

## **ВІДЗИВ**

офіційного опонента на дисертаційну роботу **Цехмістренко Оксани Сергіївни** на тему: «**Біотехнологія одержання та використання пробіотиків з наночастинками селену та діоксиду церію у птахівництві**», що подана на здобуття наукового ступеня доктора сільськогосподарських наук за спеціальністю **03.00.20 – біотехнологія**

### **1. Актуальність теми дисертаційної роботи та її зв'язок з державними та галузевими науковими програмами**

Птиця нових високопродуктивних кросів та ліній, яка сьогодні використовується у промисловому птахівництві, є особливо чутливою до негативного впливу технологічних та стресових чинників, що призводять до зниження вмісту в організмі біологічно активних речовин. Зміни окиснюванального гомеостазу супроводжуються активацією ендогенних ензимних антиоксидантних систем, витратою основних природних антиоксидантів та мікроелементів, що призводить до зниження резистентності птиці, її продуктивності та якості продукції. Проте механізми взаємодії та координування дії різних захисних систем клітини ще до кінця не вивчені.

Оксидативний стрес є серйозним згубним фактором для клітинної цілісності внаслідок постійного вивільнення реактивних форм Оксигену, опосередкованих різними біотичними (бактеріями, вірусами, грибами) та абіотичними стресорами. Фундаментальним шляхом підтримки клітинного окиснюванально-відновного гомеостазу є редокс-чутлива сигнальна система Keap1/Nrf2/ARE, яка відіграє ключову роль у стресових, запальних, канцерогенних і проапоптичних умовах. Провідне значення у регуляції редокс-процесів у клітинах організму належить Селену. Однак, використання неорганічних і органічних форм елемента для підвищення темпів росту птиці й посилення антиоксидантного захисту організму мають певне обмеження, зокрема вузький інтервал безпеки та неспецифічне зв'язування з тканинними білками. Альтернативною формою можуть бути наночастинки Селену, які мають

кращу біодоступність та відносно високий запас безпеки. Тобто, за рахунок нанотехнологій може бути вирішена потреба в альтернативних методах захисту птиці та поліпшення якості отриманої продукції. Однак, «традиційні» технології одержання наночастинок, як правило, високовартісні, трудомісткі, часто пов’язані з ризиком і потенційною небезпекою для довкілля та живих організмів. Сьогодні на часі інтенсивний розвиток біонанотехнології («зелені» нанотехнології), методи якої спрямовані на уникнення або мінімізацію токсичних складових, здатні успішно конкурувати з ними за швидкістю, керованістю, біоконверсією та зменшенням собівартості кінцевої продукції. Тому беззаперечно перспективними є дослідження, пов’язані з розробленням нових біотехнологій для одержання наночастинок металоїдів, а також можливості ефективного їх використання в якості кормових добавок для тварин і птиці. Тим більше, якщо ці дослідження стосуються можливого використання різних мікроорганізмів в якості пробіотиків та можливих продуцентів біонаноселену. Адже через недостатню кількість знань потенціал нанотехнологій у птахівництві ще не повністю використаний.

Заборона використання у годівлі тварин і птиці біологічних стимуляторів, антибіотиків, гормональних препаратів та інших субстанцій, що пригнічують або надмірно стимулюють функцію залоз внутрішньої секреції, зокрема мають тиреостатичну, естрогенну, андрогенну, бета-агоністичну та гестагенну дію передбачає пошуки альтернативної їх заміни. Повідомляється, що низка рідкоземельних елементів, до яких належить Церій, можуть успішно застосовуватися в якості нових природних добавок до корму з метою підвищення продуктивності тварин. Водночас, нанодисперсний діоксид церію є перспективним матеріалом, що знаходить застосування в сучасних високотехнологічних галузях промисловості. Змінюючи стехіометрію нанодисперсного діоксиду церію можна регулювати його антиоксидантні й прооксидантні властивості та ензимоподібну активність. Високий ступінь біосумісності, низька токсичність і каталітична активність дають змогу розглядати його як перспективний нанобіоматеріал для застосування у біології та сільському господарстві. Проте нині всі можливі механізми біологічної

активності нанодисперсного діоксиду церію є мало вивченими, а тому існує необхідність подальшого дослідження функцій,ластивостей та його біологічної ролі з метою поліпшення інтеграції наноматеріалів в організм людини та тварин. Це є підставою для нових наукових розробок у галузі біології, хімії, медицини та ветеринарії для профілактики, діагностики і лікування різних захворювань.

