

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертацію **Денисенко Тетяни Олександрівни**
«Спектрофотометричне визначення поліфенолів з використанням гетерополікомплексів структури Доусона», представлену на здобуття наукового ступеня кандидата хімічних наук із спеціальності 02.00.02 – аналітична хімія

Дисертаційна робота Денисенко Т.О. присвячена вивченню взаємодії поліфенольних сполук з молібденовими і молібденовольфрамовими гетерополікомплексами структури Доусона з утворенням гетерополісиней. Кінцевою метою таких досліджень є розробка простих, експресних і чутливих методик для визначення поліфенолів (індивідуальних представників, груп фенольних сполук та їх суми) в рослинних об'єктах, лікарських препаратах та інших об'єктах.

1. Актуальність теми дисертаційної роботи та її зв'язок з державними або галузевими науковими програмами, пріоритетними напрямками розвитку науки і техніки. Загальна характеристика роботи.

Фенольні сполуки є поширеним класом біологічно-активних речовин, які мають високу активність і проявляють різну дію на організм людини, чим і зумовлено широке їх застосування в лікарських формах. Різноманітність класів фенольних сполук значно ускладнює їх визначення, тим більше що для ряду таких сполук невідомий склад і будова. В той же час, виникає необхідність визначення як індивідуальних представників класів поліфенолів, так і окремих груп і суми цих сполук, тому пошук нових аналітичних форм, в т.ч. і для спектрофотометричного визначення фенольних сполук, є актуальним.

Підбір реагентів, які б залежності від кислотності середовища проявляли різну і вибірккову окислювальну здатність, а відтак дозволяють визначати відновники різних класів, є відомим прийомом, причому як окисники використовуються і гетерополікомплекси. В той же час, застосування гетерополікомплексів структури Доусона, зокрема 18-молібдодифосфату (18-МФК), як реагенту для визначення відновників (в т.ч. фенольних сполук) практично не описано, що обумовлює актуальність дисертаційної роботи Денисенко Т.О. Робота відповідає сучасним науковим напрямкам у галузі хімічних наук.

Дисертаційна робота виконана на кафедрах хімії та хімічної технології високомолекулярних сполук та аналітичної хімії Дніпропетровського національного університету імені Олеся Гончара у відповідності з держбюджетною темою Міністерства освіти і науки України № 7-246-11 «Гетерополіаніони як аналітичні форми та реагенти у спектроскопічних та автоматизованих проточних методах аналізу» (2011-2013 рр., номер державної реєстрації 0111U001149).

Дисертацію викладено на 162 сторінках друкованого тексту, вона складається із 4 розділів і 2 додатків, висновків, містить 46 рисунків і 27 таблиць, а список використаних джерел налічує 312 найменувань. Робота написана українською мовою.

Перший розділ дисертації присвячений огляду літератури щодо загальної характеристики фенольних сполук, їх класифікації та властивостей, поширенню



фенольних сполук у природних об'єктах, а також методів їх визначення. Обґрунтовано вибір спектрофотометричних методів дослідження. Наведено властивості гетерополікомплексів, в т.ч. гетерополіаніонів структури Доусона, розглянуто приклади використання гетерополікомплексів у хімічному аналізі. Окремо представлено дані щодо сорбційно-спектроскопічних методів визначення фенольних сполук.

Другий розділ дисертації присвячено опису реагентів і методикам приготування їх розчинів, апаратурному оформленню дослідження, об'єктів аналізу та їх пробопідготовці. Описано методику синтезу 18-молібдодифосфату і реактиву Фоліна-Чокальтеу, а також стандартизовані методики визначення фенольних сполук.

Третій розділ «Особливості взаємодії 18-молібдодифосфату та реактиву Фоліна-Чокальтеу з фенольними сполуками» присвячений знаходженню оптимальних умов утворення гетерополісинеї при взаємодії гетерополікомплексів структури Доусона з окремими фенольними сполуками.

