

## **ОТЗЫВ**

**официального оппонента на диссертацию Тарасова Сергея Евгеньевича «Свойства биосенсоров и микробных топливных элементов при исследовании методом импедансной спектроскопии», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06– биотехнология (в том числе бионанотехнологии)**

Важнейшими направлениями развития современной биоэлектроники являются совершенствование биосенсорных систем и работы, направленные на создание имплантируемых топливных элементов. Сейчас в мире активно формируется инновационный потенциал по созданию мультимодальных автономных сенсорных систем, способных осуществлять мониторинг основных биохимических показателей организма, технологических процессов и состояния окружающей среды. В этом отношении систематическое исследование свойств новых и существующих биоаналитических комплексов, в частности, использующих методы импедансной спектроскопии (ИС), представляет огромный интерес. Учитывая сказанное выше, можно утверждать, что тема диссертационной работы Тарасова Сергея Евгеньевича «Свойства биосенсоров и микробных топливных элементов при исследовании методом импедансной спектроскопии» представляется вполне актуальной и направлена на решение одной из важнейших задач современной биоэлектроники.

В соответствии с выбранной темой соискатель изучал свойства систем на основе микробных клеток и их фрагментов при использовании их в составе биосенсоров и биотопливных элементов методом электрохимической импедансной спектроскопии.

В рамках диссертационной работы были сформулированы и решены следующие задачи:

- созданы лабораторные модели и исследованы параметры импедансометрических биосенсоров на основе ферментов и целых клеток микроорганизмов для детекции глюкозы и этанола;
- методами ИС проанализированы особенности изменения характеристик микробных топливных элементов при модификации биоанодов наноматериалами и предложены способы повышения их мощности;

- исследованы возможности метода ИС для регистрации разрушения бактериальных клеток ферментным препаратом – лизоамидазой, а также для регистрации электропорации мембран дрожжей;

- исследованы характеристики функционирования модифицированных биотопливных элементов при конвертерном накоплении электроэнергии, а также при имплантации разработанных микробных БТЭ в живой организм.

Таким образом, задачи работы соответствуют основным практически значимым направлениям развития биоэлектроники в части совершенствования биосенсорных и биотопливных элементов.

Работа содержит следующие основные главы: введение, обзор литературы, главу материалы и методы, главу результаты и их обсуждение, заключение и выводы. Кроме того, диссертация содержит список используемых сокращений, список цитируемой литературы, содержащий 251 ссылку. Работа изложена на 150 страницах, содержит 54 рисунка и 32 таблицы.

Глава **Введение** посвящена формулировке актуальности, цели и задач диссертации. В этой главе отражены научная и практическая значимость работы, описан личный вклад автора в работу и благодарности, а также структура, объем диссертации и положения, выносимые на защиту. Глава написана чётко и ясно.

Глава **1** представляет собой обзор литературы, отражающий современное состояние в области электрохимических биосенсоров и использования метода ИС при исследовании свойств биотопливных элементов. Эта часть работы показывает высокий уровень информированности автора в исследуемой им области и демонстрирует способность Сергея Евгеньевича анализировать литературный материал и выделять важнейшие точки развития выбранного направления.

В плане замечаний по главе **Обзор литературы** можно сказать о необходимости более полного раскрытия вопросов, связанных с современными методами ИС, в частности при создании высокочувствительных иммуносенсоров. При обсуждении биотопливных элементов в списке цитируемых авторов я не нашел таких признанных ученых как Карл Шуман, Ула Воленбергер, Анатолий Шлеев. Некоторые разделы Главы **1** излишне кратки. Так при описании работ по

иммобилизации ферментов и других «узнающих» элементов биосенсоров автор не нашел места для описания технологии последовательной адсорбции полиэлектролитов. Излишняя краткость видна и при изложении материала, посвященного прямому переносу электронов с электрода на активный центр фермента. Сергей Евгеньевич даже не упомянул тех, кто открыл это удивительное явление – наших отечественных ученых Варфоломеева С.Д., Ярополова А.И. Богдановскую В.А, Тарасевича М.Р..

Следует отметить, что указанные недостатки не портят общего положительного впечатления от этой части работы С.Е Тарасова.

