП через гидридную систему может использоваться для определения элементов, образующих гидриды, или элементов, образующих другие газообразные или легколетучие химические соединения.

Подходы к определению форм нахождения химических элементов в растениях с использованием off-line и on-line режимов могут быть успешно реализованы в лабораториях, занимающихся исследованиями биоаккумуляции химических элементов растениями и/или определением форм нахождения химических элементов в живых системах.

Важность работы и полученных результатов для науки в определенной степени подтверждается публикацией 5 статей в журналах, входящих в базу цитирования Web of Science.

По материалам диссертации опубликовано 5 статей, входящих в базу цитирования Web of Science. Результаты работы доложены на конференциях различного уровня и опубликованы в 20 тезисах докладов.

Содержание автореферата соответствует содержанию диссертационной работы. Оформление диссертации и автореферата соответствует установленным требованиям; работа логично изложена и аккуратно оформлена.

В работе приведен большой объем экспериментальных и теоретических данных, их обстоятельная интерпретация, однако по материалу диссертации следует сделать некоторые замечания:

1. Несмотря на то, что в литературном обзоре приведен раздел, посвященный понятию «химической формы элемента», в тексте диссертации отсутствует определение понятия «форма связывания», использованного в названии диссертации, или что под этим понимает сам автор. Существует достаточно корректное и широко используемое определение «форма нахождения химического элемента в живых системах», тем более, что в литературном обзоре автор приводит подобные термины, например «форм связывания (существования) химических элементов» (стр. 26) и «форм существования химических элементов в биологических объектах» (стр. 34).
2. Не приведено описание конструкции гидридной системы и ее размеры. В работе использовался стандартный гидридный генератор, поставляемый с прибором, или это устройство собственной конструкции.

3. Не аргументировано использование молибдат-иона для оптимизации условий ВЭЖХ-АЭС-ИСП определения в on-line режиме с последовательным УФ и АЭС-ИСП определением. Целесообразно было бы для оптимизации условий работы гибридной системы использовать соединения, входящие в состав исследуемых объектов, тем более, что на стр. 73 диссертации и рис. 17 и 18 приведены данные о последовательном определении соединений в экстрактах с использованием УФ и АЭС-ИСП спектрометрии.
4. В табл. 17 приведено обозначение образцов (корни 7к, корни 8к, корни, контроль, стебли 7s), не расшифрованное в тексте диссертации. Не объяснено, с чем связано значительное уменьшение концентрации цистеина в образцах «корни 7к, корни 8к» по сравнению с образцом «корни, контроль».
5. Несмотря на детальное исследование форм нахождения ртути в водных экстрактах корня водяного гиацинта (пик при 125 с, рис. 34), без ответа остался вопрос о природе соединения ртути при хроматографировании экстракта в присутствии цистеина со временем выхода 207 с, хотя автор обращает внимание на наличие данного пика на хроматограмме.
6. Для определения правильности полученных результатов, хотя бы валового содержания кадмия и ртути, необходимо было использовать стандартные образцы состава.

Сделанные замечания не являются принципиальными и не снижают общей положительной оценки диссертации. Поставленная цель достигнута, а задачи исследования – выполнены. В работе представлен большой объем экспериментальных данных, грамотная интерпретация которых подтверждает обоснованность выводов и свидетельствует о высоком научном уровне представленной к защите работы.

Диссертационная работа Романовой Т.Е. представляет завершённую научно-квалификационную работу на актуальную тему, содержащую большой экспериментальный и теоретический материал, проработки научной новизны и практической значимости. На основании выполненных автором исследований разработано аппаратное оформление и решены задачи определения форм нахождения кадмия и ртути в образцах водяного гиацинта, имеющие важное значения для развития аналитической химии в области определения форм нахождения химических элементов в живых системах.

По объёму, актуальности, уровню научных и практических результатов, представленная диссертационная работа «Применение метода

ВЭЖХ-ИСП-АЭС для идентификации форм связывания кадмия и ртути в растениях» соответствует критериям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор – Романова Тамара Евгеньевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 – аналитическая химия.

Доктор химических наук, профессор,
старший научный сотрудник
Научно-исследовательской части
ФГАОУ ВО «Сибирский федеральный
университет»
660041, г. Красноярск,
пр. Свободный, 79,
тел. +7(391)206-20-10



Лосев Владимир Николаевич

3.10.2016 г.



веряю
mas
16.10.16