

УТВЕРЖДАЮ

Проректор Федерального государственного  
бюджетного образовательного учреждения высшего  
образования «Московский государственный  
университет имени М.В.Ломоносова» (МГУ),  
начальник Управления научной политики

Доктор физико-математических наук, профессор



*А.А. Федянин*  
А.А. Федянин

*16 сентября* 2022 г.

### ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

*На диссертационную работу Настулявичус Алены Александровны*

*«Генерация наночастиц металлов подгруппы меди лазерным излучением и их антибактериальное применение», представленную на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 1.3.19 – Лазерная физика*

Диссертационная работа Настулявичус Алены Александровны «Генерация наночастиц металлов подгруппы меди лазерным излучением и их антибактериальное применение» посвящена экспериментальной оценке эффективности генерации модельных наночастиц золота под воздействием мощных лазерных импульсов ближнего инфракрасного диапазона субпико-, пико- и наносекундной длительности с различными энергиями при переменной экспозиции лучом мишени и положения его фокуса в водной среде; установлению определяющих эффективность генерации физических процессов; разработке лазерных методов инактивации бактериальных биопленок пищевых патогенов с помощью наночастиц металлов подгруппы меди (золото, серебро, медь).

В настоящее время наночастицы металлов все шире и шире находят применение в таких биомедицинских приложениях, как борьба с вирусами и бактериями, гипертермия злокачественных опухолей, контрастирование биологических тканей и адресная доставка лекарств. В значительной мере данные успехи обусловлены малым размером наночастиц, что существенно упрощает их введение и выведение из организма, снижает уровень токсичности и способствует адресной доставке в больные ткани, не затрагивая здоровые. В ряде случаев играют важную роль плазмонные и магнитные свойства металлических наночастиц.

Изготовлению таких наночастиц посвящено множество работ, апробированы сопутствующие технологии и в ряде случаев проведены клинические испытания с последующим внедрением на практике. Активно проводятся исследования по нанобезопасности на животных и людях.

Отдельным кластером в данном направлении является использование наночастиц металлов в виде коллоидных взвесей и суспензий, которые представляют несомненное удобство при хранении, транспортировке и применении. Широко распространены химические методы синтеза данных наносистем. Однако, несмотря на широкие

возможности масштабирования таких технологий, они зачастую имеют ряд существенных недостатков, связанных с наличием нежелательных примесей и дефектов на поверхности и в объеме наночастиц после химической обработки, что может обуславливать так называемую вторичную токсичность и ухудшение функциональных свойств ввиду недостаточной химической чистоты синтезированных наночастиц. В связи со сказанным активно развиваются альтернативные технологии. Одной из них является метод лазерной абляции наночастиц при облучении в жидкостях мощными лазерными импульсами твердотельных мишеней соответствующих металлов. Его преимуществами являются, как возможность генерации коллоидов наночастиц, непосредственно готовых к использованию, так и возможность практически полностью избежать нежелательных химических примесей. Подбор состава буферных сред, времени экспозиции, параметров лазерных импульсов и условий фокусировки последних позволяет варьировать размеры наночастиц в широких пределах. Основным недостатком метода является его относительно высокая стоимость, обусловленная необходимостью использования мощных лазеров с высокой частотой повторения импульсов. В противном случае технология лазерной абляции подразумевает облучение в течение долгого времени для генерации необходимого для применения на практике количества наночастиц, что в итоге также не позволяет уменьшить затраты на производство. Поэтому задача изучения и повышения эффективности генерации металлических наночастиц методом лазерной абляции в жидкостях, несомненно, является актуальной.

В представленной диссертационной работе автор в качестве объекта исследования выбрала наночастицы металлов подгруппы меди: золото, серебро, медь. Такие наночастицы представляются перспективными для использования в биомедицинских приложениях благодаря их явно выраженным антибактериальным и плазмонным свойствам. В настоящее время работы, посвященные технологиям лазерной абляции перечисленных выше металлов, носят достаточно разрозненный характер, не позволяющий однозначно сформулировать основные положения относительно эффективности генерации наночастиц в зависимости от энергетики, длительности, числа и условий фокусировки на мишень в жидкости лазерных импульсов. В представленной диссертации на примере абляции золота в воде ставятся задачи не только обозначить пути достижения максимальной эффективности выхода продуктов абляции с последующей агрегацией в наночастицы на практике, но и дать максимально полное описание влияния перечисленных параметров лазерных импульсов на процесс генерации частиц с фундаментальной точки зрения, что обеспечивает несомненную комплексность проведенного исследования. Дополнительно в диссертации ставится и достаточно успешно решается задача разработки инновационных методов инактивации бактериальных биопленок на основе наночастиц, полученных как в результате непосредственной лазерной абляции, так и прямого лазерного переноса из металлических мишеней подгруппы меди в жидкостях. Таким образом, выполненное диссертационное исследование обладает всеми признаками научной новизны.

