

**Відгук офіційного опонента**  
**на дисертаційну роботу Ходикіної Марії Олегівни**  
**"Формування гетероструктур в системі**  
**неорганічний носій - нативний ферментний препарат класу**  
**оксидоредуктаз", представлену на здобуття наукового ступеня кандидата**  
**хімічних наук за спеціальністю 02.00.04 – фізична хімія**

Дослідження систем, здатних до гетеропереходів з переносом електрону, є задачею, вирішення якої має важливе значення для біо- і хемосенсоріки, а також створення матеріалів для збереження електрохімічної енергії. Визначення факторів, які впливають на ефективність таких систем (зокрема, величину струму в електрохімічних процесах та її зміну у присутності певних речовин), є актуальною задачею сучасної фізичної хімії. Серед таких перетворювачів енергії великі перспективи мають ферменти, іммобілізовані на носіях різної природи. Перевагами таких ферментвмісних систем є у першу чергу їх висока чутливість до зовнішнього впливу, можливість досягнення високої селективності при взаємодії з різними речовинами, що відкриває широкі перспективи створення нових чутливих і селективних сенсорів, особливо сенсорів на біомолекули. Також варто відмітити потенційну можливість створення середовищ для збереження електрохімічної енергії (активних матеріалів для суперконденсаторів) на основі подібних систем. Серед ферментних препаратів перспективним є дослідження ферментів рослинного походження, оскільки вони є доступними і дешевими у виробництві, а також можна досить просто одержувати великі кількості зразків ферментів з відтворюваними властивостями. Таким чином, дослідження систем на основі іммобілізованих ферментів може привести до встановлення фундаментальних залежностей, важливих для теоретичної фізичної хімії та має важливе практичне значення, оскільки в його результаті можуть бути одержані нові матеріали для електрохімічної енергетики, біо- та хемосенсоріки. З огляду на наведене вище вважаю, що робота М.О.Ходикіної є безумовно актуальною.



Актуальність роботи М.О.Ходикіної також підтверджується тим, що вона виконувалася в рамках відомчої тематики та планів науково-дослідних робіт Інституту загальної та неорганічної хімії ім. В.І. Вернадського НАН України "Розробка електрохімічних систем з малою перенапругою катодних та анодних процесів та високоекономічних електролізерів для одержання водню високої чистоти", № Держреєстрації 0110U001650 (2012-2014 р.) та "Синтез і фізико-хімічні властивості неорганічних електрокаталізаторних систем на основі карбиду вольфраму, модифікованого металами Ib (Cu, Ag), IVb (Ti, Zr, Hf) та Vb (V, Nb, Ta) підгруп, для альтернативної електрохімічної енергетики", № Держреєстрації 0110U001650 (2015 – 2017 р.).

Мета дисертаційної роботи М.О.Ходикіної полягала у встановленні закономірностей впливу природи неорганічного носія з різною структурою та фізико-хімічними властивостями на зв'язування нативних ферментних препаратів класу оксидоредуктаз (на прикладі витяжки з коренеплоду редьки чорної), а також у застосуванні одержаних гетероструктур як активних мас-електродів для енергоперетворюючих пристроїв та біосенсорів.

Дисертаційна робота М.О.Ходикіної є логічним завершеним науковим дослідженням. Вона складається з анотації, вступу, 5 розділів, висновків, списку використаних джерел (151 найменування). Загальний обсяг дисертації становить 136 сторінок машинописного тексту, вона містить 30 таблиць та 51 рисунок. Об'єм дисертації відповідає встановленим вимогам до таких робіт.

В анотації наведено короткий опис проведеної роботи та одержаних результатів.

У вступі обґрунтовано актуальність роботи, зазначено об'єкти і методи дослідження, сформульовано мету й задачі роботи, сформульовано новизну й практичне значення отриманих результатів.

У першому розділі представлено аналіз даних літератури; на основі проведеного аналізу сформульовано мету та задачі дослідження.

