

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу

ДЕНИСЕНКО ТЕТЯНИ ОЛЕКСАНДРІВНИ

«Спектрофотометричне визначення поліфенолів з використанням гетерополікомплексів структури Доусона», поданої на здобуття наукового ступеню кандидата хімічних наук за спеціальністю 02.00.02– аналітична хімія

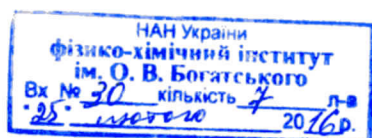
Актуальність теми дисертації.

З'єднання фенольної і поліфенольної природи є найбільш поширеним класом природних сполук, які проявляють властивості антиоксидантів. Вони містяться в тканинах багатьох рослин, в тому числі лікарських, входять до складу багатьох харчових продуктів, застосовуються при виробництві біологічно активних добавок. Поліфенольні сполуки мають протизапальну, антигістамінну дію, знімають набряки, зменшують ризик серцево-судинних захворювань, стабілізують клітинні мембрани, пригнічують процеси старіння. Антиоксидантна активність є одним з показників, що визначає фізіологічну цінність харчових продуктів для організму людини. Головне джерело надходження антиоксидантів в організм людини - рослинна сировина, лікарські трави, вина, коньяки, чай, кава, соки, овочі і фрукти. Для різних фенольних сполук встановлені рівні їх добового споживання.

Саме тому, розробка нових методів визначення і покращення наших знань щодо реакційної здатності існуючих методів визначення фенольних сполук є актуальною і можна сказати, що дана дисертаційна робота сприяє вирішенню цієї важливої проблеми.

Загальний вміст фенольних сполук у рослинах та багатьох інших об'єктах аналізу головним чином контролюється спектрофотометричними методами з використанням у якості аналітичного реагенту реактиву Фоліна-Чокальтеу, який як показано і підтверджено у даній роботі, є представником гетерополікомплексів зі структурою Доусона. 18-молібдодифосфат (18-МФК) можна вважати модифікацією цього гетерополіаніону. Тому властивості цих комплексів подібні. Було доцільно з'ясувати можливість використання 18-МФК для визначення суми фенольних сполук та окремих фенолів, знайти корисні особливості реакційної поведінки цього і інших гетерополікомплексів структури Доусона.

Актуальність роботи підтверджується також її зв'язком з науково-дослідними роботами, які проводилися на кафедрах хімії та хімічної технології високомолекулярних сполук та аналітичної хімії хімічного факультету Дніпропетровського національного університету імені Олеся Гончара відповідно до держбюджетної теми Міністерства освіти і науки України № 7-246-11 "Гетерополіаніони як аналітичні форми та реагенти у спектроскопічних та автоматизованих проточних методах аналізу" (2011-2013 рр., № держреєстрації 0111U001149).



Критична оцінка змісту дисертації, її завершеності

Дисертація Т.О. Денисенко є завершеною працею і складається зі вступу, чотирьох розділів, загальних висновків, списку використаних джерел (312 посилань) і двох додатків (відомості щодо біологічно активних речовин, які містяться у рослинних об'єктах та акту впровадження результатів науково-дослідної роботи в навчальний процес ДНУ ім. О. Гончара). Загальний об'єм роботи становить 123 сторінки, не рахуючи списку використаних джерел (33 сторінки) і додатків (6 сторінок).

У **вступі** переконливо обґрунтовані актуальність та мета роботи, сформульовані положення наукової новизни, показано її практичне значення, розглянуто особистий внесок дисертанта у роботу.

В **першому розділі** містяться відомості щодо загальної характеристики фенольних сполук природного походження та їх класифікація. Фенольні сполуки характеризуються надзвичайною різноманітністю і тому виглядає обґрунтованим розгляд особливостей структурної будови, розповсюдження у природі їх головних класів. На прикладі кверцетину показано, що окиснення поліфенолів є складним і багатостадійним процесом. Надано коротку характеристику основним методам визначення фенольних сполук, детальніше розглянуто методи визначення танінів. Показано особливу роль гетерополісполук структури Доусона у розвитку аналітичної хімії, особливості будови їх сполук і використання в хімічному аналізі.

Огляд побудований на сучасній науковій літературі, містить переважно посилання на сучасну актуальну наукову літературу, опубліковану впродовж останніх 10-20 років у англійськомовних найбільш визнаних виданнях з аналітичної хімії. Це підтверджує правильність висновків, зроблених у роботі. Зміст огляду повністю відповідає темі дисертації і експериментальній частині роботи. Видно, що в цілому автор успішно впорався з надзвичайно великим об'ємом літератури, який стосується теми дисертаційної роботи.