Таким чином, тема дисертаційної роботи є актуальною і науковою, має важливе як теоретичне, так і практичне значення. Робота відповідає шифру спеціальності 03.00.20 – біотехнологія.

Дисертаційна робота Цехмістренко О.С. є фрагментом комплексної програми науково-дослідних робіт Міністерства освіти науки України: «Вплив різних фізико-хімічних чинників на біохімічні процеси в організмі тварин та птиці» (№ ДР 0115U005335), що виконується в НДІ екології та біотехнології, а також кафедри хімії Білоцерківського національного аграрного університету впродовж 2015–2020 років. Окрімі дослідження виконані у рамках комплексної фундаментальної програми НАН України «Перспективні фундаментальні дослідження та інноваційні розробки наноматеріалів і нанотехнологій для потреб промисловості, охорони здоров'я та сільського господарства» на 2020–2024 pp., що проводяться разом із дослідниками Інституту мікробіології та вірусології імені Д.К. Заболотного НАН України у межах теми «Розроблення наукових основ біотехнології отримання безпечних селеновмісних пробіотичних препаратів для підвищення продуктивності та збереження поголів'я птиці» (шифр: 53/20-Н), (№ ДР 0120U102297).

## **2. Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій дисертаційного дослідження, наукова новизна**

Детальне ознайомлення зі змістом дисертаційного дослідження та авторефератом здобувача, опублікованими працями за темою дисертації дає змогу зробити висновок про те, що основні наукові положення, висновки і практичні рекомендації, які визначають наукову новизну роботи, є досить

обґрунтованими, сформульовані авторкою самостійно і свідчать про її особистий внесок у розвиток сільськогосподарської науки. Це підтверджується аналізом і широким використанням досягнень вітчизняної науки та положень зарубіжних біологічних концепцій. Методологія і методи дослідження, які застосовані здобувачкою, не містять протиріч і відповідають поставленій проблемі. Для доклінічних і клінічних досліджень та виробничих випробувань нанотехнологічних препаратів дисертація використала достатню, за видами, кількість тварин, що разом із проведеним нею значним об'ємом експериментів дозволило виконати поставлені задачі, зробити науково-обґрунтовані висновки та запропонувати конкретні пропозиції виробництву. Для виконання роботи докторантка використала новітню апаратуру і обладнання, сучасні та класичні методи. Вірогідність одержаних результатів підтверджується використанням біотехнологічних, електронно-мікроскопічних, фізико-хімічних, токсикологічних, мікробіологічних, біохімічних, хроматографічних, фізіологічних, морфологічних, морфометричних, зоотехнічних та статистично-математичних методів досліджень.

Обґрунтованість наукових положень, висновків і рекомендацій, поданих в опонованій нами дисертаційній роботі та вірогідність отриманих результатів підтверджується високим методичним рівнем поставлених експериментів, логічністю і послідовністю їх виконання та викладення, а також відповідністю методів досліджень поставленій меті і завданням досліджень, достовірністю отриманих результатів.

Мету і задачі дослідження сформульовано чітко і аргументовано. Наукова новизна полягає в теоретичному обґрунтуванні та експериментальному використанні сучасних підходів для конструювання та синтезу нових нанопрепаратів на основі важливих металоїдів і оксидів металів; розроблені біотехнології одержання та застосування нових препаратів наночастинок Селену та діоксиду церію з антибактеріальними, імуномодулювальними та метаболізм-інтенсифікувальними властивостями у практичному птахівництві.

Авторкою наукової праці вперше відпрацьовано технології одночасного застосування препаратів Селену, синтезованих методом «зеленого синтезу» і пробіотика з метою активації метаболічних процесів в організмі птиці та покращення господарських показників за її вирощування. Уперше доведено доцільність та запропоновано оптимальні схеми і дози внесення нанопрепаратів Селену та діоксиду церію у комбікорм птиці для одержання якісних продуктів птахівництва. Науково обґрунтовано та експериментально підтверджено ефективність використання препаратів наночастинок Селену за вирощування перепелів, а також перспективність застосування наночастинок діоксиду церію для курчат-бройлерів і курей-несучок з метою підвищення їх збереженості та продуктивності. Наукову новизну одержаних результатів підтверджено Технічними умовами України та Патентами на корисну модель.

