

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА

Д 501.001.49 по химическим наукам при ФГБОУ ВО

«Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»
по диссертации Иванова Романа Александровича на соискание ученой степени
кандидата химических наук.

Аттестационное дело № _____

Решение диссертационного совета от 19.03.2015г. № 13

О присуждении Иванову Роману Александровичу, Российская Федерация,
ученой степени кандидата химических наук.

Диссертация «Коллоидно-химические свойства смесей лизоцим-ПАВ в системе
водный раствор/октан»

по специальности 02.00.11 – коллоидная химия

принята к защите 29 декабря 2014 г., протокол № 3, диссертационным советом
Д 501.001.49, созданным на базе ФГБОУ ВПО «Московский государственный
университет имени М.В. Ломоносова».

Соискатель Иванов Роман Александрович 1989 года рождения. В 2011 году
соискатель закончил химический факультет ФГБОУ ВПО «Московский
государственный университет имени М.В. Ломоносова», аспирант кафедры
коллоидной химии химического факультета. Временно не работает. Программы
подготовки научно-педагогических кадров в аспирантуре Ивановым Р.А. были
освоены в ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.
Ломоносова» (химический факультет).

Диссертация выполнена в лаборатории коллоидной химии кафедры коллоидной
химии химического факультета федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования «Московский
государственный университет имени М.В. Ломоносова» в соответствии с планом
научно-исследовательских работ по теме: «Коллоидная химия и физико-
химическая механика как основа перспективных материалов и
наноструктурированных систем с регулируемыми свойствами» (№ гос.
регистрации 0120.0 809618).

Научный руководитель - Соболева Оксана Анатольевна, кандидат химических
наук, доцент, ФГБОУ ВПО «Московский государственный университет имени
М.В. Ломоносова».

Официальные оппоненты:

1. Калинина Мария Александровна, Российская Федерация, доктор химических наук, ведущий научный сотрудник, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт физической химии и электрохимии имени А.Н. Фрумкина»;
2. Деркач Светлана Ростиславовна, Российская Федерация, доктор химических наук, профессор, заведующий кафедрой химии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Мурманский государственный технический университет»;

дали положительные отзывы о диссертации.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева» в своем положительном заключении, составленном и подписанным Шабановой М.А., доктором химических наук, профессором кафедры коллоидной химии и Киенской К.И., кандидатом химических наук, доцентом кафедры коллоидной химии, и утвержденном ректором РХТУ им. Д.И.Менделеева Колесниковым В.А. указала, что «диссертационная работа Р.А. Иванова «Коллоидно-химические свойства смесей лизоцим-ПАВ в системе водный раствор/октан» представляет собой законченное научное исследование и соответствует критериям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842); а ее автор – Роман Александрович Иванов – заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.11 – коллоидная химия».

Соискатель имеет 12 опубликованных работ (общим объемом 42 страницы), из них 4 статьи в международных журналах и рекомендованных ВАК российских периодических изданиях, одна статья в рецензируемом сборнике и 7 тезисов докладов.

Основные работы по теме диссертации:

1. Соболева О.А. Поверхностное натяжение смесей лизоцима с бромидом додецилтриметиламмония и додецилсульфатом натрия на границах вода/воздух и вода/октан / Соболева О.А., Иванов Р.А. // Вестн. Моск. Ун-та. Сер.2. Химия. – 2011. – Т.52, №5. – С.390-393.

Изучено влияние концентрации и состава смесей лизоцима с ПАВ (анионным додецилсульфатом натрия, SDS и катионным додецилтриметиламмоний бромидом, DTAB) на поверхностное натяжение на границах водный раствор/воздух и раствор/октан. Установлено, что вид изотерм поверхностного натяжения смешанных растворов зависит от характера взаимодействия белка с ПАВ.

2. Chernysheva M.G. Do low surfactants concentrations change lysozyme colloid properties? / Chernysheva M.G., Ivanov R.A., Soboleva O.A., Badun G.A. // Colloids and Surfaces. A. – 2013. – V.436. – P. 1121-1129.

