

ОТЗЫВ официального оппонента
на диссертацию на соискание ученой степени
кандидата химических наук Сушкова Николая Ивановича
на тему: «Сочетание лазерно-искровой эмиссионной спектрометрии и
спектроскопии комбинационного рассеяния света для установления
взаимосвязей элементного и молекулярного состава зоопланктона»
по специальности 1.4.2. Аналитическая химия

Разработка методов анализа биогеохимических объектов во все времена являлась важным и значимым научным направлением. Особенно важна разработка методов исследования биологических объектов в полевых условиях, непосредственно сразу после отбора пробы. Это необходимо при изучении живых организмов, поскольку при хранении и транспортировке к месту анализа, возможно изменения анализируемых характеристик отобранных образцов. В настоящее время, в России проводятся исследования морей и океанов научными судами. Важно, чтобы на борту этих судов имелись методы и соответствующая аппаратура, позволяющая проводить непосредственный быстрый анализ, отобранных био-образцов. Большинство химических методов требуют вскрытие пробы и значительного количества химических реактивов, что создает их применение мало пригодным на борту корабля. Среди экспрессных методов элементного анализа, которые можно реализовать на борту корабля можно выделить рентгенофлуоресцентную спектроскопию (РФС) и лазерно-искровая эмиссионная спектрометрия (ЛИЭС). Эти методы не требуют сложной процедуры пробоподготовки перед выполнением определения элементов на аналитической аппаратуре. Для определения легких элементов, таких как водород, литий, бериллий, бор в биологических тканях имеет преимущества метод лазерно-искровой спектроскопии. Этот метод появился сравнительно недавно с появлением первых лазерных устройств. Особенно бурно метод получил развитие с появлением лазеров с модулированной добротностью, работающих в

наносекундном импульсном временном интервале с длинами волн в УФ области. Для молекулярного анализа вещества широко используется метод спектроскопии комбинационного рассеяния (СКР). Разработка подходов позволяющих сочетать метод ЛИЭС и СКР является актуальным научным исследованием, поскольку позволяют получить информацию об элементном и молекулярном составе анализируемого вещества. Кроме этого, важно корректно описывать, как изменение элементного состава связано с особенностями молекулярного состава анализируемых образцов. Это позволяет выделять определенные группы образцов.

Сравнительно недавно обнаружено явление аномального концентрирования ряда химических элементов в тканях морских ракообразных организмов. Причины и механизмы этого явления пока не выяснены. Для изучения этого явления необходимо комплексное исследования химического состава тканей и поиск корреляций между особенностями элементного и молекулярного состава.

Целью данной работы была оценка возможностей сочетания лазерно-искровой эмиссионной спектрометрии, спектроскопии комбинационного рассеяния света и математических методов обработки многомерных данных, имея в виду использование этого сочетания для оценки элементного и молекулярного состава морского зоопланктона и выявления связей между этими составами. Для достижения цели диссертантом были поставлены пять основных задач, которые были решены в процессе выполнения работы.

Объектами исследования являлись образцы морского зоопланктона Северного Ледовитого океана и Чёрного моря, а также стандартные образцы химического состава животных и растительных тканей. Предметом исследования были способы определения элементного и молекулярного состава зоопланктона (и взаимосвязей этих составов) с использованием ЛИЭС, СКР света и методов хеометрики.

Работа состоит из введения, списка сокращений, трёх глав, заключения и выводов, благодарностей, библиографии и приложения. Общий объём

работы 328 тыс. знаков на 154 страницах, включая 38 рисунков, 18 таблиц, список литературы из 301 наименования и 15 страниц приложений.

ЛИЭС является прямым аналитическим методом, не подразумевающим химического вскрытия анализируемой пробы. Количественный анализ такими методами, как правило, подразумевает построение градуировочных зависимостей с использованием аттестованных стандартных образцов химического состава. В случае биологических тканей число существующих во всём мире стандартных образцов, подходящих по природе матрицы и диапазонам концентраций определяемых элементов, весьма ограничено. Поэтому возникает интерес к подходам, позволяющим обойтись без построения градуировочной зависимости. В ЛИЭС такой анализ предполагает определение температуры и электронной плотности плазмы. Поэтому первая часть **обзора литературы** посвящена рассмотрению особенностей лазерно-индуцированной плазмы (ЛИП) в качестве источника излучения для спектрального анализа. Обсуждаются характеристики ЛИП и основные подходы к спектроскопической диагностике ЛИП с использованием эмиссионных сигналов атомов и молекул. Дано краткое описание основных принципов ЛИЭС, формирования аналитического сигнала, основных узлов аппаратуры. Далее обсуждаются физико-химические аспекты взаимодействия лазерного излучения с биологическими тканями. По данным о зависимости коэффициентов экстинкции и рассеяния от длины волны излучения сделан вывод, что при работе с животными тканями должны быть наиболее эффективны УФ-лазеры на границе ближнего и дальнего УФ-диапазонов. Также освещены вопросы выбора длительности лазерного импульса в связи с температуропроводностью тканей и скоростью звука в них, от которых зависит локализация нагрева и термоупругих напряжений, а в конечном счёте — степень повреждения поверхности образца и воспроизводимость аналитического сигнала. Из этого обсуждения следует, что для анализа биологических тканей методом ЛИЭС необходимы импульсы длительностью менее 10 нс. Наконец, выполненное

диссертантом простое моделирование зависимости интенсивностей аналитических линий типичных для биологических матриц элементов показало, что для получения информативного спектра температура плазмы должна быть не менее 7000 К.

