

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу Дудченка Олександра Євгеновича «Розробка і оптимізація кондуктометричного мультибіосенсора для визначення низки вуглеводів у харчових продуктах», що представлена на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю
03.00.20 – біотехнологія

Важливим питанням сучасності є визначення якості харчових продуктів, фармацевтичних препаратів, вмісту в них вуглеводів. Традиційні методи аналізу цих сполук у вказаній продукції є вартісними і часто відрізняються недостатньою точністю. Зважаючи на це, перспективним напрямком у вирішенні таких завдань є створення і застосування біосенсорів. Прилади на їх основі містять біоселективну мембрану і фізичний перетворювач електричного сигналу. Їх можна мініатюризувати. Такі прилади дозволяють проводити безперервний контроль біохімічних і біотехнологічних процесів.

Актуальною проблемою харчових і фармакологічних виробництв є одночасне визначення декількох речовин в технологічних рідинах. Вирішення цього питання дозволило б оптимізувати технологічні процеси, підвищило б надійність контролю таких виробництв.

Зважаючи на викладене, дисертаційна робота О. Є. Дудченка, метою якої є розробка кондуктометричної ензимної мультибіосенсорної системи для одночасного вимірювання глюкози, сахарози, мальтози та лактози, а також біосенсора для визначення фруктози, та оптимізація їх аналітичних характеристик для проведення аналізів у продуктах харчування, є актуальною.

Актуальність дисертаційної роботи підтверджується її зв'язком з тематичними планами кафедри молекулярної біотехнології та біоінформатики Інституту високих технологій Київського національного

Інститут біохімії ім. О.В.Палладіна
Національної академії наук України
11 жовт. 2016р
Вх. № 55/03-07/16

університету імені Тараса Шевченка та лабораторії біомолекулярної електроніки Інституту молекулярної біології і генетики НАН України.

Для досягнення поставленої мети О.Є. Дудченко застосував значний арсенал сучасних, біохімічних, біофізичних, хімічних, фізичних, фізико-хімічних та статистичних методів дослідження.

Структура та обсяг дисертації

Дисертаційна робота викладена на 125 сторінках. Вона побудована за класичною схемою і включає вступ, розділ літературного огляду, розділ матеріали та методи, 3 розділи, в яких викладені результати власних досліджень, розділ, що присвячений аналізу та узагальненню результатів досліджень, висновки, список цитованої літератури. Крім того, в дисертаційній роботі є 5 додатків, що засвідчують затвердження державними органами розроблених дисертантом методичних підходів до визначення вуглеводів. Список цитованої літератури містить 121 посилання, з яких понад 100- іноземними мовами.

В літературному огляді дисертантом наводиться ґрунтовний аналіз стану аналізу вуглеводів в деяких галузях виробництва, звертається увага на необхідності нових підходів до іммобілізації біоселективних мембран. Дисертантом обґрунтовуються переваги застосування кондуктометричних біосенсорів у порівнянні з їх амперометричними аналогами. Акцентується увага на проблемах, що потребують дослідження.

Наукова новизна досліджень, їх значення для науки і практики

Наукова новизна результатів дисертаційної роботи О.Є. Дудченка полягає в наступному. Дисертантом розроблено методику тестування кондуктометричних перетворювачів, визначені оптимальні режими для їх створення і роботи. Показано, що серед 4 металів найбільш чутливим був кондуктометричний перетворювач на основі платини, а найменш чутливим- на основі нікелю. За даними автора чутливість пари електродів цього

пристрою була найвищою в низькопровідних розчинах і знижувалась за підвищення концентрації хлориду калію. Встановлено, що кондуктометричний відгук (провідність) зростає за підвищення частоти струму. Тому для досягнення найбільшої чутливості автор пропонує проводити визначення вуглеводів на високих частотах -100 кГц.

Дисертантом визначені оптимальні умови для визначення фруктози. Встановлено, що максимальні результати досягались за внесення в 7,5 мМ цитратро-фосфатний буфер, що має рН 5,0, 2 мМ фериціаніду. За таких умов біосенсор характеризувався стабільністю роботи, а відносне стандартне відхилення його показників становило 1,76%. Показано, що цей біосенсор чутливий лише до фруктози і не реагував на додавання інших вуглеводів.

Шляхом інтеграції одиничних кондуктометричних біосенсорів О.С. Дудченком створено мультибіосенсор для аналізу сахарози, мальтози, лактози і глюкози. Визначено, що для аналізу суміші вуглеводів мультибіосенсором оптимальні значення рН становлять 6,0-6,5. Його застосування дозволяє визначати ці вуглеводи за їх вмісту в середовищі до 2-3 мМ.

