

## О Т З Ы В

на диссертацию **Матвеевой Ольги Валентиновны** "Магнитоотделяемый катализатор окисления 2,3,6-триметилфенола на основе иммобилизованной пероксидазы", представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.15 – кинетика и катализ

Процессы окисления органических соединений, в частности с использованием ферментов, на протяжении многих лет привлекают пристальное внимание исследователей, особенно этот интерес резко возрос в последнее время, свидетельством чему служат многочисленные публикации в различных биологических и медицинских изданиях. Если же учесть бурно развивающуюся область получения биологически активных веществ, то актуальность рассматриваемой работы приобретает особую значимость.

Исследования, направленные на поиск наиболее эффективных каталитических систем для селективного окисления замещенных фенолов, исключая использование агрессивных окислителей и, как следствие, вероятность образования или существенное снижение количества побочных веществ и повышение выхода целевого продукта, несомненно имеют как теоретический, так и практический интерес.

Весьма перспективным направлением, в данном частном случае, для селективного окисления 2,3,6-триметилфенола, является разработка высокоэффективных магнитоотделяемых биокаталитических систем, что и предопределяет актуальность исследований, проведенных автором рассматриваемой работы.

Диссертационная работа Матвеевой Ольги Валентиновны посвящена разработке магнитоотделяемого катализатора на основе иммобилизованной пероксидазы для проведения реакции селективного окисления 2,3,6-триметилфенола в присутствии пероксида водорода. Автором сформулирована цель работы и четко очерчен круг задач, решение которых обеспечивает ее достижение. Для их успешного решения О.В. Матвеевой использован комплекс современных экспериментальных методов и методик: синтетические методы, включающие *теоретическое исследование методов синтеза* 2,3,5-триметилгидрохинона, как пишет автор, (хотя, следует отметить, что словосочетание "*теоретическое исследование методов синтеза*" весьма неудачно, так как синтез скорее экспериментальная работа, чем теоретическая), синтез магнитных наночастиц, кинетический метод исследования, ВЭЖХ, просвечивающая электронная микроскопия, ИК-Фурье спектроскопия, рентгенофотоэлектронная спектроскопия, определение удельной поверхности и пористости синтезированных катализаторов методом низкотемпературной адсорбции азота и хемсорбции водорода.

Личный вклад автора состоит в непосредственном получении, систематизации, обработке, интерпретации экспериментальных данных, апробации результатов на конференциях различного уровня и подготовке публикаций

по выполненной работе. Совокупность примененных методов и методик позволяет сделать обоснованный вывод о надежности полученных экспериментальных данных и профессиональной подготовке соискателя. Кроме того, первая публикация автора относится к 2010 г., что позволяет говорить о том, что автор работал по данной тематике достаточно продолжительное время, достаточное как для наработки экспериментального материала, так и осмысления, и анализа полученных результатов.

Проведение автором корректной обработки результатов эксперимента, а также характер обсуждения полученных результатов определяет соответствие темы диссертации специальности 02.00.15 – кинетика и катализ, в отношении пунктов 3, 5 паспорта специальности и статусу «химические науки».

Остановимся на более детальном анализе содержания работы.

Построение работы весьма традиционно. Диссертация состоит из Введения, трех глав, выводов и списка использованной литературы, содержащего 120 наименований отечественных и зарубежных источников. Диссертация изложена на 130 страницах машинописного текста, включает 8 таблиц и 59 рисунков, т.е. по объему соответствует требованиям ВАК, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук.

*Введение* (4 стр.) посвящено формулировке положений, совокупность которых определяет актуальность исследований, направленных на решение проблемы создания эффективного и селективного магнитоотделяемого катализатора для проведения процесса окисления 2,3,6-триметилфенола с целью получения 2,3,5-триметилгидрохинона – промежуточного продукта синтеза витамина Е. Сформулирована цель работы, приведен перечень задач, решение которых обеспечивает ее достижение.