Диссертационная работа написана на 128 страницах, ее структура следующая:

**Во Введении** сформулированы цели, задачи, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, выносимые на защиту положения и апробация результатов, связанных с проблемой эффективной генерации наночастиц металлов подгруппы меди лазерным излучением в жидкостях и антибактериальному применению таких объектов.

**Глава 1** представляет собой литературный обзор. В ней рассмотрены основные механизмы взаимодействий коротких и ультракоротких лазерных импульсов с металлами, особенности импульсной лазерной абляции в жидкостях и сопутствующего формирования наночастиц из объемных мишеней и тонких пленок, влияющие на эффективность данных

процессов факторы, технология лазерно-индуцированного прямого переноса и использование металлических наночастиц для борьбы с патогенными бактериями.

**В главе 2** описываются использованные для облучения образцы, экспериментальные установки и методики для производства и анализа структурных и оптических свойств наночастиц. Уделено внимание используемым для лазерной абляции лазерам и мишеням, методам электронной, зондовой и оптической микроскопии, энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии, спектрофотометрии, динамического рассеяния света, гравиметрии и расчету пороговой плотности энергии для абляции.

**В главе 3** представлены результаты по изучению эффективности генерации наночастиц в результате воздействия лазерных импульсов на золотую мишень в воде. Проводится всесторонний анализ введенной в диссертационной работе характеристики – эффективности генерации, являющейся произведением коэффициента экстинкции в области межзонных переходов на объем раствора в пересчете на один импульс, от различных параметров излучения. В частности, детально обсуждаются зависимости эффективности генерации и потери массы мишенью от длительности и энергии лазерных импульсов. С целью верификации результатов указывается на качественное совпадение поведения полученных зависимостей для диапазона длительностей импульсов 0.3–10 пс с литературными данными. Важным с практической точки зрения является рассмотрение в диссертации помимо эффективности генерации наночастиц ее значение, нормированное на затраченную энергию при различных длительностях лазерных импульсов, так называемая энергоэффективность. С данной точки зрения лазерные импульсы пикосекундной длительности предпочтительнее фемтосекундных, а относительно наносекундных вообще обеспечивают энергоэффективность в пересчете на единицу энергии импульса излучения на 1–2 порядка выше, поскольку в области наносекундных длительностей возникновение субкритической эрозионной плазмы экранирует поверхность, где происходит абляция. Отдельное внимание уделяется визуализации филаментации фокусируемого лазерного излучения субпикосекундной длительности и анализу зависимостей эффективности генерации золотых наночастиц от положения фокуса в жидкости при различных энергиях и длительностях лазерных импульсов. Показано, что для ультракоротких лазерных импульсов, возможно смещение максимума эффективности генерации наночастиц (потери массы мишени, коэффициента экстинкции коллоида) в сторону центра плазменного филамента, возникновение и положение которого зависит от пиковой мощности излучения и особенностей самофокусировки луча. Дополнительно показано, что в случае лазерной абляции тонких пленок поведение зависимостей эффективности генерации наночастиц от параметров лазерных импульсов в целом коррелирует с наблюдаемыми зависимостями для описанного выше случая абляции объемных мишеней.

**В главе 4** сначала описываются эксперименты по антибактериальному воздействию наночастиц серебра на бактерии золотистого стафилококка, наносимые на покрытия с наночастицами. Стандартные микробиологические тесты окрашивания показали, что большей антибактериальной активностью обладают частицы, полученные при абляции излучением с длительностью импульса 10 пс по сравнению со случаем воздействия лазерными импульсами длительностью 0.3 пс, что связано с большей эффективностью генерации наночастиц в условиях уменьшения вклада нелинейных процессов. Также автор диссертации отмечает, что эффект антибактериальных покрытий на основе наночастиц недолог – после первого применения они становятся непригодными, а их действие даже при первом применении распространяется в основном только на слой бактерий, которые непосредственно соприкасаются с наночастицами. В связи с возникающей необходимостью получения большой концентрации коллоидных наночастиц для инактивации бактериальных биопленок в рамках проводимого исследования был предложен метод лазерно-индуцированного прямого переноса металлических нанопленок на бактериальные