В следующем разделе ЛИЭС рассматривается как аналитический метод, обсуждаются вопросы её практического применения (подготовка проб, метрологические характеристики, матричные эффекты, нормировка сигнала, многомерные градуировки, валовый и локальный анализ, картирование, особые приложения). Описаны работы, посвящённые ЛИЭС без образцов сравнения (ЛИЭС БОС). Так как для подбора условий анализа диссертант применял моделирование ЛИП с помощью алгоритма, разработанного ранее в его лаборатории, в обзоре литературы уделено внимание применению моделирования ЛИП для целей химического анализа.

Третий раздел обзора посвящён спектроскопии КР: описаны её физические основы, упомянуты области применения, указаны способы уменьшения нежелательного сигнала флуоресценции. В четвёртом разделе проведён анализ литературы, посвящённой сочетанию ЛИЭС и СКР, преимущественно на уровне аппаратуры, основанном на временной или пространственной селекции сигналов. Показано, что сочетание ЛИЭС и СКР востребовано при комплексном изучении разнообразных объектов и особенно в космических исследованиях. Так как оба метода дают богатые сигналами спектры, возникает необходимость в их надлежащей математической обработке для эффективного извлечения полезной информации. Поэтому пятый и заключительный раздел обзора содержит краткое рассмотрение хемометрических методов: метода главных компонент (МГК), неотрицательного матричного разложения, анализа независимых компонент, многоблокового МГК и анализа с использованием общих компонент и удельных весов (ComDim).

Во второй главе диссертации (**экспериментальная часть**), состоящей из 10 разделов, описаны экспериментальные методы, вспомогательные

программы и технические параметры установок и приборов, использованных для спектроскопического изучения зоопланктона, а также даны сведения об изучаемых образцах зоопланктона и стандартных образцах химического состава, использованных в представленной работе. Образцы зоопланктона были отобраны в морях Северного Ледовитого океана и в Чёрном море в ходе экспедиций Института Океанологии им. П.П. Ширшова РАН. Животных анализировали после прессования в таблетки.

Исследование состоит из двух взаимосвязанных частей: 1) качественная оценка вещественного состава, валовый элементный анализ зоопланктона; и 2) совместный анализ данных ЛИЭС и СКР методами хеометрики для выявления взаимосвязей между элементным и вещественным составом организмов зоопланктона (исследовательский анализ). Первая часть работы выполнена на собранной в лаборатории экспериментальной установке для ЛИЭС. Вторая часть работы выполнена в рамках сотрудничества с Университетом г. Сегеда (Венгрия) на серийно выпускаемом оборудовании, предназначенном для локального анализа методами СКР и ЛИЭС с высоким пространственным разрешением.

В работе было проведено сравнение гармоник испаряющего лазера с импульсами наносекундной длительности в отношении метрологических характеристик получаемого эмиссионного сигнала ЛИП; в результате сравнения для дальнейших экспериментов выбрали 4-ю гармонику ($\lambda = 266$ нм). Это согласуется с выводами, сделанными в обзоре литературы.

Для обработки экспериментальных данных диссертант использовал, помимо готовых программных пакетов, ряд компьютерных программ собственной разработки. Они использовались для предварительной обработки спектров, моделирования молекулярного спектра CN для оценки температуры плазмы и обработки изображений ПЗС-детектора для оценки распределения интенсивности сигнала по высоте плазмы.

Основные результаты диссертации и их обсуждение представлены в главе 3 (**обсуждение результатов**), которая состоит из двух разделов.

Первый посвящён количественному элементному анализу зоопланктона методом ЛИЭС, а во втором обсуждается исследование спектров зоопланктона методами хемометрики.

Первая часть главы 3 включает в себя обсуждение временной эволюции лазерной плазмы различных биологических материалов в диапазоне 0.5–2 мкс после лазерного импульса. Сравнение временной динамики температуры и электронной плотности для образцов животной и растительной ткани показало, что условия на ранних задержках после лазерного импульса практически одинаковы для обоих образцов; таким образом, матричные эффекты сглаживаются на ранних временах, что согласуется с литературными данными. Явной корреляции между параметрами плазмы и элементным составом образцов не наблюдается. Кроме спектров пространственно-интегрированного излучения лазерной плазмы, было исследовано и распределение сигналов по высоте плазмы.