Дослідження реакцій утворення та відновлення 15-молібдо-3-вольфрамо-2-фосфорного гетерополікомплексу у розчині показало, що для підвищення стійкості гетерополікомплексів у лужному середовищі доцільно утворення різнолігандних гетерополікомплексів, тому автором запропоновано молібдо-вольфрамові гетерополікомплекси структури Доусона з невеликою кількістю атомів вольфраму загальної формули $P_2Mo_{18-n}W_nO_{62}^{6-}$ ($n=2-4$) (18-МВФК). Встановлено, що при взаємодії з відновниками, зокрема аскорбіною кислотою, 18-МФК і 18-МВФК утворюють гетерополісині (двох- і чотирьох електронні) з мольним відношенням реагуючих компонентів аскорбінова кислота : гетерополікомплекс 2:1 та 4:1, запропоновано рівняння реакцій. Вивчено вплив різних факторів (рН середовища, кінетика реакції, тощо) на утворення гетерополісинеї, знайдені оптимальні умови. Встановлені відповідні окисно-відновні потенціали відповідних пар, вивчено спектри світлопоглинання.

Вивчення впливу неіоногенних поверхнево-активних речовин на стійкість 18-молібдодифосфату у розчинах показало, що в присутності високих концентрацій поверхнево-активних речовин (вище критичної концентрації міцелоутворення) зростає стійкість окисленої форми 18-МФК у лужному середовищі, але реакційна здатність 18-МФК значно зменшується, внаслідок чого уповільнюється реакція утворення гетерополісині.

Знайдені оптимальні умови взаємодії фенольних сполук різних класів з 18-МФК і реактивом Фоліна-Чокальтеу, проведено порівняння цих аналітичних форм для спектрофотометричного визначення поліфенолів, показано переваги 18-МФК, який має лінійну залежність при визначенні поліфенолів у широкому діапазоні концентрацій. Встановлено мольні відношення реагуючих речовин 18-МФК : поліфенол і показано, що в залежності від природи поліфенолів, це відношення може суттєво змінюватись і це впливає на тип утворених гетерополісинеї з різними максимумами світлопоглинання ($\lambda = 760, 820$ і 1000 нм). Показана можливість утворення одноелектронних гетерополісинеї. Тому при визначенні суми поліфенольних сполук запропоновано вимірювати оптичну густину в ізобестичній точці (при $\lambda=900$ нм), що дозволяє лінеаризувати

градувальні залежності. Варіюванням рН розчинів можна спектрофотометрично визначати фенольні сполуки різних груп з використанням 18-МФК при невеликому надлишку реагенту.

Показано можливість спектрофотометричного визначення аскорбінової кислоти і рутину при їх сумісній присутності, оцінено реакційну здатність 18-МФК і реактиву Фоліна-Чокальтеу по відношенню до окремих фенольних сполук, оцінено вплив фенолів нерослинного походження та супутніх речовин на реакцію поліфенолів з 18-МФК і реактивом Фоліна-Чокальтеу, доведено більшу селективність 18-МФК. Розроблено та апробовано методики спектрофотометричного визначення кверцетину (у таблетках «Квертин»), а також рутину і аскорбінової кислоти при спільній присутності (у препараті «Аскорутин»).

Четвертий розділ «Спектрофотометричне, кольорометричне та тест-визначення суми фенольних сполук з використанням 18-молібдодифосфату» присвячений розробці та апробації методик визначення поліфенолів у реальних об'єктах. Проведено порівняння результатів визначення поліфенольних сполук різних груп у рослинній сировині та препаратах на їх основі, харчових продуктах рослинного походження з використанням пропонованої спектрофотометричної методики (з 18-МФК) та стандартних методик (з реактивом Фоліна-Чокальтеу, ваніліном, $AlCl_3$, біс-неокупроїнатом Купруму(II), методом Левенталя), показано переваги авторської методики. Показано, що результати визначення поліфенолів з використанням 18-МФК і реактиву Фоліна-Чокальтеу корелюють, а ступінь кореляції $R^2 > 0,95$. Це є свідченням валідності пропонованої автором методик визначення поліфенолів.