### **3. Вірогідність наукових досліджень**

Аналіз експериментальних досліджень вказує на вірогідність отриманих здобувачкою результатів, які проведені на достатній кількості різних видів птиці з використанням відповідних методів досліджень. Увесь цифровий матеріал дисертаційної роботи опрацьований статистично і підданий кореляційному аналізу. Експериментальна частина є добре ілюстрованою. Сформульовані висновки є цілком правомірними, логічними та конкретними, а отримані результати необхідно розцінювати як нові та важливі.

### **4. Повнота викладених матеріалів досліджень у опублікованих працях**

Основний обсяг експериментальних досліджень а також аналіз та інтерпретацію результатів було виконано автором особисто. Робота пройшла широку апробацію та отримала позитивне схвалення на міжнародних науково-практических конференціях, з'їздах, симпозіумах в Україні та за кордоном. За темою дисертації опубліковано 72 наукові праці, зокрема: 29 статей, із них 17 у фахових виданнях України, 8 – у журналах, що індексуються у міжнародних базах Scopus і WOS, 4 – у зарубіжних виданнях; 3 – Технічні умови України;

7 – Патентів на корисну модель; 2 – навчальні посібники, 30 – тез доповідей конференцій та 2 – методичні рекомендації.

## **5. Зміст та завершеність дисертаційного дослідження**

Назва роботи Цехмістренко О.С. відповідає змісту, який за своєю суттю свідчить про добре продуману і здійснену композицію представленої наукової праці. Зміст автореферату дисертації відповідає змісту дисертаційної роботи, що викладена на 345 сторінках комп’ютерного тексту, ілюстрована 39 таблицями та 34 рисунками. Робота підготовлена за визначеними вимогами і складається з анотації, списку наукових публікацій здобувачки, вступу, огляду літератури, матеріалів та методів дослідження, власних досліджень, обговорення результатів досліджень, висновків, пропозицій виробництву, списку використаних джерел літератури та додатків.

У вступі (стр. 36-43) обґрунтовано актуальність теми роботи. Зазначено, що через інтенсифікацію птахівничої галузі спричиняється високе технологічне навантаження на організм птиці й зумовлюється виникнення вторинних порушень метаболічно-функціонального характеру, зниження інтенсивності антиоксидантного захисту, неспецифічної і специфічної резистентності тощо. Підкреслено, що серед альтернативних методів захисту птиці та поліпшення якості отриманої продукції важлива роль відводиться нанотехнології. А особливо – нанорозмірно орієнтованої науки «майбутнього», тобто «зеленої» нанотехнології чи «біонанотехнології», що виникла на стику з «зеленою» хімією. За аналізом даних літератури переконливо доведено перевагуnanoструктур, синтезованих «зеленим» підходом, яка полягає в тому, що конкретні біооб’єкти (рослини, мікроорганізми) містять велику різноманітність біомолекул, які трансформують неорганічні форми елементів в їх наноформи та покривають поверхню синтезованих наночастинок, утворюючи шари покриття, які забезпечують стабільність, біосумісність та унікальну специфічність їх дії. Оскільки сьогодні існує багато інформації про антиоксидантні та інші унікальні властивості Селену, логічно акцентується увага на можливості використання

біогенних наночастинок металоїду (отриманих методами «зеленої» хімії за участі лактобактерій), як активатора транскрипції та синтезу низки антиоксидантних та детоксикуючих ензимів. Відзначено, що нанотехнології відкривають нові перспективи для використання рідкоземельних елементів, зокрема діоксиду церію, як засобів покращення метаболічної функції організму тварин і птиці.

У цій частині роботи здобувачка визначає мету роботи і перелік завдань, які необхідно було вирішити задля повного досягнення поставленої мети. Чітко описує наукову новизну і практичну значимість отриманих результатів та подає інформацію щодо апробації матеріалів дисертаційного дослідження, зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами тощо.