Введение раскрывает научную новизну и практическую значимость работы. Во Введении обрисован круг проблемных задач, что дает представление об общем содержании работы. Это позволяет признать построение раздела Введения весьма удачным.

*Глава 1* (35 стр.), «Обзор литературы», посвящена изучению существующих способов получения 2,3,5-триметилгидрохинона. В данной главе рассмотрены подходы к окислению 2,3,6-триметилфенола в присутствии различных катализаторов. Описано строение и механизм действия пероксидазы корня хрена, а также физические и химические способы ее иммобилизации на различные носители. Весьма удачно приведение различных схем, например, рис. 1.13, 1.14 и пр.

Данный раздел написан достаточно подробно.

Особое внимание уделено подходам синтеза магнитных наночастиц и иммобилизации на них ферментов.

В качестве замечаний следует отметить, несколько завышенный объем раздела. За исключением списка литературы объем главы "*Обзор литературы*" составляет около 50 %. Можно также отметить, что в заключении главы явно не хватает выводов, иллюстрирующих отношение автора работы к рас-

смаатриваемым способам получения каталитических систем для селективного окисления замещенных бензолов.

Глава 2 (19 стр.) – «*Методы и методики экспериментов и анализов*», приведены методики синтеза магнитных наночастиц и иммобилизации на них пероксидазы, изложены методики иммобилизации пероксидазы на неорганические носители  $\text{SiO}_2$  и  $\text{Al}_2\text{O}_3$ . В последующих разделах описана установка, которая применялась для процесса окисления 2,3,6 - триметилфенола и методика проведения анализа полученной реакционной смеси методом высокоэффективной жидкостной хроматографии; представлены методики физико-химических исследований каталитических систем; даны характеристики использованных химических реагентов.

Материал данной главы позволяет составить полное впечатление о возможностях использованных инструментальных методов, надежности и достоверности результатов проведенного исследования и свидетельствует о высоком уровне экспериментальной подготовки соискателя.

В качестве основного замечания по данной главе хотелось бы отметить то, что достаточно часто излагаются полученные экспериментальные факты, в меньшей степени проводится их сопоставление или анализ. Аналитическая работа автора могла бы быть более глубокой.

Некоторые положения при выполнении экспериментальной части работы принимаются без обоснования или дополнительного пояснения. Например, в качестве контрольной точки для проведения сравнительного анализа активности синтезированных автором каталитических систем, продолжительность реакции выбрана равная 5 часам. Из текста работы не ясно, почему именно такой интервал времени выбран для проведения сравнительных оценок.

Глава 3 (49 стр.), «*Результаты экспериментов и их обсуждение*», посвящена анализу и трактовке полученных результатов физико-химических исследований и кинетических экспериментов.

Автором выполнен большой объем экспериментальной работы: рассмотрено влияние таких факторов как температуры, концентрации 2,3,6-триметиофенола, рН среды, времени окисления на скорость изучаемой реакции и выход 2,3,5-триметилгидрохинона, а также оценена стабильность работы синтезированных биокатализаторов, что подтверждается сохранением профилей спектров высокого разрешения, энергий связи подуровней и состава поверхности после проведения каталитического цикла. Смывание белка с поверхности магнитных наночастиц незначительно.

О.В. Матвеевой рассмотрено влияние алифатических спиртов – этанола, *n*-пропанола и *n*-бутанола на каталитическую активность пероксидазы.

В целом полученные результаты проанализированы и обобщены в достаточной степени.

Автореферат и 24 публикации по теме исследования, в том числе 7 статьи в изданиях центральной печати, рекомендованных ВАК, в достаточной степени отражают содержание диссертации.

При чтении работы возникает ряд замечаний и вопросов.