Вивчено процеси сорбції двоелектронних гетерополісинеї, які утворюються при взаємодії 18-МФК з аскорбіновою кислотою, на пінополіуретані, розраховано основні константи сорбції. Знайдені оптимальні умови для розробки кольорометричної методики визначення поліфенолів та аскорбінової кислоти з використанням 18-МФК, показано, що доцільно окисно-відновну реакцію проводити у розчинів, а далі сорбувати гетерополісині пінополіуретаном. Запропоновано тест-шкали для визначення поліфенолів та аскорбінової кислоти.

Розроблено та апробовано методики кольорометричного визначення поліфенолів і аскорбінової кислоти у рослинах і кон'яках, проведено порівняння розроблених та відомих методик. Показано, що розроблені методики визначення поліфенолів з використанням 18-МФК мають ряд переваг перед стандартними.

2. Обґрунтованість наукових положень, висновків та рекомендацій, сформульованих в дисертації. Наукова новизна одержаних результатів.

Обґрунтованість наукових положень і висновків, які представлені у дисертаційній роботі Денисенко Т.О. забезпечується комплексним підходом здобувача до досліджень, коректним плануванням експерименту і адекватністю застосованих методів дослідження, статистичною обробкою одержаних результатів, широкою апробацією результатів роботи.

Достовірність результатів дисертації не викликає сумніву, адже вони одержані шляхом якісного виконання експерименту з використанням сучасних методів дослідження, оптимізацією умов вимірювання аналітичного сигналу,

проведенням розрахунків за загальноприйнятими методиками з використанням методів математичної статистики, а також порівнянням результатів спектрофотометричного визначення поліфенолів розробленими автором методиками, з стандартними методиками визначення цих речовин.

Узагальнення одержаних автором результатів з урахуванням їх наукової новизни є підставою для твердження, що у дисертаційній роботі Денисенко Т.О. вирішено наукове завдання – розробка простих, експресних і високочутливих методик (спектрофотометричних, кольорометричних, тест-методик) визначення суми фенольних сполук та окремих представників поліфенолів і їх груп у рослинних зразках, лікарських формах і продуктах харчування.

Здобувачем вперше:

- встановлено можливість використання 18-МФК у якості аналітичного реагенту для визначення як суми фенольних сполук, так і ряду індивідуальних поліфенолів, а також окремих їх груп;

- показано, що 18-МФК у порівнянні з реактивом Фоліна-Чокальтеу є більш сильним окисником по відношенню до фенолів, інтервал оптимальних значень кислотності зсунутий в область менших значень рН;

- запропоновано для спектрофотометричного визначення поліфенолів різних груп (флавонолів, оксикоричних кислот, полімерних поліфенолів, катехінів, оксibenзойних кислот) варіювати величину рН розчинів, що дозволяє вибірково визначати вміст відповідних груп поліфенолів;

- внаслідок різних максимумів світлопоглинання утворюваних гетерополісинеї, що залежить від співвідношення реагуючих компонентів (гетерополікомплексів і фенолів), запропоновано при визначенні суми фенольних сполук вимірювати оптичну густину розчинів у ізобестичній точці (при $\lambda = 900$ нм). Це дозволяє лінеаризувати градувальні залежності.

3. Повнота викладених основних результатів дисертації у наукових виданнях з урахуванням встановлених вимог. Ідентичність вмісту автореферату та основних положень дисертації.

Результати дисертаційної роботи Денисенко Т.О. достатньо повно висвітлені у наукових працях автора. Так, за матеріалами дисертації опубліковано 5 статей у фахових виданнях та 13 тез доповідей на наукових конференціях різних рівнів. Матеріали дисертації добре апробовані на різноманітних наукових зібраннях.

Зміст автореферату повністю відображає зміст дисертаційної роботи.

4. Значущість висновків здобувача для науки та практики, можливі конкретні шляхи використання результатів досліджень.

