

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Архаровой Натальи Андреевны на тему  
СТРУКТУРА КОМПОЗИТОВ НА ОСНОВЕ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ *GLUCONACETOBACTER*  
*XYLINUS* И НАНОЧАСТИЦ РАЗЛИЧНОЙ ПРИРОДЫ,  
представленной на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук по  
специальности 01.04.18 – кристаллография, физика кристаллов

Диссертационная работа Архаровой Н.А. посвящена изучению строения композитов на основе бактериальной целлюлозы – объектов, которыми очень давно и успешно занимаются в многочисленных организациях мира. В связи с тем, что в России, как мне известно, в настоящее время нет действующих производств этого уникального вещества, с точки зрения свойств и широты применений (прежде всего в медицине), проводимые исследования в данной области ультраактуальны. Для нахождения оптимальных условий получения, отвечающих предъявляемым к данным материалам требованиям (чистота, безопасность, эффективность и т.п.), необходимо иметь подробную информацию о структуре композита в целом и каждого его компонента как в исходном виде, так и в составе композита. Это в свою очередь требует обоснованного выбора и применения адекватных, взаимодополняющих, надежных, информативных, необходимых и достаточных методов исследования структуры как полимерной матрицы, так и включенных в нее наночастиц. Все вышеперечисленное запланировано и реализовано в диссертационной работе Архаровой Н.А., в которой представлен комплекс структурных исследований композитов на основе целлюлозы *Gluconacetobacter xylinus* с селеном, селеном и серебром, а также нанокристаллами гидроксиапатита. Из всего вышесказанного следует *актуальность и перспективность* выбранной темы исследования, а также, забегая немного вперед, и *новизна*, и *практическая ценность*, и *востребованность* полученных результатов.

Рукопись диссертации представлена традиционно: введение, обзор литературы (*Глава 1*), описание экспериментальной части работы (*Главы 2 - 5*), заключение, выводы, список цитируемой литературы (185 наименования), включающие работы с 1935 г (в основном, ранние работы относятся к классическим методам исследования и их теоретическому аппарату) по 2017 г; работа изложена на 142 страницах машинописного текста с 61-им рисунком и 5-ью таблицами. Каждая глава делится на разделы, в конце которых приведены выводы, которые коротко подводят итоги описанного или сделанного, что представляется очень удачным, дающим возможность проследить за ходом проведенного исследования и сделать анализ и сопоставление.

*Во введении* довольно аргументировано диссертант объясняет актуальность выбранной темы работы. Ею представлена цель работы и сформулированы задачи, которые надо решить для достижения цели, перечислены объекты исследования.

*Глава 1* (ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР). Приведенный соискателем литературный обзор довольно краткий (иногда даже излишне краткий!), но вполне информативный и достаточный для понимания выполненных до настоящего исследований в данной области: методы изучения строения полимерных систем (экспериментальные: дифракционные, методы сканирующей и высокоразрешающей просвечивающей электронной микроскопии и методы выявления текстуры, а также методы компьютерного моделирования), структура nano-гель-пленки бактериальной целлюлозы (механизмы биосинтеза, микроструктура, морфология, свойства), особенности композитов на основе бактериальной целлюлозы (взаимодействие наночастиц в присутствии полимера и целлюлозы; получение, строение и свойства композита в системе целлюлоза- гидроксилапатит). Соискателем проведен

критический анализ применяемых методов исследования подобных систем и методик, позволяющих их исследовать в нативном состоянии (метод естественной среды) без разрушения с высоким разрешением. Показаны возможности и ограничения дифракционных методов в зависимости от источника излучения и методов электронной микроскопии как сканирующей, так и высокого разрешения, и очень коротко, практически перечислением, даны методы изучения текстуры полимерных систем.

В диссертационной работе Архаровой Н.А. нет ничего лишнего: выполненный литературный обзор и его систематика по разделам необходимы соискателю для плавного перехода к своим собственным объектам исследования и методическим применяемым подходам.