У першому розділі «Огляд літератури» (стр. 44-90) докторантка наводить детальну характеристику наночастинок, їх фізико-хімічні та біологічні властивості. Звертає увагу на значну адсорбційну активність наночастинок, які через збільшення питомої поверхні мають змогу поглинати на одиницю маси набагато більше речовин, які адсорбуються, ніж макроскопічні дисперсії. Підкреслює, що велика питома поверхня збільшує адсорбційну ємність та адсорбцію на наночастинках контамінантів з полегшенням їх транспорту в клітини. Наголошує на здатності наночастинок індукувати активні форми Оксигену, порушувати мембрани структури, проникати через тканинні бар'єри, надходити в клітини і взаємодіяти з внутрішньоклітинними органелами.

Авторка дисертації детально (з візуалізацією) наводить методи синтезу наночастинок («знизу-вгору», «згори-вниз»). Підкреслює перспективність «зеленої» хімії в розробленні альтернативного, ефективного, дешевого і екологічно безпечного методу отримання поліфункціональних наночастинок із заданими властивостями, що важливо для подальшого їх використання в біології, медицині та харчовій промисловості.

На нашу думку, описуючи фактори, що впливають на «зелений» синтез наночастинок рослинами, докторантка цілком виправдано виокремлює

основні з них, зокрема: природу рослинного екстракту, реакцію середовища, температуру та тривалість реакції, концентрацію та електрохімічний потенціал іона металу. І при цьому підкреслює, що серед методів «зеленого» синтезу, до особливо важливих інструментів одержання наночастинок належать бактерії, через їх різноманітність і високу пристосованість до екстремальних умов. Детально аналізує механізми синтезу наночастинок бактеріями. Робить висновки про відповідні закономірності та особливості синтезу й акумуляції наночастинок елементів бактеріями різних видів. Відзначає, що саме вид бактерії часто може бути визначальним для фізико-хімічних та біологічних властивостей синтезованих частинок. А можливість подальшого використання бактеріального синтезу наночастинок обумовлена його незначною енергозатратністю та урегульованістю процесу.

Значний об'єм літературного огляду присвячений детальному аналізу ролі Селену в регуляції редокс-процесів у клітинах та ролі наноселену – як індуктора сигнального шляху Keap1/Nrf2/ARE, що є своєрідним центральним вузлом перехрестя багатьох шляхів, які беруть участь у клітинному захисті та адаптації.

Авторка наголошує на перспективності використання наночастинок взагалі і наночастинок селену, зокрема. При цьому зауважує, що пріоритетним напрямком дослідження залишається визначення ефектів впливу наночастинок металів на будь-який біологічний суб'єкт, що є необхідним за конструкування біотехнологічних продуктів із залученням нанотехнологій. Такі дослідження можуть бути адекватними лише за послідовного використання біомаркерів – ключових системних характеристик живого організму (біохімічних, фізіологічних, імунологічних тощо).

У дослідженнях останніх років приділяється увага використанню Селену для залучення у роботу системи антиоксидантного захисту, однак повідомень про використання нанорозмірних препаратів цього елемента досить мало. Поряд з цим потребує подальших досліджень і нанокристалічний діоксид церію, включений експертами міжвідомчої програми з коректного управління хімічними препаратами (ІОМС) і організації економічної кооперації

та розвитку (OECD) до переліку десяти пріоритетних наноматеріалів, як перспективний нанобіоматеріал для застосування у біології, медицині та сільському господарстві. По при вже існуючі окремі наукові публікації щодо високого ступеня біосумісності, низької токсичності і каталітичної активності нанодисперсного діоксиду церію, всі можливі механізми його біологічної активності є мало вивчені та потребують подальших досліджень.

Цінним в роботі є дослідження потенційної небезпеки використання наночастинок. Особливо тих, які застосовуються у фармакології, медицині, ветеринарії та сільському господарстві, через можливість їхнього безпосереднього надходженню в організм людини. Такі наночастинки повинні мати низьку токсичність (або повну її відсутність), високу біосумісність, здатність до біодеградації чи виведення з організму природнім шляхом. Аналізуючи наявну наукову літературу дисертантка приходить до висновку, що питання позитивного ефекту та токсичності наночастинок металів неоднозначне й потребує комплексного підходу. Методи «екодружнього» синтезу повинні бути спрямовані на створення передбачуваних, стандартизованих систем. При цьому зразки біогенних наночастинок стануть більш однорідними та відтворюваними, а ризики для навколишнього середовища та здоров'я будуть мінімізовані. Маловивченими залишаються й аспекти взаємодії наночастинок та біологічних молекул, зокрема з білками, вуглеводами та ліпідами. Перспективним також є з'ясування можливості синтезу наночастинок різних елементів одним видом бактерій.