Дисертаційна робота Денисенко Т.О. має, перш за все, практичне значення. Як новий аналітичний реагент для спектрофотометричного визначення фенольних сполук запропоновано 18-МФК, знайдені оптимальні умови визначення фенольних сполук. Розроблено та апробовано нові методики спектрофотометричного визначення фенольних сполук у зразках рослин і лікарських формах на їх основі, а також харчових продуктах, які мають ряд

переваг перед стандартними методиками визначення цих сполук. Важливою перевагою пропонуваного автором методик, крім простоти і експресності, є можливість спектрофотометричного визначення як індивідуальних фенольних сполук, так і їх суми, що дозволяє вирішувати різноманітні аналітичні задачі.

Крім того, розроблені та апробовані візуально-тестові та кольорометричні методики визначення суми фенольних сполук, а також фенольних сполук і аскорбінової кислоти при спільній присутності.

Розроблені автором методики визначення фенольних сполук у продуктах харчування впроваджені в навчальний практикум кафедри аналітичної хімії та кафедри харчової хімії та інженерії Дніпропетровського національного університету імені Олеся Гончара (акт впровадження результатів науково-дослідної роботи у навчальний процес представлений у Додатку 2).

5. Зауваження, питання та побажання до вмісту дисертаційної роботи та її оформлення.

1. В дисертації не представлені власні публікації автора та посилання на них. Це ускладнює оцінку ступеня повноти викладення результатів дисертації у наукових виданнях. З переліком публікацій здобувача можна познайомитись лише з автореферату дисертації.

2. У висновках до розділу 1 («Огляд літератури») не представлено актуалізацію проведеного дослідження, що підкреслило б значущість даної роботи. Висновки дисертації не містять кількісні параметри (чутливість, метрологічні характеристики методик, тощо), що дозволило б оцінити переваги пропонуваного автором аналітичних форм та розроблених методик.

3. У роботі стверджується, що умовний молярний коефіцієнт світлопоглинання гетерополісіней напряду пов'язаний із стійкістю сполук (стор. 57, 59 і т.д.), проте автором цей факт не доведено.

4. Не зрозуміло чому автор для методик спектрофотометричного визначення (загальний вміст фенолів, сума флавоноїдів, сума фенольних сполук) пропонує вимірювати оптичну густину розчинів при $\lambda=820$ або $\lambda=900$ нм? При цьому автор сам стверджує, що визначення сумарного вмісту таких сполук доцільно проводити при $\lambda=900$ нм (ізобестична точка), адже тоді результати визначення не залежать від типу утворюваної гетерополісіні.

5. Зауваження до метрологічного оформлення результатів визначення поліфенолів:

- в окремих таблицях не вказано довірчий інтервал (наприклад, табл. 4.4, 4.7, 4.8);

- таблиці містять зайві значущі цифри (наприклад, табл. 4.2, 4.3 і т.д.);

- відсутні будь-які метрологічні параметри результатів аналізу (наприклад, табл. 4.7);

- діапазон довірливого інтервалу, який автор вказує як Δ , часто не співвідноситься з величиною S_r при вказаних n і P . Можливо автор розраховував довірчий інтервал за іншою методикою?;

- автором не проведено розрахунок збіжності (адекватності) методик визначення поліфенолів (за відомою процедурою) для жодного зразку, що дозволило б підтвердити правильність методик.

6. Результати визначення поліфенолів методикою автора і стандартними методиками (з реактивом Фоліна-Чокальтеу, ваніліном, з використання AlCl₃, методом Левенталія) часто не співпадають (розділ 4), тому важко оцінити правильність пропонувананих методик. Автор намагається пояснити ці явища, але для підтвердження достовірності результатів аналізу доцільно було б використати якийсь стандартний зразок. Здобувач, наприклад, стверджує, що завищені вмісти фенолів у «Мікстурі від кашлю», таблетках «Кратал» і «Альтат», які одержані за її методикою (з 18-МФК) у порівнянні з методиками із використанням AlCl₃ і реактиву Фоліна-Чокальтеу (табл. 4.2) пояснюються «... відмінністю у величинах умовних молярних коефіцієнтів» (стор. 99). Таке трактування розбіжностей результатів аналізу є невірним.