В Главе 2 («МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ») автором диссертации представлены и описаны объекты исследования как исходные (целлюлоза *Glucacetobacter xylinus* –ЦГХ, наночастицы селена, селена и серебра и нанокристаллы гидроксилапатита), так и нанокompозиты с их участием, включая способы получения последних, и методики их приготовления для дальнейших исследований, причем вид полученных объектов подтвержден фотографиями.

Довольно подробно описано получение композитов в системе бактериальная целлюлоза-гидроксилапатит (ГАП) тремя способами при сохранении одинаковыми массовых соотношений компонентов: механическое смешивание водных суспензий нанокристаллов гидроксиапатита и нано-гель-пленки ЦГХ/ГАП, синтез наночастиц гидроксиапатита в присутствии фибриллярных фрагментов суспензии ЦГХ синтеза целлюлозы GX при введении в питательную среду ГАП.

Известно, что с понижением размерности объектов резко увеличивается число методов для их полной или относительно полной характеристики. При этом возникает проблема обоснованного выбора необходимых и достаточных, информативных и надежных методов и методик для решения поставленных задач, что и было сделано диссертантом. На основе грамотного объяснения диссертантом были выбраны дифракционные методы (рентгенография и электронография) для проведения статистического объемного фазового анализа большого объема образцов, выявления наличия текстуры в композитах и изучения межфазных контактов, а также локального фазового анализа, наличия текстуры на макро-, микро- и наноуровнях.

Особенно подробно и профессионально описаны применяемые в диссертационной работе методы структурной диагностики (рентгенография и электронография и комплекс методов электронной микроскопии), их теоретический аппарат и методические сложности (в частности, уменьшение энергии взаимодействия электронного пучка с материалом минимизируют радиационные повреждения, но ухудшают разрешения - СЭМ) и предлагаемые пути их решения (в частности, путем усовершенствования объективной линзы микроскопа, а также с помощью метода «тормозящего излучения»-ПЭМ). Кроме того, был выполнен элементный анализ композитов с математической обработкой результатов. Надо заметить, что соискатель в своей работе применяла довольно много коммерческих программ для обработки изображений, количественных расчетов, моделирование картин электронной дифракции с описанием теоретического аппарата, лежащих в основе того или иного метода.

Изученные физико-химические свойства композитов «привязаны» к дальнейшему их использованию в качестве наполнителя костных дефектов или заместителя костной ткани: плотность, пористость, объем пор, площадь удельной поверхности, модуль Юнга, разрывная прочность. В этом же разделе описаны применяемые для этой цели методы и методики.

С *Главы 3* («МАТРИЦА ЦЕЛЛЮЛОЗЫ *GLUCONACETOBACTER XYLINUS*: ТЕКСТУРА И ОСОБЕННОСТИ МОРФОЛОГИИ») фактически начинается представление результатов диссертационной работы. В начале *Главы 3* диссертант описывает проблемы изучения бактериальной целлюлозы электронно-микроскопическими методами и ставит методические задачи, которые необходимо решить, и далее представлены пути их решения и результаты. В частности, был сделан очень важный методический вывод о связи энергии первичных электронов с максимальной глубиной выхода обратно рассеянных электронов и порога глубины получаемой информации о структуре нано-гель-пленки ЦГХ. Оптимизация методики съемки позволила Архаровой Н.А. детально исследовать методом СЭМ морфологию поверхности нано-гель-пленки ЦГХ, а также композитов на ее основе без предварительного напыления защитного покрытия на поверхность образца, приводящего к искажению реальной структуры объекта, а также получить ряд важных характеристик матрицы (морфология, размеры пор) как исходной, так и дезинтегрированной, как на верхней, так и нижней поверхности образца, и провести их сопоставление.