Для облегчения восприятия количественных результатов диссертантом предложена новая метрика — т.н. множитель правильности (МП), показывающий, во сколько раз результат анализа отклоняется от опорного значения. Наилучшее совпадение ЛИЭС и независимого метода (ИСП–АЭС или ИСП–МС) наблюдается для Са и Р. Определение неметаллов оказывается более точным, чем определение металлов. Правильность большей части результатов, полученных без образцов сравнения, сопоставима с результатами анализа с использованием градуировочного графика, сохраняя ту же тенденцию в отношении металлов и неметаллов.

Учёт изменения параметров плазмы в трёх зонах по высоте позволяет добиться наилучшей правильности. Для некоторых отдельных элементов (Na, Р) ЛИЭС БОС с коррекцией параметров источника позволяет получить лучший результат, чем градуировочная зависимость. Таким способом удалось успешно определить литий — элемент, для которого в исследуемых образцах практически невозможно было использовать градуировочную

зависимость из-за отсутствия подходящих по содержанию лития образцов сравнения.

Кроме того, выполнен анализ влияния различных источников погрешностей на воспроизводимость ЛИЭС БОС с помощью закона распространения неопределённости. Показано, что наибольший вклад в дисперсию соотношения элемент/углерод вносят два источника: неопределённость температуры и интенсивностей эмиссионных линий. Оставшаяся часть погрешности (в среднем 18 %) обусловлена неопределённостью вероятностей переходов. Вклад электронной плотности пренебрежимо мал по сравнению с другими слагаемыми.

Второй раздел обсуждения результатов посвящён исследованию взаимосвязей элементного и молекулярного состава зоопланктона методами ЛИЭС и СКР. Для изучения взаимосвязей между особенностями их элементного и молекулярного состава провели совместное изучение спектров ЛИП и КР, полученных в широком спектральном диапазоне от 29 образцов зоопланктона. Предложенный алгоритм объединения спектров позволил, чтобы каждому образцу соответствовал один составной спектр, содержащий всю имеющуюся информацию о данном образце. Применение метода неотрицательного матричного разложения (NMP) позволило установить корреляцию между Li, K и каротиноидами, а также связь между Li, Na, K, Mg и полосами КР аминокислот.

Полученные экспериментальные результаты не вызывают сомнения. Использование современного оборудования, корректное применение методов статистической обработки результатов эксперимента, а также апробация результатов исследования на научных конференциях вкупе с 5 статьями в рецензируемых научных журналах, индексируемых международными базами данных (Web of Science, Scopus, RSCI) и рекомендованных в диссертационном совете МГУ по специальности 1.4.2. Аналитическая химия позволяет утверждать о высокой достоверности полученных результатов и выводов диссертационного исследования.

Автореферат отражает содержание и положения диссертационной работы. Основные результаты в полной мере отражены в журналах, входящих в международные базы данных (Web of Science, Scopus, RSCI) .

По представленной работе имеются некоторые замечания и пожелания:

1. Аналитический метод анализа вещества характеризуется диапазоном концентраций определяемых элементов, для которого этот метод может быть применим. В диссертации следовало бы указать диапазон концентраций применимости метода ЛИЭС БОС для полуколичественного определения элементов при анализе зоопланктона.
2. Неравномерность распределения определяемых элементов по поверхности анализируемого образца влияет на погрешность определения среднего значения концентрации определяемых элементов. Так же на погрешность определения среднего значения влияет локальность пробоотбора. Следовало бы привести оценку необходимого количества лазерных импульсов для сведения к минимуму влияния неоднородности распределения на погрешность определения среднего значения.
3. На мой взгляд необходимо более подробно обосновать введения новой метрологической характеристики анализа – множитель правильности. Хотя этот показатель можно отнести к научной новизне данной работе.
4. Поскольку анализируемыми образцами являются прессованные таблетки, абляция (пробоотбор) происходит с поверхности таблетки, как влияют условия прессования (возможность загрязнения поверхности таблетки) на окончательные результаты анализа.
5. Метод ЛИЭС БОС (Без Образцов Сравнения) для получения количественных данных требует знания концентрации в анализируемом образце хотя бы одного элемента. Можно ли этот метод называть методом БОС?

Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 1.4.2 Аналитическая химия (по химическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова, а также оформлена согласно требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова.

Таким образом, соискатель Сушков Николай Иванович заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.2 Аналитическая химия.

Официальный оппонент:

доктор технических наук, профессор, главный научный сотрудник аналитического отдела Федерального государственного бюджетного учреждения науки Ордена Ленина и Ордена Октябрьской Революции Институт геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского Российской академии наук (ГЕОХИ РАН)

ЗУЕВ Борис Константинович

Контактные данные:

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация:

02.00.02 – «Аналитическая химия»

Адрес места работы:

119991, г. Москва, ул. Косыгина, д. 19,

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Ордена
Ленина и Ордена Октябрьской Революции Институт геохимии и
аналитической химии им. В.И. Вернадского Российской академии наук
(ГЕОХИ РАН), аналитический отдел