Крім того, на мою думку, не зовсім коректним є порівняння результатів визначення вмісту поліфенольних сполук (в перерахунку на рутин) з літературними даними (табл. 4.5 дисертації, табл. 9 автореферату), адже вміст цих сполук у різних зразках одного продукту може суттєво відрізнятися. Тим більше, що дані для окремих продуктів не збігаються.

7. Автор шукає кореляції щодо результатів визначення поліфенолів різними реагентами і стверджує, що кореляцію між результатами їх визначення з використанням 18-МФК і реактиву Фоліна-Чокальтеу є високою, $R^2 > 0,95$ (висновок 5). При цьому автор не враховує, що при вираженій кореляції, абсолютні значення вмісту визначуваних компонентів, одержані різними методиками, суттєво різняться навіть на кореляційних залежностях (рис. 4.4).

8. Не зрозуміло, що автор має на увазі під терміном «межа визначення» для сорбційно-спектроскопічних методик визначення фенольних сполук? Якщо межа визначення (LOQ) розрахована за 10S-критерієм, то як значення межі визначення сполук потрапляють в середину діапазону лінійності (табл. 4.14 дисертації, табл. 11 автореферату)? Термін «межа визначення» автор використовує і для порівняння реагентів 18-МФК і реактиву Фоліна-Чокальтеу (табл. 4.6), але як розрахований цей критерій не вказано.

9. На мою думку, автор надмірно деталізує процедури приготування розчинів (розділ 2), але недостатньо уваги приділяє опису постановки експерименту, розрахункам, тощо.

Крім того, автор вказує формулу сполуки $(\text{NH}_4)_6[\text{P}_2\text{Mo}_{16}\text{W}_2\text{O}_{64}] \times 14\text{H}_2\text{O}$, але при цьому не наводить доказів, що кристалічна сполука у своєму складі містить 14 молекул води.

10. Зауваження до оформлення роботи:

- невірно оформлено титульний аркуш дисертації (у заголовку вказується де виконана робота, а не де вона захищатиметься);

- автор використовує змішану номенклатуру назв хімічних елементів і сполук;

- окремі літературні посилання оформлені з порушенням вимог;

- при представленні результатів дослідження дані на рисунках і таблицях, а також у тексті не співпадають. Наприклад, рис. 3.6, 3.8, 3.12, 3.23а і 3.23б, (рис. 3.16,б немає, а посилання у тексті є, стор. 73), табл. 3.1 і 3.2, 3.3.

- зустрічаються невдалі вислови, наприклад «... при попаданні всередину міцели» і т.д., орфографічні помилки, тощо.

Виказані зауваження та побажання не є принциповими, не стосуються основних положень дисертації і не зменшують наукової значимості дисертаційної роботи Денисенко Тетяни Олександрівни.

6. В цілому, дисертаційна робота Денисенко Т.О. «Спектрофотометричне визначення поліфенолів з використанням гетерополікомплексів структури Доусона», яка представлена на здобуття наукового ступеня кандидата хімічних наук із спеціальності 02.00.02 – аналітична хімія, є завершеним та цілісним науковим дослідженням. За актуальністю, науковою новизною, обсягом проведених досліджень, достовірністю отриманих висновків та практичною значимістю дисертаційна робота відповідає вимогам, які ставляться до дисертацій на здобуття наукового ступеня кандидата хімічних наук, зокрема п. 11 «Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 року № 567, а її автор, Денисенко Тетяна Олександрівна, заслуговує присудження їй наукового ступеня кандидата хімічних наук із спеціальності 02.00.02 – аналітична хімія.

Офіційний опонент:

Професор кафедри екології та охорони
навколишнього середовища ДВНЗ
«Ужгородський національний університет»,
доктор хімічних наук, доцент

С.М. Сухарев

17.02.2016 р.

Підпис д.х.н. Сухарева С.М. засвідчую:

Вчений секретар ДВНЗ «УжНУ»



к.т.н. Мельник О.О.