В *Главе 4* («СТРУКТУРА КОМПОЗИТОВ НА ОСНОВЕ НАНО-ГЕЛЬ-ПЛЕНКИ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ *GLUCONACETOBACTER XYLINUS* И НАНОКОМПЛЕКСОВ СЕЛЕНА») соискатель описывает строение наночастиц селена в коллоидном растворе и композитов с участием нано-гель-пленки ЦГХ и селена и селена совместно с серебром, что важно для прикладных целей медицинского назначения. Ею было четко показано, что интеркаляция наночастиц селена в гель-пленку бактериальной целлюлозы приводит к его кристаллизации и изменению симметрии, а добавление небольшого количества серебра принципиально меняет наблюдаемую картину: меняется морфология частиц, наблюдается их химическое взаимодействие (появляются новые фазы). Безусловно, диссертантом получен новый результат, который говорит об осторожности применения таких композиций в качестве раневых покрытий.

*Глава 5* («МОРФОЛОГИЯ, СТРУКТУРА И СВОЙСТВА КОМПОЗИТОВ НА ОСНОВЕ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ *GLUCONACETOBACTER XYLINUS* И НАНОКРИСТАЛЛОВ ГИДРОКСИАПАТИТА») посвящена композитам, содержащим гидроксилapatит: сначала описана структура нанокристаллов гидроксилapatита, а затем структурные особенности композитных пленок на основе нано-гель-пленки ЦГХ и нанокристаллов гидроксилapatита, полученных тремя разными способами, и специфика их свойств. Эта глава представляется наиболее важной с точки зрения применения описываемых объектов – поиск, разработка метода и условий получения и физико-химические свойства биоматериалов, обладающих наиболее близкими характеристиками к естественной кости. Диссертант очень подробно описала способы получения композитов (механическое смешение и *in situ*) с их структурными особенностями и найденными элементами микроструктуры и морфологии: ориентация нанокристаллов гидроксилapatита, размер наночастиц всех уровней и его связь с исходным составом композитов. Самый главный результат как этой главы, так и всей диссертации - найденная корреляционная связь толщины нанокристаллов гидроксилapatита в композитах с аналогичными толщинами в костной ткани. Это позволило соискателю предложить модель реконструкции костной ткани с использованием композита на основе ЦГХ и нанокристаллов гидроксилapatита.

Безусловно, в *Главах 3-5* проявился «электронно-микроскопический» кругозор Архаровой Н.А., прекрасное знание кристаллографии, методов и методик и их математической основы, тонкостей и всех «подводных камней» эксперимента, понимания специфики объектов исследования и, конечно, видна научная школа проф. Клечковской В.В.

Раздел «ЗАКЛЮЧЕНИЕ» и «ВЫВОДЫ» подводят итоги проведенного исследования с пятью развернутыми выводами, которые перекликаются с положениями, выносимыми на защиту, но сформулированными во введении в краткой форме.

#### **Научная и практическая значимость работы.**

В результате проведенной работы Архарова Н.А. получила новые, не имеющие аналогов, *научные и практические* результаты, которые взаимосвязаны друг с другом (например, новый метод получения композита ЦГХ/ГАП и выявленные корреляционные связи, позволяющие управлять размерами нанокристаллов гидроксиапатита).

К *научным результатам* следует отнести, прежде всего, установленный характер проникновения наночастиц в архитектуру нано-гель-пленки, выявленная роль морфологических особенностей нано-гель-пленки в распределении наночастиц Se на ее поверхностях и в глубине, найденное изменение состава и морфологии наночастиц при введении в нано-гель-пленку ЦГХ наночастиц из растворов, содержащих одновременно ионы Se и Ag. Можно и дальше продолжить перечисление полученных новых *научных результатов* для каждого изученного Архаровой Н.А. объектов, подтверждением которых служит поддержка ее работ двумя грантами РФФИ (эта существенная деталь работы соискателя не представлена в автореферате) и премии имени академика Н. В. Белова (молодежный конкурс Института кристаллографии им. А.В. Шубникова РАН).