У другому розділі наведено перелік використаних реактивів, описано методики експериментів (виділення суміші ферментного препарату з рослинної сировини, методи іммобілізації ферментного препарату на



неорганічних носіях, методики спектральних, фізико-хімічних та електрохімічних досліджень). В цьому розділі також описане використане обладнання та наведено розрахунки за результатами проведених досліджень.

У третьому розділі описано результати дослідження складу нативного ферментного препарату (НФП), його редокс-активності, наведено результати спектральних досліджень НФП, оцінки характеристики кислотності отриманих гетероструктур. Проаналізовано вплив природи носія на зміну властивостей ферментного препарату після іммобілізації. Встановлено наявність в НФП чотирьох іонів металів ( $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ), досліджено зв'язування з носієм речовин зі складу НФП, які містять ці іони металів. На основі аналізу кислотно-основних властивостей носіїв показано, що селективність зв'язування оксидоредуктаз різної будови залежить від концентрації гідроксильних груп на поверхні носія, а саме, з підвищенням кількості протонів на поверхні такого носія селективність зв'язування ферментів погіршується. В результаті аналізу ІЧ-спектрів гетероструктур зроблено висновки про відмінності механізму зв'язування ферментів з різними носіями.

Проаналізовано електронні спектри поглинання НФП, знайдено смуги поглинання, які відповідають  $d-d$  переходам іонів  $\text{Fe}^{3+}$  та  $\text{Cu}^{2+}$ . В результаті аналізу таких спектрів автором зроблено висновки про природу металвмісних хромофорів в ферментах, а також висловлено припущення про будову таких ферментів.

У четвертому розділі наведено дані про розмір та розподіл частинок у досліджених гетероструктурах, а також про їх електрохімічні властивості. Дані проаналізовано виходячи з уявлення про наявність різних каталітичних і адсорбційних центрів білкової молекули. На основі аналізу даних скануючої електронної мікроскопії показано відмінності у зв'язуванні ферментів з носіями різної природи.

Методом спектроскопії електрохімічного імпедансу (SEI) показано, що протонна провідність носія прискорює перетворення протондонорного субстрату, а електронна провідність грає роль у перетворенні електрондонорного субстрату. Сформульовано фактори, що дозволяють



регулювати пероксидазну та оксидазну активність іммобілізованого ферменту. Проведено математичний аналіз спектрів СЕІ ферментвмісних систем на підставі припущення про участь вільних протонів у формуванні основних носіїв заряду і показано умови прояву електронної провідності іммобілізованого ферменту. Отримані результати дозволяють врахувати взаємодії між ферментом та носієм, а також оцінити стабільність електрохімічної поведінки гетероструктури в цілому в часі.

Автором зроблено припущення про зв'язок опору індуктивності в еквівалентній схемі та присутності іонів металів, які мають власний магнітний момент. Знайдено утворення двофазної системи у випадку використання аеросилу та каоліну, в якій має місце процес переносу заряду між фазами. Показано можливість використання ферментвмісних гетероструктур як активних елементів суперконденсаторів або біосенсорів; на думку автора, у першому випадку необхідна участь гетероструктури в редокс-реакції, а у другому потрібен лише фізичний перенос заряду.

У п'ятому розділі описано результати дослідження електрохімічних властивостей гетероструктур з іммобілізованим ферментними препаратами, розглянуто використання таких гетероструктур для конструювання суперконденсаторів. На базі отриманих результатів створено систему, що моделює електрод суперконденсатора.

Методом циклічної вольтамперометрії показано значне зростання струмів в присутності матеріалів по відношенню до електрода з графена, що пояснюється активністю контакту гетероструктура-графен. Встановлено, що максимальною ємністю відносно графенового носія характеризується гетероструктура аеросил-300 – фермент. Система на основі аеросилу-300 відрізняється здатністю заряджатися, і в певних умовах її ємність в 1,5 рази перевищує ємність системи на основі каоліну. Показано, система на основі аеросилу описується у припущенні про відсутність електродної реакції на міжфазній межі. Відмінності у поведінці різних гетероструктур пояснюються різницею у зв'язуванні фрагментів ферментного препарату.