Глава МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ написана четко и ясно. Этот раздел демонстрирует исключительно высокий методический уровень работы С.Е. Тарасова и вселяют твёрдую уверенность в достоверности полученных экспериментальных данных и надёжности экспериментально-методической базы выполненного исследования.

Глава РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ посвящены изложению и обсуждению результатов решения основных задач работы. Последовательность изложения результатов работы соответствует поставленным задачам. Проведенные исследования можно разделить на несколько этапов. Первое, была проведена оценка возможности использования метода ИС для определения параметров биологических систем. Метод ИС был использован в качестве основы преобразователя для создания биосенсоров для определения глюкозы и этанола. При этом в качестве биоматериала были проверены как отдельные ферменты, так и целые микробные клетки. Далее метод ИС был применен для характеристики различных аспектов работы микробных БТЭ. Было оценено влияние конфигурации элемента на параметры его работы, а также отслеживалось улучшение характеристик БТЭ при изменении параметров биоанода. В процессе работы изменялся материал электродов, биокатализатор и способ его иммобилизации, использовались углеродные наноматериалы, и была выбрана комбинация с наибольшей эффективностью генерации электричества. Все параметры данных БТЭ оценивались как с помощью метода ЭИС, так и с помощью методов циклической

вольтамперометрии и хроноамперометрии. Метод ИС был использован для регистрации процессов клеточного лизиса или электропорации клеточных мембран, для чего был исследован импеданс суспензий различных микроорганизмов сначала в интактном состоянии, а затем после разрушающего внешнего воздействия. Полученные результаты были использованы для практического применения разработанных микробных БТЭ. Система из нескольких связанных микробных топливных элементов была использована для конвертерного накопления электричества, а микробный БТЭ с электродами из ТРГ был имплантирован в организм живой травяной лягушки *Rana Temporaria*. Цикл проведенных исследований представляется мне оригинальным и логически выстроенным.

Экспериментальная часть работы С.Е. Тарасова не лишена и ряда недостатков. Эти недостатки можно разделить на две группы.

К первой группе я бы отнёс замечания, связанные с недостаточной точностью и неполнотой описания экспериментальных данных. Так при описании и анализе градуировочных зависимостей биосенсоров (стр. 65 - 74) не проведено вычисление пределов обнаружения соответствующих аналитов. В таблицах 1,2, 3, и 4 используются неопределенные в тексте параметры «стабильность при хранении без снижения активности» и «операционная стабильность».

Ко второй группе замечания можно отнести излишний оптимизм в отношении простоты и низкой стоимости разработанных сенсоров биосенсорных систем для определения глюкозы спиртов и т.д.

Однако высказанные замечания не искажают общего положительного впечатления от работы С.Е. Тарасова. Результаты, полученные автором, содержат вполне определенные признаки научной новизны и имеют неоспоримую практическую значимость.

Основные результаты диссертации опубликованы в 25 печатных работах, в том числе в 7 статьях (6 статей в рецензируемых журналах из списка ВАК), 17 тезисах и 1 патенте на изобретение.

Автореферат и опубликованные работы отражают основное содержание диссертации.

Таким образом, диссертация Тарасова Сергея Евгеньевича «Свойства биосенсоров и микробных топливных элементов при исследовании методом импедансной спектроскопии» является научно-квалификационной работой, выполненной под руководством доктора химических наук, профессора Решетилова Анатолия Николаевича, в которой методами импедансной спектроскопии проведено оригинальное исследование свойств систем на основе микробных клеток и их фрагментов при использовании в составе биосенсоров и биотопливных элементов. Совокупность полученных результатов можно квалифицировать как новое решение актуальной задачи, имеющее важное значение в деле развития биоэлектроники. Можно утверждать, что полученные результаты соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор Тарасов Сергей Евгеньевич заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности «03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии)».

**Официальный оппонент,  
доктор химических наук, профессор,  
директор ФГБУН «Институт биохимической  
физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук»  
119334, Москва, ул. Косыгина д.4,  
+7(499) 137-6420, [director@sky.chph.ras.ru](mailto:director@sky.chph.ras.ru)**



**И.Н. Курочкин**

29.12.201

Собственноручную подпись  
сотрудника И. Н. Курочкина  
удостоверяю Зас. Казыриной: ЗИИ