Самый главный *практический результат* говорит сам за себя: получен новый нетоксичный и биосовместимый материал в системе бактериальная целлюлоза - гидроксилапатит, который может быть рекомендован в качестве костного имплантата с контролируемым градиентом физико-химических характеристик для целенаправленного замещения естественной кости. Это открывает дальнейшие заманчивые перспективы проводить 3D-принтирование данного материала для воссоздания точной копии костного аналога. Другой разработанный и созданный диссертантом материал с нано-гель-пленкой бактериальной целлюлозы и селена – раневое покрытие, готовое к апробации в профильных учреждениях - Военно-медицинской академии на кафедре термических поражений и Санкт-Петербургской медицинской академии последипломного образования на кафедре скорой помощи в качестве перевязочных материалов нового поколения с широким профилем фармакологической активности.

В диссертационной работе Архарова Н.А. представила новые методические разработки, адаптированные к исследованным ею объектам, но которые могут быть использованы при изучении органо-неорганических гидрогелей других композиций.

Хотелось бы отметить грамотную *методологию исследования*, лаконизм и доказательность представленных результатов, хороший русский язык и научный, высокую квалификацию Архаровой Н.А. как «методиста», о чем свидетельствует тщательная проработка экспериментальных данных, их описание, сопоставление исходных веществ и их же в составе композитов, сформулированные выводы, умелое применение теоретического моделирования, а также ее профессионализм, который проявился, в том числе, и при личных беседах.

Замечу, что диссертационная работа Архаровой Н.А. имеет и образовательный аспект: автор диссертации представила практически все ипостати электронной микроскопии и имеющиеся к настоящему времени информацию об изученных объектах и реальных или перспективных областях применения.

#### **Замечания:**

1. Есть результаты работы (научные, практические), которые представила соискатель в своей работе, а есть положения, выносимые на защиту. В диссертационной работе во введении есть рубрика «Основные результаты и научные положения, выносимые на защиту», которые, по сути, являются результатами работы или выводами, а положения, как таковые, в

диссертации и автореферате отсутствуют. (Согласно толковому словарю С.И.Ожегова, Положение «Научное утверждение, сформулированная мысль. Основные положения исследования»).

2. Наверно, следовало бы более правильно называть объекты исследования не композиты, а нанокompозиты, согласно широко распространенному и очень короткому определению: «Нанокompозит — многофазный твердый материал, где хотя бы размеры одной фазы в одном из направлений меньше ста нанометров». Кроме того, мне кажется, что вместо слова нано-гель лучше использовать слово нано-гидрогель, так как диссертант указывает, что «Бактериальная целлюлоза (БЦ) ....., состоящая из сетки кристаллических микрофибрилл и лент, и содержащая в своем объеме до 98% воды».

3. Конечно, я прекрасно понимаю, что работа Архаровой Н.А. ограничена поставленной целью и сформулированными задачами, которую она достигла и которые она полностью решила выбранными и обоснованными методами исследования. Однако, когда идет речь о нативном и высушенном состояниях (гидро)гелей, водных растворах и водородной связи, конечно, хотелось бы увидеть результаты применения таких методов как дифференциально сканирующая калориметрия и(или) ИК-спектроскопия. Да и вообще, последний метод в данной работе был бы не лишним (например, для первого и четвертого положений научной новизны).

4. Диссертант в своей работе изучает гидроксилapatит в разном виде (как в исходном, так и в составе композита), рассматривает и описывает этот апатит в составе костей. Однако я не нашла четкого доказательства, что это гидроксилapatит именно такого указанного в диссертации постоянного состава (т.е. не дефектный), а не карбонатгидроксилapatит или карбонатапатит либо твердый раствор на основе гидроксилapatита (т.е.. фаза переменного состава), которые также являются биоминералами, довольно близкими между собой по рентгенометрическим данным. Кроме того, согласно литературным источникам, апатиты, входящие в состав патогенных и непатогенных биоминеральных образований в организме человека, имеют разный состав и строение, и с возрастом у человека наблюдается изменение его состава. Это очень важно и в связи с положением (стр. 42): «Таким образом, ближайшее будущее биоматериалов для имплантации будет создание материала с управляемыми характеристиками, которые будут отвечать потребностям пациента в каждом конкретном случае».