биопленки в виде наночастиц, в результате которого частицы серебра, меди и золота наносятся сверху, непосредственно на бактерии золотистого стафилококка, синегнойной палочки, листерии и сальмонеллы. Микробиологические исследования показали, что наночастицы двух первых металлов обладают выраженными антибактериальными свойствами. Полученные результаты демонстрируют практически полное подавление роста микроорганизмов, что проявляется значительным снижением количества колониеобразующих единиц изучаемых бактерий. При этом наночастицы золота не влияли на жизнеспособность исследуемых микроорганизмов, и количество микроорганизмов оставалось практически таким же, как и в контрольных образцах без наночастиц. Автор связывает антибактериальное действие наночастиц с генерацией ими как активных форм кислорода, так и высвобождением ионов, которые могут проникать в клеточную мембрану и затем взаимодействовать с функциональными группами белков и нуклеиновых кислот. Схожие результаты получены и с бактериальными пленками листерии на различных подложках.

**В Заключение** сформулированы основные результаты диссертации. Далее оформлены список используемых сокращений, благодарности и список цитируемой литературы.

К основным результатам работы можно отнести следующие:

1. При генерации наночастиц золота слабофокусированными ультракороткими лазерными импульсами (0.3–10 пс) с длиной волны 1030 нм в дистиллированной воде (толщина слоя жидкости над поверхностью образца – 2 мм) обнаружено возникновение нелинейного фокуса при достижении критической мощности самофокусировки. Обнаружено смещение максимума эффективности абляции (потери массы мишени, коэффициента экстинкции коллоида) в сторону центра визуализированного с помощью ПЗС камеры плазменного канала, положение которого зависит от пиковой мощности излучения.
2. Для анализа эффективности лазерной генерации золотых наночастиц при сопоставимых параметрах лазерных систем с различной длительностью импульса (субпико-, пико-, наносекундной) был предложен и апробирован критерий сравнения (произведение объема коллоидного раствора на коэффициент экстинкции в области межзонных переходов) в пересчете на импульс и на единицу энергии излучения.
3. Наибольшая эффективность при сравнении субпико-, пико-, наносекундной лазерной генерации золотых наночастиц для длины волны в ближнем инфракрасном диапазоне и частоты следования импульсов 20 кГц при сопоставимых параметрах сканирования в жидкости наблюдается для наносекундной абляции, лимитируемой формированием субкритической эрозионной плазмы. Вместе с тем эффективность на единицу энергии для пикосекундной генерации наночастиц, свободной от влияния нелинейных и плазменных эффектов оказывается выше на 1–2 порядка, чем для наносекундной.
4. Разработан и апробирован эффективный способ инактивации биопленок Грамположительных и Грам-отрицательных бактерий пищевых патогенов на основе метода прямого лазерного переноса (длина волны – 1064 нм, длительность – 100 нс, энергия в импульсе – 0.2 мДж) металлических пленок нанометровой толщины с полимерной подложки в виде наночастиц серебра и меди (по сравнению с золотыми наночастицами) с высокой концентрацией (20–30 мкг/см<sup>2</sup>).

Результаты диссертационной работы А.А. Настулявичус могут быть рекомендованы к использованию в Физическом институте имени П.Н. Лебедева РАН, Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова, Санкт-Петербургском государственном университете, Институте общей физики РАН имени А.М. Прохорова, Национальном исследовательском Томском государственном университете.

Полученные результаты прошли серьезную апробацию на международных конференциях и семинарах Физического института имени П.Н. Лебедева РАН, опубликованы в 7 статьях, удовлетворяющих требованиям ВАК РФ для защиты диссертаций на соискание ученой степени. Запатентован новый способ борьбы с бактериальными биоплёнками.

Несмотря на общее позитивное впечатление диссертационная работа А.А. Настулявичус не лишена ряда недостатков. В этой связи следует сделать ряд замечаний по оформлению и сути:

1. В работе помимо метода лазерной абляции объемных мишеней в воде описываются эксперименты по лазерно-индуцированному прямому переносу наночастиц с тонких пленок на прозрачной для лазерного излучения подложке на колонии бактерий, находящихся на различных поверхностях. Данный метод позволяет в значительной мере увеличить антибактериальную активность наночастиц серебра и меди по сравнению со случаем традиционного высаживания бактерий и частиц на одну поверхность. Автор диссертации указывает на относительно высокую поверхностную концентрацию наночастиц металлов 20–30 мкг/см<sup>2</sup> в случае лазерно-индуцированного прямого переноса. Однако данный метод по сравнению с лазерной абляцией объемных мишеней включает дополнительную предварительную технологическую операцию напыления самой тонкой пленки, что подразумевает усложнение и удорожание технологии. Поскольку в диссертации ищутся оптимальные пути для реализации подобных технологий, следовало бы провести более подробное непосредственное сравнение достоинств и недостатков обоих рассматриваемых методов генерации наночастиц. Также автор не поясняет, почему выбрана именно технология лазерно-индуцированного прямого переноса, а, например, не лазерно-индуцированного обратного переноса.