Загалом цей розділ дисертаційної роботи є досить об'ємним, написаний кваліфіковано і відображає вміння автора критично аналізувати дані літератури і робити з них об'єктивні висновки. За обсягом він не перевищує встановлений вимогами обсяг (біля 20 % від обсягу основної частини) і містить 13 підрозділів. Аналіз наведеного огляду літератури свідчить, що дисертантка достатньо глибоко опрацювала значний масив вітчизняної та зарубіжної літератури, на підставі чого логічно її узагальнила та обґрунтувала необхідність проведення власних досліджень за обраною темою дисертаційної роботи.

Другий розділ «Матеріали і методи дослідження» викладений на 15 сторінках (стр. 91-105) та відповідає меті й завданням дослідження. Власні експериментальні дослідження здобувачкою проведено поетапно, відповідно до плану та розробленої нею загальної схеми. Тут авторка перераховує об'єкти своїх експериментів, послідовність і схеми дослідів, використані методи і методики, що підтверджує повноту і об'єм проведених досліджень. Для кращого сприйняття викладеного в розділі матеріалу в ньому подано рисунок та дві таблиці, на яких відображені схеми дослідів за етапами, що дає можливість побачити широкоплановість, цілісність і взаємозв'язок проведених досліджень, виконаних на належному науково-методичному рівні.

Експериментальні дослідження, проведені впродовж 2016-2020 р. Для обробки отриманих результатів було застосовано адекватні методи статистичного аналізу.

Третій розділ. «Власні дослідження» (стр. 106-221) – найоб'ємніший. За свою структурою він містить шість підрозділів, кожний з яких, у свою чергу, має значну кількість ще окремих його складових.

На першому етапі проведення досліджень із біотехнологічного синтезу наночастинок Селену здобувачкою здійснено аналіз різних мікроорганізмів, пробіотиків, можливих продуцентів біонаноселену та підбір поживного середовища для їх культивування. Проведено трансмісійну електронну мікроскопію наночастинок селену, синтезованих *Bacillus subtilis* та *Lactobacillus plantarum*. Встановлено, що частинки біонаноселену не агреговані, мають округлу форму та розмір від 4 до 8 нм. Інкубація пробіотичної культури *Bacillus subtilis*, за наявності наноселену, супроводжувалась суттєвим підвищеннем накопичення білокумісних біологічно активних ендометаболітів. За інкубації *Lactobacillus plantarum* частинки наноселену синтезувалися у вигляді екзометаболітів.

Для дослідження впливу екзогенно синтезованих наночастинок Селену на організм птиці обрано *Lactobacillus plantarum* IMB B-7679. Це обумовлено здатністю лактобацил брати участь у процесах формування імунної резистентності, утворювати асоціації зі слизовою оболонкою кишечнику,

взаємодіяти з епітеліальними та імунокомпетентними клітинами, стимулювати імунну систему через активацію механізмів гуморальної, клітинно-опосередкованої імунної відповіді та функції ретикуло-ендотеліальної системи кишкового тракту і продукування цитокінів.

За створення кормових добавок на основі *Lactobacillus plantarum* IMB B-7679 для перепелів середовище культивування MRS збагачували різними носіями Селену, а саме – наноселеном та селенітом натрію. Доведено, що біологічно активна добавка для тварин та птиці (препарат ліофільно висушених бактерій *Lactobacillus plantarum* IMB B-7679) збагачена водним розчином цитрату селену в концентрації  $2 \times 10^{-3}$  мг/мл, проявляє імуномодулювальні властивості. Про утворення біогенного Nano-Se лактобактеріями дисертантка робить висновок за результатами електронної мікроскопії. Нею підтверджено, що редукція селеніту натрію у наноселен відбувається внутрішньоклітинно у вигляді щільних гранул без зміни структури клітин з подальшим вивільненням наночастинок з бактеріальних клітин.