5. Некоторые экспериментальные результаты не до конца описаны и проанализированы. Например, нет общего сравнения образцов в нативном и дезинтегрированном состояниях на основании дифрактограмм, представленных на рис. 3.13. Они явно отличаются по степени аморфности, причиной чего может быть обработка исходного образца, что не было учтено при описании результатов. Из дифрактограмм явно не наблюдается (без соответствующей оценки интегральных интенсивностей) последующий вывод (стр. 74): «...присутствие интенсивного рефлекса 110 ( $2\theta = 17^\circ$ ) по сравнению с менее интенсивным рефлексом  $\bar{1}10$  ( $2\theta=15^\circ$ ) показывает, что высушенная пленка, полученная на основе дезинтегрирования ЦГХ, обладает аксиально–плоскостной текстурой, аналогичной текстуре исходной гель- пленки целлюлозы GX». Точно такое же визуальное соотношение интенсивностей для тех же отражений видно на дифрактограмме нативной пленки.

6. В табл. 4.1. приведены кристаллографические данные для двух фаз  $Ag_2Se$ , которые отличаются пространственными группами при одинаковых параметрах элементарной ячейки. Отсюда вопросы: Это гомеоморфные фазы? Или в работе [181] приведена уточненная структура, представленная в работе [182]? Чем отличаются кристаллические

структуры этих двух фаз? Почему был сделан выбор соискателем в пользу первого варианта (пр. гр. P2<sub>1</sub>2<sub>1</sub>2<sub>1</sub>)?

7. В диссертационной работе прекрасно представлен эксперимент и полученные экспериментальные результаты, достоверность которых не вызывает сомнений. Однако хотелось бы увидеть интерпретацию наблюдаемых эффектов и ответов на вопросы: Почему меняется морфология частиц при совместном введении в нано-гель-пленки ЦГХ наночастиц из растворов, содержащих одновременно ионы Se и Ag? Что способствует образованию «в композите ..... нанопроволок тригонального Se на его поверхности»? Почему в отличие от «наночастиц нанопроволоки содержат исключительно селен»? С чем связана кристаллизация аморфного селена и изменение его симметрии в составе композита? С условиями получения композита или влиянием микроструктуры матрицы?

#### **Заключение.**

Диссертация является законченной научно-исследовательской работой. Поставленные цели и задачи в сформулированном виде достигнуты и решены, полученные результаты не вызывают сомнения. Автореферат, статьи и тезисы докладов правильно и полно отражают содержание диссертационной работы.

Диссертация соответствует требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 года, и является научно-квалификационной работой, в которой *представлены оптимальные условия получения и результаты изучения структуры всех размерных уровней и ряда физико-химических свойств востребованных, перспективных, актуальных композитов на основе бактериальной целлюлозы с частицами селена и серебра, гидроксилпатита, на основании чего выявлена фундаментальная связь «состав-строение-условия получения-свойства», имеющие важное значение в медицине, биотехнологии, биологии, а также в материаловедении функциональных объектов.*

Автор диссертации Архарова Наталья Андреевна, несомненно, заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 01.04.18 (кристаллография, физика кристаллов).

Официальный оппонент:

Профессор кафедры Материаловедения и технологии функциональных материалов и структур (МиТФМиС)

Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский технологический университет», МИТХТ

доктор химических наук, профессор  
25 августа 2017 г.



Г.М. Кузьмичева

Адрес: Россия, Москва, 119571, пр. Вернадского, 86, (МИТХТ)

Телефоны: +7(495) 246 05 55 (доб.434); +7 916 600 62 03

Электронная почта: galina\_kuzmicheva@list.ru

Подпись официального оппонента проф., д.х.н. Г.М. Кузьмичевой заверяю:

Первый проректор

ФГБОУ ВО «Московский технологический университет»



Н.И. Прокопов