Методами скинтиллирующей фазы и межфазной тензиометрии (метод висящей капли) изучены смеси низкомолекулярных ионогенных ПАВ (додецилсульфата натрия, SDS и додецилтриметиламмоний бромида, DTAB) и лизоцима. Эксперименты были выполнены при высокой ионной силе раствора. Установлено формирование комплексов лизоцим-ПАВ как для катионного, так и для анионного ПАВ. Малые концентрации SDS и DTAB вызывают одинаковые изменения коллоидных свойств белка. Предложен механизм взаимодействия лизоцима катионного и анионного ПАВ при низкой концентрации ПАВ в растворе. Процесс взаимодействия связан с образованием комплекса лизоцим-ионогенное ПАВ посредством связывания полярных групп ПАВ с адсорбционными центрами белка, после чего происходит совместная адсорбция с SDS и последовательная гидрофилизация комплекса и его вытеснение из адсорбционного слоя молекулами DTAB.

3. Иванов Р.А. Адсорбция и распределение компонентов смесей кокоамидопропил бетаина и лизоцима в системе вода/октан / Иванов Р.А., Соболева О.А., Чернышева М.Г., Бадун Г.А. // Коллоидн. журн. – 2014. – Т.76, №3. – С.347-355.

Методами сцинтиллирующей фазы, межфазной тензиометрии и динамического рассеяния света изучено поведение смесей глобулярного белка лизоцима с цвиттерионным ПАВ кокоамидопропил бетаином в системе вода/октан. Сопоставление величин адсорбции каждого компонента, межфазного натяжения, концентрации компонентов и размера агрегатов в контактирующих фазах позволило предложить механизм поведения смеси белок/цвиттерионное ПАВ в двухфазной системе, основанный на анализе взаимодействия компонентов, структуры и поверхностной активности образующихся агрегатов.

4. Иванов Р.А. Влияние поверхностно-активных веществ различной природы на бактериолитическую активность лизоцима / Иванов Р.А., Соболева О.А., Смирнов С.А., Левашов П.А. // Биоорг. Химия. – 2015. – Т.41, №3. (принята к печати).

Изучено влияние поверхностно-активных веществ (ПАВ) различной природы: анионного (додецилсульфат натрия, SDS), катионного (бромид додецилтриметиламмония, DTAB) и цвиттер_ионного (кокоамидопропил бетаин, CAPB) – на лизис грамположительных бактерий *Micrococcus luteus* под действием яичного лизоцима при pH 7.2 и ионной силе раствора 0.15 М. Установлено, что при малых концентрациях SDS и DTAB (менее 10^{-5} М) происходит рост бактериолитической активности лизоцима на 30–140%. При более высоких концентрациях (10^{-5} – 10^{-4} М) активность снижается до значений, полученных в отсутствие ПАВ. Рост активности соотнесен с формированием гидрофобных комплексов лизоцим–ПАВ. При добавлении CAPB в концентрации свыше 10^{-5} М лизис *M.luteus* существенно замедляется, что связано с агрегированием лизоцима под действием CAPB.

Все работы основаны на экспериментальных данных, полученных автором диссертации; автор принимал непосредственное участие в обсуждении полученных результатов и представлении в виде научных публикаций.

На диссертацию и автореферат поступило 5 отзывов. Все отзывы положительные.