У **другому розділі** наводяться дані щодо використаних реагентів та приготування їх розчинів, особливості пробопідготовки, синтезу гетерополікомплексів структури Доусона, методики визначення фенольних сполук з використанням найбільш розповсюджених реагентів.

У **третьому розділі** вперше проведено систематичне дослідження реакційної здатності 18-молібдодифосфорного гетерополікомплексу (18-МФК) щодо фенольних сполук. Раніше цей комплекс вже було успішно використано для визначення деяких біологічно активних фенольних сполук, у тому числі п-амінофенолу, епінефрину. Також зроблено спробу знайти більш ефективну аналітичну форму для визначення фенолів з використанням комплексів структури Доусона. Як показано, при заміщенні частини атомів молібдену в 18-МФК на атоми вольфраму зростає стійкість гетерополіаніону щодо лужного гідролізу, але цей ефект є не дуже сильно вираженим. Суперечливі дані отримані щодо молярних коефіцієнтів гетерополісиней. Для ГПК, отриманого шляхом заміщення у розчині, вони більше, ніж для монолігандного ГПК, а для синтезованого препарату менше. Незадовільним виявилось використання

неіонних ПАР для покращення методик визначення поліфенолів з використанням ГПК.

Систематичне дослідження взаємодії між 18-МФК і рядом представників головних класів фенольних сполук дозволило з'ясувати і обґрунтувати оптимальні умови утворення гетерополісині (кислотність, концентрація реагенту, час визначення), з'ясувати особливості реакційної поведінки, як полягають у зміщенні інтервалу кількісного утворення гетерополісиней у слабколужне та нейтральне середовище, пришвидшенні реакції. Характерною ознакою є те, що у випадку 18-МФК стає більш контрастною різниця між ступенем взаємодії між фенолами в відновниках нефенольної природи, що дає змогу більш об'єктивно оцінювати вміст суми фенолів у реальних рослинних об'єктах, а також у перспективі і інших. Дослідження реакцій 18-МФК з фенолами проводиться у порівнянні з поведінкою цих сполук у реакції з іншим ГПК структури Кеггіна – реактивом Фоліна-Чокальтеу, який є фактично стандартною речовиною для визначення суми фенольних сполук. Показано, що в оптимальних умовах отримані умовні молярні коефіцієнти світлопоглинання є доволі близькими.

Вперше у роботі з'ясовані причини, за яких градувальні графіки, побудовані для визначення відновників з використанням ГПК структури Доусона є нелінійними. Наявність ізобестичної точки у спектрах гетерополісиней, побудованих як залежність молярного коефіцієнту від довжини хвилі, однозначно свідчить про наявність рівноваги між двома формами гетерополісиней. Зроблені припущення щодо рівноваги між одно - та двоелектронною ГПС при реакції з фенолами 18-МФК, та двох і чотирьохелектронними ГПС при реакції з реактивом ФЧ. Показано, що тільки 18-МФК можна застосовувати як реактив для визначення окремих фенольних сполук або для одночасного визначення фенолів у сумішах із іншими відновниками. Висновки до цієї частини роботи є дещо розмитими і мало узагальненими.

У четвертому розділі наведені численні дані щодо результатів визначення суми фенольних сполук у рослинних препаратах, які містять сукупність фенолів різних класів. Проведено порівняння результатів визначення суми фенолів розробленою та двома стандартними методиками. Показано, що між результатами визначення методів, які використовують 18-МФК та реактив ФЧ, існує задовільна кореляція. Знайдено пояснення існуючих розходжень для більшості з проаналізованих препаратів. Кореляція з результатами методики, яка застосовує хлорид алюмінію є тільки у випадку, коли у рослинному об'єкті аналізу переважають деякі групи флавоноїдів, наприклад флавоноли. У багатьох випадках результати аналізу не просто близькі, а й не відрізняються у межах випадкової похибки. Окремо розглянуті в роботі способи визначення суми окремих класів фенольних сполук, у тому числі флавонолів і танінів на прикладі аналізу відповідних рослинних об'єктів, наприклад, визначення танінів у чаєх. Дисертанту не вдалося знайти задовільну кореляцію між результатами визначення суми танінів або катехінів у чаєх з 18-МФК і стандартною

методикою з ваніліном або перманганатом калію. В той же час збіг результатів з методом, який ґрунтується на використанні реактиву ФЧ, було задовільним.

Знайдені умови кількісної сорбції гетерополісині, яка утворюється при реакції 18-МФК з фенолами на ППУ. На відміну від раніше запропонованого підходу автор відмовився від попередньої сорбції реагенту на ППУ і запропонував двохстадійний підхід, у якому на першій стадії утворюються ГПС, а сорбція відбувається після підкислення розчину. На цій основі розроблені візуально-тестові і кольорометричні методики.