Оцінюючи токсичність (гостра і підгостра) Селену, шляхом внутрішньошлункового введення білим щурам кормової добавки селеніту натрію з пробіотиком та наноселену було встановлено, що їх застосування у дозах 1000, 3000 і 5000 мг/кг не обумовлювало загибелі та прояву видимих ознак інтоксикації лабораторних тварин. Не відзначено негативного впливу стосованих чинників і на морфологічні та біохімічні показники крові, а також вагові коефіцієнти маси внутрішніх органів тварин. Отримані результати, відповідно до СОУ 85.2-37-736:2011, стали підставою для віднесення досліджуваних засобів до IV класу токсичності – «малотоксичні речовини».

Значний обсяг експериментальних досліджень авторка зосередила власне на всебічному дослідженні ефектів в організмі перепелів за вирощування їх з використанням різних форм Селену (підрозділ 3.2). Зокрема, за додавання до раціонів перепелів досліджуваних добавок встановлені позитивні зміни у метаболічних процесах в організмі птиці цього виду. Про це свідчать активація показників протеїнового обміну в крові. Тоді як на

відсутність негативного впливу різних форм Селену вказують результати дослідження активності трансаміназ (АсАТ та АлАТ) в печінці.

Аналіз жирокислотного складу ліпідів плазми крові перепелів свідчить про наявність певних закономірностей у виникненні порушень складу фосфоліпідів та жирних кислот у мембрах еритроцитів птахів, які отримали селеніт натрію. Підвищення лізоформ фосфоліпідів у мембрах еритроцитів птиці першої групи свідчить про активацію вільнорадикального окиснення. Водночас, уведення препарату наноселену призводить до оптимізації цих показників. При цьому, встановлено, що додавання до корму перепілок різних форм селену сприяло активізації ензимів системи антиоксидантного організму птиці. Здобувачка звертає увагу на те, що саме введення нанобіоселену разом з пробіотиком призводило до максимального прояву такого ефекту. На користь наноселену в складі раціону перепелів вказує також зменшення величини індексу легень, у порівнянні з інтактними аналогами, що, очевидно, може бути наслідком інтенсифікації газообміну всередині легень.

Щодо показників росту перепелів, то у птиці, яка споживала разом із комбікормом наноселен та пробіотик вони перевищували аналоги контрольної та інших дослідних груп за показниками маси тіла, абсолютноого та середньодобового приростів. Такі результати авторка пов'язує з кращим засвоєнням біонано-Se у шлунково-кишковому тракті перепелів, на відміну від селеніту натрію та інтенсивнішим включенням першого у метаболізм, зокрема до складу ензимів антиоксидантного захисту (глутатіонзалежні ензими) та гормонів щитоподібної залози.

Наступні підрозділи (3.3 – 3.5) дисертаційної роботи Оксани Сергіївни стосуються результатів проведених нею системних комплексних досліджень наночастинок діоксиду церію (НДЦ). Представлено розроблену технологію одержання нових препаратів наночастинок діоксиду церію, які за кількісними та якісними характеристиками не поступаються імпортним аналогам. Досліджено його стабільність. Показано, що створений препарат наночастинок діоксиду церію відповідає вимогам, які ставляться до стабільності розчинних полімерних засобів. НДЦ – стерильна, стабільна

комплексна сполука гідроокису церію (ІІ) з цитратом у вигляді захищеного колоїду з концентрацією діючої речовини: Се (ІІ) – 85 мг/мл, цитрату – 20 мкг. Щодо визначення його токсичності, то дослідження були проведені на білих шурах. Згідно з класифікацією токсичності речовин за внутрішньом'язового введення за ступенем небезпечності препарат належать до VI класу токсичності (відносно нешкідливих речовин), а у перерахунку на основну діючу речовину церій трьохвалентний ( $\text{Ce}^{3+}$ ), який знаходиться у даній лікарській формі – до V класу токсичності (практично нетоксичних речовин).