Отзывы:

1. Калмыкова Степана Николаевича, доктора химических наук, профессора, заведующего кафедрой радиохимии химического факультета ФГБОУ ВПО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» - **отзыв положительный, критических замечаний не содержит;**

2. Алентьева Александра Юрьевича, доктора химических наук, профессора, ведущего научного сотрудника ФГБУН «Институт нефтехимического синтеза им. А.В.Топчиева РАН» - **отзыв положительный, есть небольшое замечание:**

«К сожалению, в автореферате нечетко описана методика определения адсорбции и распределения смесей белок – ПАВ в системе вода – октан методом сцинтиллирующей фазы, не приведена и ошибка определения. Возможная ошибка описанного в автореферате метода связана как с объемом отбираемой аликвоты, не указанной в автореферате, так и с изменением равновесного распределения компонентов между фазами после отбора аликвоты и изменения объема органической фазы. Тем не менее, в диссертации этот вопрос освещен подробно и не остается никаких сомнений в правомерности выбранного подхода. Это замечание не снижает общей ценности диссертационной работы и не влияет на выводы, представленные в автореферате, а скорее, носит рекомендательный характер при написании научных статей с обсуждением результатов, полученных методом сцинтиллирующей фазы»;

3. Гладилина Александра Кирилловича, доктора химических наук, профессора кафедры энзимологии ФГБОУ ВПО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» - **отзыв положительный, есть небольшое замечание:**

«Существенных замечаний по работе нет. Из менее принципиального следует отметить отсутствие в разделе «Экспериментальные методы» в автореферате упоминания о способе получения меченого тритием лизоцима»;

4. Урюпиной Ольги Яковлевной, кандидата химических наук, старшего научного сотрудника ФГБУН «Институт физической химии и электрохимии имени А.Н. Фрумкина» - **отзыв положительный, есть небольшое замечание:**

«На рис.11 представлен немонотонный ход изотермы поверхностного натяжения раствора Автор объясняет это выпадением осадка и снижением концентрации раствора. Как нам представляется, здесь требуется более детальное исследование механизма, обеспечивающего рост поверхностного натяжения. Выпадение осадка должно было бы просто привести к выходу на плато изотермы»;

5. Малкина Александра Яковлевича, доктора физико-математических наук, профессора, главного научного сотрудника, Институт нефтехимического синтеза РАН – **отзыв положительный, есть замечания:**

« 1. Автор утверждает, что при добавлении к раствору лизоцима двух из числа изученных ПАВ метод динамического светорассеяния не показывает увеличения размера частиц по сравнению с глобулами чистого лизоцима, т.е. как будто бы в этом случае не происходит взаимодействия компонентов. Вместе с тем, по данным других экспериментов, такое взаимодействие явно имеет место. Нет ли здесь противоречия? И если есть, то как оно объясняется?

2. Автор показывает, что смешанные (бинарные) межфазные слои обогащены ПАВ, и при этом существует некий ряд увеличения мольной доли ПАВ для трех исследованных веществ (вывод 5). Хотелось бы понять, с чем связано количественное различие в поведении различных ПАВ по отношению к лизоциму».

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается многолетней плодотворной работой оппонентов и сотрудников ведущей организации в области изучения поверхностных явлений в системах, содержащих ПАВ, полимеры и белки, что подтверждается наличием публикаций, близких к теме диссертации, в ведущих российских и зарубежных научных журналах.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработана методология комплексного коллоидно-химического исследования адсорбции белков и ПАВ на межфазных границах жидкость/жидкость, которая базируется на анализе экспериментальных данных, полученных методами

сцинтиллирующей фазы, межфазной тензиометрии, флюоресценции, статического и динамического светорассеяния, изучения ферментативной активности и устойчивости смачивающих пленок, стабилизированных смесями белка и ПАВ;

предложен оригинальный подход к изучению бинарных смесей белок-ПАВ, заключающийся в использовании методов сцинтиллирующей фазы и межфазной тензиометрии;

доказана перспективность использования предложенной методологии для описания процесса распределения компонентов смесей между фазами и адсорбционным слоем в соответствии с протекающими процессами самоорганизации, структурой и локализацией образующихся агрегатов белок-ПАВ;

обнаружены области концентраций и составов смесей, при которых формируются гидрофобные и гидрофильные комплексы белок-ПАВ;