Обґрунтованість наукових положень, висновків та рекомендацій, їх новизна, достовірність та значущість.

Сформульовані в дисертаційній роботі висновки і узагальнення є коректними результатами досліджень, виконаних на високому теоретичному і експериментальному рівні. Достовірність результатів аналізу розробленими методиками забезпечувалася коректним використанням декількох незалежних найбільш розповсюджених і надійних спектрофотметричних методів визначення суми фенольних сполук. Враховуючи різноманітність складу рослинних об'єктів аналізу і властивостей фенольних сполук, є виправданим широке застосування кореляційного аналізу для доказу придатності запропонованих методик аналізу. Перевірка реакційної здатності достатньо великої кількості окремих фенольних сполук та заважаючого впливу сукупності нефенольних відновників була запорукою правильності основного висновку дисертаційної роботи щодо придатності 18-МФК для визначення суми фенольних сполук. Отримані результати загалом не протирічають відомим уявленням щодо хімізму реакцій у досліджених системах.

Наукова новизна отриманих автором результатів полягає у наступному:

1. Встановлено подібність реакційної поведінки 18-МФК і реактиву Фоліна-Чокальтеу по відношенню до сукупності представників різних класів фенольних сполук, що дає змогу розглядати 18-МФК як альтернативний реагент для визначення суми фенольних сполук.

2. Виявлені корисні відмінності у властивостях 18-МФК, які дозволяють суттєво покращати характеристики методик визначення як окремих представників фенолів, так і загального їх вмісту. У тому числі це зміщення інтервалу кількісної взаємодії у слабколужне і нейтральне середовище, що дозволяє більш надійно і селективно визначати феноли у присутності ряду відновників нефенольної природи.

3. Знайдені причини, які обумовлюють нелінійність градууювальних залежностей при використанні ГПК структури Доусона, тобто наявність рівноваги між різними за ступенем відновлення формами гетерополісиней. Показано, що присутність у спектрах ГПС, отриманих при відновленні 18-МФК, ізобестичної точки є передумовою отримання строго прямолінійних градууювальних графіків.

Практична цінність результатів роботи є безсумнівною.

1. 18-молібдодифосфат, як і інші ГПК структури Доусона формули $\text{PMo}_{18-n}\text{W}_n\text{O}_{62}^{6-}$ (де $n = 0-4$), в яких у гетерополіаніоні переважають атоми молібдену, мають ряд суттєвих переваг при використанні їх для визначення фенольних сполук. Хоча для великої кількості рослинних об'єктів і 18-МФК, і реактив ФЧ дають результати, які добре корелюють між собою, при наявності в об'єктах аналізу достатньо великого відсотку простих фенолів, відновлюючих сахарів, деяких вітамінів, амінокислот, амінів отримані результати можуть давати спотворене уявлення щодо вмісту суми суто фенолів, антиоксидантної активності, харчової корисності та інших інтегральних показників.

2. 18-МФК на відміну від реактиву Фоліна-Чокальтеу дає можливість визначати без систематичних відхилень індивідуальні феноли, проводити одночасне визначення фенолів у сумішах з більш сильними відновниками, такими як аскорбінова кислота.

3. Методики, які використовують 18-МФК відрізняються від існуючих у позитивний бік своєю простотою, експресністю, чутливістю, добре автоматизуються. З використанням реагенту вперше створені чутливі, точні і зручні візуально-тестові та кольорометричні методики визначення суми фенолів.

4. В роботі розроблені корисні методики аналізу великої кількості реальних рослинних препаратів, включаючи лікарські препарати на основі рослинної сировини, чаї, харчові продукти, вироблені з рослинної сировини.

Повнота викладення змісту дисертації в опублікованих працях

Всі основні наукові та прикладні результати дисертації Денисенко Т.О. достатньо повно відображені у 17 друкованих працях, 5 з яких опубліковані у фахових наукових виданнях (1 – у зарубіжному, а 4 – у виданнях України).

Зміст автореферату відповідає змісту дисертації. В авторефераті знайшли своє відображення усі нові наукові положення, що виносяться на захист, та прикладні результати, що визначають практичну значущість дисертаційної роботи.

Дисертаційна робота написана літературною науковою українською мовою, відрізняється логічністю побудови, легко читається, при оформленні списку використаних джерел, рисунків, таблиць, решти тексту автор дотримувався існуючого ДСТУ.