Авторкою наукової роботи встановлено структурно-морфофункціональні зміни репродуктивної системи курей-несучок кросу «Lohmann Brown» за додавання наноцерію. Ці зміни пов'язані із збільшенням довжини яйцепроводу, що має зв'язок із яйценосністю. При цьому не виявлено впливу на індекс форми яйця та його вміст.

Досліджено вплив наночастинок діоксиду церію на метаболічні процеси в організмі курчат-бройлерів. Їх введення сприяло підвищенню у крові курчат-бройлерів вмісту загальних ліпідів, активації протеїнового обміну та збільшення співвідношення Кальцію до Фосфору, що дає можливість стверджувати про позитивний вплив наночастинок діоксиду церію на мінеральний обмін. Щодо відносної біологічної цінності м'яса курчат-бройлерів дослідних груп, то вона була на рівні показників інтактної птиці.

Результатом проведених комплексних досліджень є розроблена технологія, що дала змогу одержати нанорозмірні препарати Селену та діоксиду церію, в яких наноселен перебуває у складі мікробіальної культури, а нанодіоксид церію вкритий цитратною оболонкою. Дисеранткою експериментально доведено, що введення нанорозмірних препаратів Селену та діоксиду церію до комбікорму курчат-бройлерів, курей-несучок та перепелів м'ясного напряму продуктивності сприяє збільшенню приростів живої маси та підвищенню збереженості поголів'я птиці. Застосування досліджуваних препаратів у запропонованійnanoформі призводить до зниження собівартості продукції птахівництва та підвищення рентабельності галузі, що визначає їх економічну ефективність.

Експериментальну частину роботи завершує **«Обговорення результатів дослідження»** (стор. 224-261). У цьому розділі дисертаційної роботи у стислій формі відображені її суть, сформульовано власну гіпотезу. При цьому дисертантка підтверджує, що добре ознайомлена з результатами досліджень інших науковців, досконало знає досліджувану проблему, на достатньому фаховому та науковому рівнях аналізує, інтерпретує та порівнює отримані результати з даними наукової літератури.

**Висновки**, сформульовані в дисертації, є логічним продовженням її основних положень та лаконічною суттю отриманих результатів і дають відповідь на всі поставлені завдання досліджень. Вони викладені в 12 пунктах та відображають фактичні результати проведених досліджень, містять чіткі відповіді на завдання, поставлені на початку роботи, є взаємодоповнюючими та дозволяють скласти цілісне враження про дану наукову працю. Мають наукове значення та можуть використовуватися у подальших фундаментальних дослідженнях. Окрім з них слід включити в навчальний процес за вивчення курсів біотехнології, мікробіології, птахівництва, годівлі сільськогосподарських тварин. Пропозиції виробництву сформульовані в 3-х конкретних пунктах.

**Список використаних джерел літератури** складений відповідно до вимог з урахуванням Національного стандарту України ДСТУ 8302:2015. Він включає 723 найменування, з яких 606 – латиницею.

У додатку розміщені акти на проведення науково-виробничих дослідів та впровадження наукових розробок, подано повні назви розроблених і затверджених Технічних умов України та Патентів України на корисну модель, рецепти комбікормів для перепелів, курчат-бройлерів та курей-несучок; акти проведення дослідів.

Поряд з вказаними вище позитивними рисами дисертаційної роботи, хотілось би висловити кілька зауважень та поставити авторці дискусійні запитання.

— У підрозділі 2.1. «Матеріал досліджень» вказується, що лише перепелам другої дослідної групи «шляхом багатоступеневого змішування додавали пробіотик *Lactobacillus plantarum*», однак відповідно до схеми досліду представлений у таблиці 2.1. пробіотик задавали з кормом птиці третьої і четвертої дослідних груп.

— У підрозділі 2.2. «Методи досліджень» наведено лише умови росту *B. Subtilis*. А як стосовно *L. plantarum*? Вони були аналогічні? І взагалі, чим обумовлений вибір саме *B. Subtilis* і *L. plantarum* для Ваших біотехнологічних досліджень?

— У своїх дослідженнях Ви використовували пробіотичну добавку з різними формами селену. Чи не досліджували вплив застосування такого комплексу на кількісний і якісний склад мікрофлори кишечнику птиці?

— У чому, на Вашу думку, полягає перевага біонаселену в годівлі птиці над його неорганічними формами?