установлены условия, при которых происходит частичное вытеснение лизоцима из адсорбционного слоя; **определены** составы смешанных адсорбционных слоев на границе водный раствор/октан; **показано**, что ионогенные ПАВ не приводят к денатурации белка, а в присутствии цвиттерионного ПАВ ферментативная активность лизоцима снижается; **найденно**, что добавки лизоцима не влияют на устойчивость смачивающих пленок в системе гидрофобизованное стекло/октан/водный раствор смеси Lz – ПАВ.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

- **доказано** влияние взаимодействия белка и ПАВ на коллоидно-химические свойства систем водный раствор смеси Lz – ПАВ/октан;
- применительно к проблематике диссертации использован комплекс взаимодополняющих экспериментальных методов, позволяющих получить новые количественные данные об адсорбции и распределении компонентов бинарных смесей белок-ПАВ в системе жидкость/жидкость, о взаимном влиянии компонентов на межфазное натяжение, размер агрегатов, устойчивость

смачивающих пленок, о влиянии ПАВ на ферментативную активность лизоцима;

изложены современные теоретические подходы для описания адсорбции смеси белок-ПАВ на границе жидкость/жидкость, для расчета скорости растекания капель при избирательном смачивании, а так же предложена простая модель, описывающая влияние ПАВ на ферментативную активность лизоцима;

раскрыты механизмы адсорбции и распределения компонентов смесей белок-ПАВ в системе жидкость/жидкость, выявлены области существования гидрофобного и гидрофильного комплексов белок-ПАВ, установлена стехиометрия комплексов и их концентрация в органической фазе и адсорбция на межфазной поверхности;

изучено взаимное влияние компонентов на распределение в системе вода/октан, адсорбцию на межфазной границе, межфазное натяжение, размер агрегатов, устойчивость смачивающих пленок, а также влияние ПАВ на флюоресценцию и ферментативную активность лизоцима;

проведена модернизация методики получения и очистки меченного тритием кокоамидопропил бетаина, что позволило использовать метод сцинтиллирующей фазы для изучения смеси лизоцима с этим ПАВ.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что: выявленные закономерности адсорбции глобулярных белков в присутствии других веществ на границе жидкость/жидкость могут способствовать пониманию функционирования белков в живых организмах, а также быть использованы для развития новых биохимических технологий. Данные о влиянии ПАВ на ферментативную активность Lz позволяют оптимизировать состав композиций, использующихся для создания дисперсных систем, стабилизированных смесями белок – ПАВ.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

- **результаты получены** на современном сертифицированном оборудовании, воспроизводимы в сопоставимых условиях и согласуются с опубликованными экспериментальными данными;

- **идеи** диссертационной работы базируются на выявлении закономерностей поведения смесей белок-ПАВ в двухфазной системе жидкость/жидкость;
- **установлено** качественное и количественное совпадение авторских результатов с результатами, представленными в независимых источниках по данной тематике;
- **использованы** современные экспериментальные методы, адекватные поставленным задачам;

Личный вклад соискателя состоит: в ключевом участии на всех этапах выполнения диссертационного исследования: анализ литературных данных и планирование работы; выбор экспериментальных методик, адекватных поставленным задачам; получение исходных данных научных экспериментов; обработка и интерпретация результатов; личное участие в апробации результатов исследования; подготовка публикаций.

На заседании 19.03.2015г. диссертационный совет принял решение присудить Иванову Р.А. ученую степень кандидата химических наук. При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 18 человек, из них 10 докторов наук по специальности 02.00.11 – коллоидная химия, участвовавших в заседании, из 21 человека, входящих в состав совета, дополнительно введены на разовую защиту 0 человек, проголосовали: за 18, против НЕТ, недействительных бюллетеней НЕТ.

Председатель диссертационного совета
чл.-корр. РАН, д.х.н., проф. Куличихин В.Г.

Ученый секретарь диссертационного совета
к.х.н., доцент Богданова Ю.Г.

Дата оформления заключения _____