2. Глава 2, посвященная описанию экспериментальной части исследования, написана всего на 4-х страницах, что представляется явно непропорциональным на фоне остальных достаточно объемных глав. При этом значительная часть описания лазерных и микробиологических экспериментов представлена в последующих главах, а детальное описание ключевых экспериментов по спектрофотометрии, по сути, отсутствует – упоминаются лишь используемый прибор и спектральный диапазон измерений. В то время как следовало бы указать на учет или игнорирование при измерениях экстинкции диффузной компоненты прошедшего через кювету излучения, расстояние между стенками используемых кювет и формулу пересчета измеряемого пропускания в коэффициент экстинкции.

3. Для анализа распределения наночастиц по размерам автор пользуется методикой динамического рассеяния света. Остались непонятными следующие моменты:

- Почему при наличии в работе данных растровой (сканирующей) электронной микроскопии был выбран менее точный метод динамического рассеяния света для проводимого анализа? Ведь в таком случае велика ошибка метода, вносимая не непосредственным, а косвенным измерением гидродинамического радиуса.
- Представление распределений по размерам, когда по оси ординат откладывается интенсивность рассеянного излучения, для проводимого качественного анализа соотношения между фракциями нанометровых и субмикронных наночастиц неуместно. Хотя данный анализ и не влияет на выносимые на защиту положения ввиду дальнейшего рассмотрения экстинкции от всех наночастиц в совокупности, но правильнее было бы представить распределения по размерам, когда по оси ординат откладывается доля наночастиц. Проблема в том, что даже малое число крупных наночастиц дает

существенный вклад в интенсивность рассеянного света за счет большего сечения рассеяния относительно частиц меньшего размера.

- Почему отсутствует хотя бы в виде гипотез анализ причин мультимодального распределения наночастиц по размерам? В списке цитируемой литературы работы на эту тему есть.

4. В списке цитируемой литературы в библиографических ссылках при наличии нескольких авторов указывается имя только первого из них. Согласно действующим стандартам оформления принято приводить данные всех авторов. Также вызывает недоумение оформление части ссылок, первоисточником которых являются журналы на русском языке, в виде ссылок на переводные англоязычные версии.

Тем не менее, приведенные замечания не снижают высокой научной ценности представленной работы и значимости ее вклада в лазерные технологии получения металлических наночастиц и их использования для борьбы с опасными бактериями. Автореферат полностью соответствует содержанию диссертации и корректно представляет достигнутые результаты.

Диссертационная работа «Генерация наночастиц металлов подгруппы меди лазерным излучением и их антибактериальное применение» является законченным научным исследованием. По тематике она соответствует заявленной специальности и удовлетворяет требованиям, изложенным в пп. 9–11, 13 и 14 действующего Положения о присуждении ученых степеней № 842, утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 года, а ее автор Настулявичус Алена Александровна заслуживает присуждения ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 1.3.19 – Лазерная физика.

Доклад по материалам диссертации был сделан на научно-исследовательском семинаре кафедры общей физики и молекулярной электроники 7 сентября 2022 года. Отзыв на диссертацию одобрен на заседании семинара.

Отзыв на диссертацию составлен:

Заведующий кафедрой общей физики  
и молекулярной электроники  
д.ф.-м.н., профессор  
тел.: +7 495 939 2193,  
e-mail: Kashkarov\_PK@nrcki.ru



Кашкаров Павел Константинович

Доцент кафедры общей физики  
и молекулярной электроники  
к.ф.-м.н.  
тел.: +7 495 939 4657,  
e-mail: zabotnov@physics.msu.ru



Заботнов Станислав Васильевич

Адрес: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова», 119991, ГСП-1, Российская Федерация, Москва, Ленинские горы, д. 1.