**Замечания:**

1. В названии публикаций автора – статьи, тезисы – используются термины "Способ получения .....", "Применение ....", "Преимущества....", это касается либо получения органического соединения, либо синтеза или применения катализатора. Кроме того, в выводе 6 работы отмечается, что биокисление 2, 3, 6-триметилфенола осуществлено впервые. В тексте автореферата (с.6) прослеживается явно "*заявочное высказывание*" – "...получение триметилгидрохинона методом ферментативного окисления можно рассматривать как экологически чистую альтернативу существующим способам синтеза полупродукта витамина Е с высоким выходом целевого продукта". В связи с этим возникает вопрос: "Возможно ли в перспективе дальнейшего развития работы оформление патента на способ получения 2, 3, 5 – метилгидрохинона?" Тем более, что в обзоре литературы при анализе ряда патентов отмечается, возможность использования металлофталоцианинов железа, марганца и кобальта, нанесенных на поверхности мезопористого и аморфного кремнеземов в присутствии пероксида водорода в процессе окисления триметилфенола с выходом 80 %. Не исключено, что данные патенты можно было бы рассматривать как прототипы.
2. Не указано, принимал ли автор личное участие в проведении исследований анализа образцов биокатализаторов методом просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) (Химический факультет университета Индианы (США) и в измерения намагниченности образцов синтезированных катализаторов (Технический университет Дармштадта, Германия)?
3. Интересно было бы рассмотреть возможность применения предложенной каталитической системы для окисления других алкилзамещенных фенолов. Это позволило бы расширить представления о свойствах и возможностях высокоэффективных магнитоотделяемых биокаталитических систем для окисления органических соединений в присутствии пероксида водорода в качестве окислителя, и имеющих практическую значимость для получения полупродуктов синтеза витаминов. Пожелание может рассматриваться как перспектива развития работ в направлении общей научной тематики "Разработка высокоэффективных многокомпонентных нано- и биокатализаторов на основе иммобилизованных ферментов и наночастиц металлов".
4. Подпись под рис.2.6 диссертации (с.57) – "Уравнение реакции процесса окисления ТМФ" – весьма неудачна – конечно это схема, а не уравнение!
5. Известно, что в кинетике химических реакций для объяснения влияния различных факторов на скорость реакции используется теория абсолютных скоростей химических реакций или теория активированного комплекса, а никак не "*теории активных комплексов*", с.60 и далее по тексту.

6. Неудачна подпись под рисунками 3.16-3.21 – "Зависимости выхода 2,3,5-триметилгидрохинона...". Фактически указано количество ТМГХ. Хотя оценка выхода возможна с учетом начального количества взятого 2,3,6-триметилфенола, которое указано в подписи под рисунком.
7. Недостаточно уделено внимания обсуждению изотерм адсорбции-десорбции азота на используемых катализаторах. Различная форма "петли гистерезиса" полученных изотерм может свидетельствовать о различном типе пор, смачиваемости их поверхности и вероятности процесса капиллярной конденсации. Последнее может вызывать "закупорку" пор, снижение величины активной поверхности и падение скорости реакции. Данные вопросы можно было обсудить более подробно.
8. К сожалению в тексте работы ничего не сказано о погрешностях нахождения, например, таких величин как выход продукта (ри.3.16, 3.17 и др), скорость реакции (рис.3.28), концентрации (рис.3.30). Отсутствует информация о воспроизводимости экспериментальных результатов. Получение активных катализаторов предполагает несколько подготовительных стадий, поэтому чрезвычайно важно, чтобы методика их получения была воспроизводимой. В работе об этом также ничего не говорится.