— Представлені в додатках рецепти комбікормів для птиці не є розгорнутими. Уточніть будь-ласка, чи раціони були збалансовані за всіма біологічно активними речовинами? Чи у мінеральному преміксі містився Селен? Чи визначася вміст елемента у компонентах кормосумішок?

— З'ясовуючи ефективність застосування різних форм Селену у вирощуванні перепелів Ви порівнюєте дію наноселену з неорганічною формою елемента. Чи не порівнювали створену Вами біотехнологічну наноформу з органічною чи іншою наноформою Селену? Наприклад з аквацитратом?

— У своїй роботі Ви називаєте нанодіоксид церію по різному. Уточніть та обґрунтуйте його назву – це препарат, добавка чи діюча субстанція, яка входить до складу препарату (добавки)?

— Щодо з'ясування токсичності нанодіоксиду церію. Так, погоджуємося, що важливим є щоб результати досліджень параметрів токсичності новосинтезованих речовин за кількома методами співпадали. Це підтверджує точність і об'єктивність таких результатів. Однак, яка потреба

була у дослідженні середньосмертельних доз ( $DL_{50}$ ) препарату аж за шістьма, визнаними в токсикології, методами? Для цього достатньо було б і два.

— За Вашими пропозиціями виробництву рекомендований нанодіоксид церію буде задаватись птиці з комбікормом. Чи досліджували Ви гостру і, особливо, хронічну токсичність препарату за перорального (внутрішньошлункового) задавання? Адже вважається, що новостворена діюча субстанція, для з'ясування її впливу на морфофункціональний стан організму піддослідних тварин, за токсикологічних досліджень має вводитись кількома шляхами і обов'язково тим, яким рекомендується шлях введення новоствореного препарату.

— Вами подано дослідження гострої і хронічної токсичності нанодіоксиду церію лише на білих щурах. Однак, за нормативними вимогами доклінічних досліджень нових продуктів і субстанцій, відповідні досліди необхідно проводити хоча б на двох видах лабораторних тварин, а також залежно від статі (самці, самки). Обґрунтуйте.

— Чим, на Вашу думку, можна пояснити зростання яєчної продуктивності курей-несучок за використання нанодіоксиду церію?

— У тексті дисертаційної роботи зустрічаються окремі граматичні та стилістичні помилки. Наприклад, окремі з них – «ензими» замість «ферменти» (стор. 94; 100; 101; 122; 123...); «Оксиген» замість «Кисень» (стор. 46; 106; 240).

Однак, висловлені вище зауваження не зменшують наукову значимість та не впливають на загальну позитивну оцінку дисертаційної роботи О.С. Цехмістренко.

### **Загальний висновок.**

Дисертаційна робота Цехмістренко Оксани Сергіївни на тему: «Біотехнологія одержання та використання пробіотиків з наночастинками селену та діоксиду церію у птахівництві» – завершене самостійне дослідження, яке характеризується значною науковою новизною і практичною цінністю, має добру перспективу для розвитку в подальшій роботі. Отримані науково обґрунтовані результати в сукупності вирішують наукову і практичну

задачу підвищення ефективності виробництва яєць та м'яса птиці різних видів. Мета і завдання дослідження досягнуті.

За актуальністю, змістовним розкриттям, науковою новизною, обґрунтованістю положень, висновків, пропозицій та оформленням дисертаційна робота «Біотехнологія одержання та використання пробіотиків з наночастинками селену та діоксиду церію у птахівництві» відповідає вимогам, що встановлені для дисертацій, поданих на здобуття наукового ступеня доктора сільськогосподарських наук відповідно п.п. 11, 13, 14 «Порядку присудження наукових ступенів та присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника» ДАК України, а її автор, **Цехмістренко Оксана Сергіївна**, заслуговує присудження наукового ступеня доктора сільськогосподарських наук за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія.

Офіційний опонент,  
завідувач лабораторії фізіології,  
біохімії та живлення птиці  
Інституту біології тварин НААН,  
доктор сільськогосподарських наук,  
старший науковий співробітник

А. В. Гунчак

Підпис Гунчак А.В. засвідчує.

Вчений секретар ІБТ НААН, к.с.-г.н., с.н.с.

О.О. Смолянінова

19.04.2021 р.