Зауваження та запитання до змісту дисертації

1. Стверджується (наприклад с. 39), що суттєвим недоліком реактиву Фоліна-Чокальтеу є його низька селективність. На скільки Вам вдалось підвищити селективність визначення поліфенолів при використанні 18-МФК в якості реагенту? Збільшення селективності визначення із таблиць 3.5 та 3.6 не видно.

2. В третьому розділі описані молібдовольфрамкові комплекси структури Доусона з малим вмістом атомів вольфраму і показано, що вони мають стійкість і інші характеристики, які кращі, ніж у 18-молібдодифосфату. Чому тоді у

подальшому відмовилися від його застосування?

3. В літературі є дані, що 18-молібдодифосфорний гетерополікомплекс не може утворюватися при концентрації $10^{-5} - 10^{-4}$ моль/л. Він є стабільним при концентраціях 0,01 моль/л. Як Ви довели, що Ваш аналітичний реагент є стійким в умовах визначення?

4. З рисунка 3.8 видно, що оптична густина значно зростають в області приблизно 280 нм. В той же час для аналізу обрана довжина хвилі 360 нм, де оптична густина в 2-2,5 рази нижче. З чим це пов'язано?

5. У таблиці 4.5 для великої частини аналізованих зразків (зелений чай, квіти гібіскусу, софора, лопух) вміст поліфенолів, розрахований за методикою з 18-МФК, досить сильно відрізняється від літературних даних. В таблиці 4.5 для зеленого чаю і софори японської вміст поліфенолів приблизно в 2 рази перевищує літературні дані, а для квітів гібіскусу та лопуха навпаки у 2 рази менш. Чим Ви можете це пояснити?

6. У таблицях 4.4 і 4.7 результати аналізу представлені без довірчих інтервалів.

7. Чим обумовлено відбір пенополіуретану у якості сорбенту при твердофазному визначенні поліфенолів?

8. Чи корелює умовний молярний коефіцієнт поглинання для поліфенольних сполук з кількістю гідроксильних груп у фенольних кільцях? Що є продуктом окиснення поліфенолів?

9. Чим пояснюється різниця поведінки галової кислоти і галотанінів при взаємодії з 18-МФК по часу (рис. 3.15)?

10. В табл. 4.10 не вказано, в чому визначали аскорбінову і галову кислоти, очевидно, це були модельні розчини? Які «поліфеноли ГК» вказані в тексті та назві таблиці 4.10?

11. В дисертації та авторефераті зустрічаються деякі неточності, наприклад, на стор. 67 дисертації відмічається, що при рН менше 10 (рис. 3.12) для всіх вивчених систем спостерігається зменшення світлопоглинання, хоча це не зовсім точно, тому що для хлорогенової кислоти і ЕГКТ, елагової кислоти оптична густина після цього значення зростає і залишається постійною до рН 11,5 для розмаринової кислоти. Зменшення оптичної густини спостерігається тільки для кверцетину і галової кислоти. У назві табл. 3.6 не вказано, на що впливає природа фенолів. В авторефераті на стор. 15 дано посилання на табл.13, яка в авторефераті відсутня.

Висновки

Загалом, вказані зауваження не впливають на загальне позитивне враження від роботи, не стосуються основних наукових положень і ні в якій мірі не зменшують наукової та практичної значущості дисертаційної роботи.

Дисертація Денисенко Тетяни Олександрівни «Спектрофотометричне визначення поліфенолів з використанням гетерополікомплексів структури Доусона» є закінченою науково-дослідною роботою.

За актуальністю обраної теми, обсягом та рівнем виконаних досліджень, повнотою вирішення наукових та практичних задач, новизною і ступеню

обґрунтованості отриманих результатів та практичних висновків дисертаційна робота відповідає вимогам, які ставляться до кандидатських дисертацій, а за змістом поданого в ній матеріалу – паспорту спеціальності 02.00.02 – аналітична хімія.

Висновок про відповідність дисертації вимогам положення. Дисертація Денисенко Т.О. є завершеною науково-дослідною роботою. За актуальністю, новизною, практичним значенням, ступенем опублікування та загальним науковим рівнем робота повністю відповідає всім вимогам атестаційної комісії Міністерства освіти і науки України до кандидатських дисертацій, а також вимогам, що викладені в «Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 року № 567, а її автор **ДЕНИСЕНКО ТЕТЯНА ОЛЕКСАНДРІВНА** заслуговує на присудження їй **наукового ступеня кандидата хімічних наук за спеціальністю 02.00.02 – аналітична хімія.**

Доцент кафедри харчової хімії
Одеської національної академії
харчових технологій,
канд. хім. наук



О.О. Лівенцова

Підпис Лівенцової О.О. засвідчую:
вчений секретар ОНАХТ,
канд. тех. наук



Г.І. Палвашова