Одержані структури протестовані як матеріали для біосенсорів на глюкозу. Найбільш стабільні дані отримані у випадку гетероструктури на основі бентоніту та його кислої форми; сконструйовано біосенсор та показано, що підвищення концентрації глюкози призводить до відгуку струму. Встановлено, що час відгуку біосенсора становить 1 с, а час релаксації 5 с, що свідчить про його високу чутливість. На мою думку, цей результат є досить вагомим досягненням автора роботи.

Дослідження проведене на сучасному світовому рівні із застосуванням ряду методів аналізу та дослідження, таких, як пряма потенціометрія та потенціометричне титрування, циклічна вольтамперометрія, спектроскопія електрохімічного імпедансу, фотоколориметрія, інфрачервона та електронна спектроскопія, атомно-абсорбційна спектрофотометрія, скануюча електронна мікроскопія.

В результаті виконання дисертаційної роботи М.О.Ходикіною на основі систематичного дослідження гетероструктур типу неорганічний носій - нативний ферментний препарат класу оксидоредуктаз (на прикладі витяжки коренеплоду редьки чорної) показано вплив природи неорганічного носія на фізико-хімічні властивості отриманих систем з іммобілізованими ферментами, зокрема, з'ясовано вплив кислотно-основних властивостей поверхні носія на зміну активності ферментного препарату. Знайдено, що в результаті іммобілізації на бентоніті окислювальна активність препарату збільшується в 7 разів. Вперше показано, що редокс-активністю іммобілізованого нативного ферменту можна керувати шляхом вибору носіїв з різними типами електропровідності, запропоновано метод кількісної оцінки впливу матеріалу носія на редокс-активність гетероструктури та її стабільність у часі. Запропоновано і науково обгрунтовано модель, що описує здатність гетероструктур накопичувати електрохімічну енергію, така модель базується на уявленні про стабілізацію певних конформацій ферментів в гетероструктурах. Показано можливість застосування досліджених матеріалів як активних матеріалів для створення суперконденсаторів та біосенсору для визначення глюкози..



Робота М.О.Ходикіної в цілому справляє добре враження, але після ознайомлення з текстом виникає ряд запитань та зауважень, які наведено нижче.

1. Четверта задача дослідження (стор. 22 та 47 дисертації) формулюється як "Виявити взаємозв'язок особливостей зв'язування з електрохімічною активністю гетероструктур в системі неорганічний носій - нативний ферментний препарат". На мою думку, це формулювання є некоректним, оскільки термін "взаємозв'язок" передбачає вплив *кожної* складової на іншу, але електрохімічна активність гетероструктур не впливає на особливості зв'язування компонентів.

2. В огляді літератури, на мою думку, було б доцільно вказати безпосередньо в підписах до рисунків та таблиць джерела, з яких взято дані для рис. 1.1 - 1.6 та таблиці 1.1 (так, як це зроблено в підписі до таблиці 1.3).

3. В розділі 3.1 на основі порівняння вмісту металів (Fe, Cu, Ni, Zn) в нативному ферментному препараті (НФП) та в системах з іммобілізованими ферментами автор робить висновок про зв'язування з носієм певних ферментів - складових НФП. Які є докази того, з носієм зв'язуються саме ферменти, а не продукти їх розкладу - такі, як сольватовані іони  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  без протеїнової "компоненти"?

4. В розділі 4.3 автор порівнює електрохімічні властивості іммобілізованих ферментів та нативного ферментного препарату. Виникає питання, чи можуть такі зміни бути обумовлені різним вмістом солей-електролітів (наприклад, NaCl) що ймовірно присутні в нативному ферментному препараті, але їх вміст може бути суттєво менший в досліджуваних системах з іммобілізованими ферментами.