Для покращення адгезії ферментів до поверхні кондуктометричного перетворювача, виготовленого з нержавіючої сталі, дисертантом запропоновано наносити на її поверхню моношар силікаліту. Такий підхід, в комбінації з класичним методом поперечного зшивання за допомогою глутарового альдегіду, підвищує якість процесу іммобілізації ферментів та сприяє покращенню аналітичних характеристик біосенсора.

Показано, що найбільша стабільність біосенсорів досягається за їх зберігання в сухому стані при температурі +4°C. За таких умов біосенсор може застосовуватись протягом декількох місяців. Створений дисертантом мультибіосенсор є мобільним, відносно низьковартісним, що підтверджує

перспективність його подальшого застосування для контролю рівня глюкози та сахарози в різних рідинах.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків та рекомендацій, сформульованих в дисертації

Аналіз дисертаційної роботи О.Є. Дудченка свідчить про те, що в процесі її виконання автором розроблено методику тестування кондуктометричних перетворювачів для створення біосенсорів, розроблено кондуктометричний мультибіосенсор для визначення деяких вуглеводів, оптимізовано параметри цього процесу, Дисертація О.Є.Дудченка є завершеною науковою роботою, що має не тільки фундаментальне значення, а є перспективною для впровадження в технологічні процеси та в медичну практику.

Результати дисертаційної роботи добре висвітлені у 8 наукових статтях, з них 3 – в іноземних виданнях. Крім того, матеріали дисертації були представлені на 8 конференціях. Розробка кондуктометричної системи для визначення фруктози в розчинах захищена патентом України. Висновки дисертаційної роботи є аргументованими і логічно витікають з отриманих автором результатів. Автореферат дисертації відповідає її змісту. Все це свідчить про те, що робота заслуговує схвалення і підтримки.

До дисертанта є ряд питань та деякі зауваження.

1. Оскільки створенню і застосуванню біосенсорів в останні роки приділяється значна увага науковців, виникає питання чому список літератури містить лише 121 посилання. В ньому недостатньо уваги приділено аналізу результатів дослідження російським вчених. На стор.1-й літературного огляду лише одне посилання, хоча аналізується важлива частина літератури.
2. Чому для створення біосенсора в якості сорбента вибрали силікаліт, а не нанорозмірний діоксид кремнію, що виготовляється в Україні в хімічно

чистій формі і добре сорбує білок. Цей наноматеріал розроблений Інститутом хімії поверхні ім. О.О.Чуйка НАН України.

3. Дисертант в тексті роботи вказує, що лінійний діапазон роботи розробленого біосенсора становить від 0,05 до 1.75 мМ фруктози. Однак на рис. 4.3; 4.5 мінімальний показник, що визначався - 0,25 мМ. На чому базується показник 0,05 мМ?

4. В підпису до рис. 2.7, на стор.58, 59, 60 та інших наводиться слово «поміх». Що це таке. Ймовірно автор мав на увазі «похибок» чи «перешкод»?

5. На стор. 45 вказано: «Потім за допомогою пальця на активні зони електродів... наносили порошок силікаліту...». Було б доцільніше це робити хімічно чисто за допомогою скляної палички чи інших пристроїв.

6. На рис. 5.6, що демонструє стабільність відгуків біосенсора від часу зберігання, абсциса позначена «Час, дні». Краще було б «Термін зберігання, дні».

7. Є деякі граматичні помилки, на які вказано дисертанту по тексту роботи.

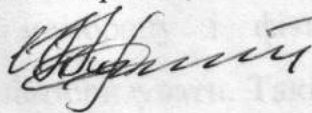
Слід відзначити, що вказані недоліки не знижують наукової значимості дисертації О.Є. Дудченка, яка є завершеною науковою роботою, що має фундаментальне значення та є перспективною для застосування в ряді технологій.

Висновок по дисертації. Дисертаційна робота «Розробка і оптимізація кондуктометричного мультибіосенсора для визначення низки вуглеводів у харчових продуктах», що представлена на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.20- біотехнологія, є завершеним науковим дослідженням, в якому на основі сучасних методичних підходів розроблено методику тестування кондуктометричних перетворювачів для створення біосенсорів, створено кондуктометричний мультибіосенсор для визначення деяких вуглеводів, оптимізовано параметри цього процесу. Робота виконана на високому науково-методичному рівні. За

актуальністю, новизною, науково-практичною значимістю результатів дисертаційна робота відповідає вимогам «Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 24.07. 2013 р.


№ 567, а її автор, Дудченко Олександр Євгенович, заслуговує присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.20-біотехнологія.

Офіційний опонент, завідувач відділу мікробіологічних процесів на твердих поверхнях Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К.Заболотного НАН України,

доктор біологічних наук, професор  І.К.Курдиш

10 жовтня 2016 р.



 І.В.МАКАРЕЧЬ
ІСПЕКТОР

10 жовтня 2016 р.
55/03-00/16