**Вопросы:**

1. В тексте работы (с.69) отмечается, что "...при использовании этиленгликоля в качестве растворителя, наночастицы оксида железа имеют достаточно времени, чтобы повернуться и связаться с соседними наночастицами под надлежащим углом, что приводит к более правильной их расстановке". О каком времени и каком "надлежащем" угле идет речь?
2. Не ясно какие конкретно кинетические данные имеет в виду автор, делая следующее заключение на с.82: "...фермент был ковалентно иммобилизован на поверхность  $Al_2O_3$ , однако в меньшем количестве по сравнению с носителем на основе  $SiO_2$ , что подтверждается данными по кинетическим расчетам"?
3. С самым эффективным биокатализатором  $Fe_3O_4$ /АПТС/HRP автором были проведены эксперименты по увеличению времени реакции (рис.3.31, с.109). Неясно, какой параметр в этом случае был определяющим – изменение селективности или глубины протекания реакции в зависимости от времени ее проведения? Согласно данным рис.3.31, выход 2,3,5-триметилгидрохинона составляет 72 % для нативной HRP, предел же для HRP, иммобилизованной на магнитные наночастицы  $Fe_3O_4$ , представляется не четким. В тексте не указана степень конверсии исходного соединения. Были ли зафиксированы какие-либо побочные или промежуточные соединения в ходе реакции.
4. На с.13 автореферата указано, что активность катализаторов на основе алюминия и кремния по сравнению с железом связана с меньшим числом активных центров, а на с.14 – с меньшим количеством пришитого фер-

мента и изменением его конформации, вследствие иммобилизации. Какой же причине в первую очередь следует отдать предпочтение?

5. С чем связано наличие индукционного периода, при увеличении числа активных центров, при проведении реакции окисления 2,3,5-триметилфенола на иммобилизованных образцах катализатора – рис... диссертации (рис.3.27, стр.103)?
6. На чем построена гипотеза о механизме окисления триметилфенола (рис.3.36, с.114) – что взято из литературы, а что предлагается автором?
7. За единицу активности биокатализатора принимали количество биокатализатора, которое катализирует 1 мг ТМГХ из ТМФ в течение 20 секунд при 40 °С. Чем обоснован выбор именно таких условий?

Рукопись диссертации написана хорошим литературным языком, аккуратно оформлена, содержит очень небольшое число ошибок (см.стр.41, 69, 77, 87, 88, 89, 98, 111, 112), в основном, это пропуски букв и запятые, встречаются также и неудачные выражения (см. стр.39, 42, 44, 55, 60, 69, 79, 86).

Сделанные выше замечания носят рекомендательный характер и не снижают общее положительное впечатление о работе.

Список цитируемых источников информации содержит менее 30 % ссылок на оригинальные работы, вышедшие до 2000 г. Данный факт косвенно подтверждает высокий интерес к проблематике, которой посвящена рассматриваемая диссертация.

Однако, следует признать, что оформление ряда ссылок не соответствует рекомендуемым требованиям – ссылки 22, 37, 44, 53, 56-59, 63, 82, 100, 101, 109, 110, 113, 116. В основном это касается знаков препинания или отсутствие указания страниц.

При оформлении шестой и десятой ссылок (патенты) не указаны авторы заявок, при оформлении ссылок на диссертационные работы не указаны специальности, по которым они защищены и число страниц – ссылки 3 и 4. В определенной степени это относится и к оформлению автореферата – в ссылках на публикации 9, 12, 15, 17, 19, 21 и 23 страницы также не проставлены.

Сделанные замечания носят рекомендательный характер и не снижают общего положительного впечатления о работе. Работа представляет собой законченный этап научного исследования, касающегося создания высоко эффективных каталитических систем для процессов окисления замещенных фенолов. Рецензируемая научно-квалификационная работа содержит решение задачи синтеза эффективного магнитоотделяемого катализатора для проведения реакции окисления 2,3,6-триметилфенола, имеющей значение для развития теории и практики ферментативных реакций и решения проблемы получения промежуточного продукта синтеза витамина Е.

Считаю, что диссертация "Магнитоотделяемый катализатор окисления 2,3,6-триметилфенола на основе иммобилизованной пероксидазы", отвечает требованиям п.9 Положения ВАК о порядке присуждения ученых степеней, так как развивает научные основы создания активных и селективных систем