5. Автор робить припущення про те, що "існування опору індуктивності в схемі може бути пов'язане з наявністю редокс-пари з участю йонів металів та протона, які володіють власним магнітним моментом". Чи підтверджується таке припущення експериментальними даними (можливо, даними з літератури) щодо впливу магнітного моменту іона на особливості електропровідності розчинів?

6. В роботі є ряд невдалих виразів та невелика кількість граматичних і орфографічних помилок. Так, першій абзац анотації роботи написано, а мою думку, дуже невдало. У першому ж реченні автор стверджує, що "На даний час більшість досліджень присвячено створенню нанокompозитних систем і гетероструктур для перетворення енергії і біокаталізаторів, складовими компонентами яких є електропровідні вуглецеві матеріали (графен, нанотрубки)." Ймовірно, під "більшістю досліджень" автор має на увазі дослідження в певній галузі хімії і хімічного матеріалознавства, а не в хімії взагалі, але при ознайомленні з наведеним вище реченням складається враження, що мова йде про наукові знання взагалі. Наступні дві фрази також відносяться до досить вузької сфери хімії та матеріалознавства, але вони написані так, що складається враження про загальне судження. Автор використовує термін "Літературний огляд" - на мою думку, коректніше було б писати "огляд літератури". На стор. 48 автор пише, що "Одним з найбільш детально вивчених ферментів, виділених з рослин є корінь хрону." На мою думку, це твердження помилкове, оскільки корінь хрону не є ферментом. Термін "структурний склад" у підписі до Табл. 2.1. (стор. 51) невдалий. На стор. 68, у рядку 13 має бути "іони", а не "іонів".

Зазначені зауваження не відіграють принципового значення при загальній позитивній оцінці роботи, не стосуються новизни роботи і її висновків.

Основний зміст роботи опубліковано у 6 статтях та тезах 11 доповідей. Публікації відповідають змісту роботи. Зміст автореферату адекватно відповідає змісту дисертації.

Дисертаційна робота М.О.Ходикіної "Формування гетероструктур в системі неорганічний носій - нативний ферментний препарат класу оксидоредуктаз" є завершеною науковою працею, в якій отримано нові науково обґрунтовані результати, що, на мою думку, в сукупності вирішують важливу наукову задачу визначення впливу будови носія на електрохімічні властивості гетероструктур з іммобілізованими ферментами. Робота, на мою думку, має важливе практичне значення, оскільки автором створено системи, які перспективні для використання як матеріали для суперконденсаторів, а також



створено матеріали – перспективні активні елементи амперометричних біосенсорів на глюкозу. Висновки роботи основані на великому масиві експериментальних даних і повністю обґрунтовані. Дисертаційна робота оформлена належним чином.

Вважаю, що дисертаційна робота за актуальністю обраної теми, науковою новизною, обсягом експериментального матеріалу, глибиною його аналізу, обґрунтованістю висновків, якістю оформлення відповідає вимогам п. 9, 11 – 13 "Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника", затвердженого постановою Кабінету Міністрів України 24 липня 2013 р. за № 567, а здобувач – Ходикіна Марія Олегівна – заслуговує присудження наукового ступеня кандидата хімічних наук за спеціальністю 02.00.04 – фізична хімія.

Офіційний опонент

Завідувач відділу пористих речовин і матеріалів

Інституту фізичної хімії

ім. Л. В. Писаржевського НАН України

доктор хімічних наук

С.В. Колотілов

23 червня 2017 року

Підпис д.х.н. Колотілова С.В. засвідчую.

Вчений секретар Інституту фізичної хімії

ім. Л. В. Писаржевського НАН України

кандидат хімічних наук



Л. Ю. Долгіх

*Відгук надійшов у спец. вому ряду Д26.218.01  
23.06.2017 р.*

*Вчений секретар:*

*(Л. Ю. Долгіх)*