Список основных работ сотрудников ведущей организации Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова» (МГУ), по теме защищаемой диссертации в рецензируемых научных журналах за последние 5 лет:

1. D.V. Shuleiko, F.V. Potemkin, I.A. Romanov, I.N. Parhomenko, A.V. Pavlikov, D.E. Presnov, S.V. Zaboltnov, A.G. Kazanskii, P.K. Kashkarov "Femtosecond laser pulse modification of amorphous silicon films: control of surface anisotropy" // Laser Physics Letters, 2018, vol. 15, № 5, 056001.
2. С.В. Заботнов, А.В. Колчин, Ф.В. Кашаев, А.В. Скобёлкина, В.Ю. Нестеров, Д.Е. Преснов, Л.А. Головань, П.К. Кашкаров "Анализ структуры наночастиц, формируемых методом лазерной абляции пористого кремния и микрочастиц кремния в воде" // Письма в Журнал технической физики, 2019, т. 45, вып. 21, с. 22–25.
3. С.В. Заботнов, Д.А. Куракина, Ф.В. Кашаев, А.В. Скобелкина, А.В. Колчин, Т.П. Каминская, А.В. Хиллов, П.Д. Агрба, Е.А. Сергеева, П.К. Кашкаров, М.Ю. Кириллин, Л.А. Головань "Структурные и оптические свойства наночастиц, формируемых методом лазерной абляции пористого кремния в жидкостях; перспективы применения в биофотонике" // Квантовая электроника, 2020, т. 50, № 1, с. 69–75.
4. А.В. Колчин, Д.В. Шулейко, А.В. Павликов, С.В. Заботнов, Л.А. Головань, Д.Е. Преснов, В.А. Володин, Г.К. Кривякин, А.А. Попов, П.К. Кашкаров "Фемтосекундный лазерный отжиг многослойных тонкопленочных структур на основе аморфных германия и кремния" // Письма в Журнал технической физики, 2020, т. 46, вып. 11, с. 43–46.
5. S.V. Zaboltnov, A.V. Skobelkina, E.A. Sergeeva, D.A. Kurakina, A.V. Khilov, F.V. Kashaev, T.P. Kaminskaya, D.E. Presnov, P.D. Agrba, D.V. Shuleiko, P.K. Kashkarov, L.A. Golovan, M.Yu. Kirillin "Nanoparticles produced via laser ablation of porous silicon and silicon nanowires for optical bioimaging" // Sensors, 2020, vol. 20, 4874.
6. D.V. Shuleiko, M.N. Martyshov, D.V. Orlov, D.E. Presnov, S.V. Zaboltnov, A.G. Kazanskii, P.K. Kashkarov "Fabrication of anisotropic structures on the surface of amorphous silicon by femtosecond laser pulses" // Solid State Phenomena, 2020, vol. 312, pp. 192–199.
7. S.V. Zaboltnov, A.V. Skobelkina, F.V. Kashaev, A.V. Kolchin, V.V. Popov, D.E. Presnov, E.A. Sergeeva, M.Yu. Kirillin, L.A. Golovan "Pulsed laser ablation of silicon nanowires in water and ethanol" // Solid State Phenomena, 2020, vol. 312, pp. 200–205.
8. О.И.Соколовская, С.В.Заботнов, Л.А.Головань, П.К.Кашкаров, Д.А.Куракина, Е.А.Сергеева, М.Ю.Кириллин "Перспективы применения кремниевых наночастиц, полученных методом лазерной абляции, для гипертермии злокачественных опухолей" // Квантовая электроника, 2021, т. 51, № 1, с. 64–72.
9. D. Shuleiko, M. Martyshov, D. Amasev, D. Presnov, S. Zaboltnov, L. Golovan, A. Kazanskii, P. Kashkarov "Fabricating femtosecond laser-induced periodic surface structures with electrophysical anisotropy on amorphous silicon" // Nanomaterials, 2021, vol. 11, 42.
10. В.Ю.Нестеров, О.И.Соколовская, Л.А.Головань, Д.В.Шулейко, А.В.Колчин, Д.Е.Преснов, П.К.Кашкаров, А.В.Хиллов, Д.А.Куракина, М.Ю.Кириллин, Е.А.Сергеева, С.В.Заботнов "Лазерная фрагментация кремниевых микрочастиц в жидкостях для решения задач биофотоники" // Квантовая электроника, 2022, т. 52, № 2, с. 160–170.

### Сведения о ведущей организации

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова»

Сокращенное название: Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, МГУ имени М.В.Ломоносова или МГУ

Почтовый адрес: 119991, ГСП-1, Российская Федерация, Москва, Ленинские горы, д. 1, Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова

Адрес официального сайта в сети Интернет: [www.msu.ru](http://www.msu.ru)

Телефон: +7 (495) 939-10-00 Факс: +7 (495) 939-01-26

Электронная почта: [info@rector.msu.ru](mailto:info@rector.msu.ru)