

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертацію Цехмістренко Оксани Сергіївни на тему: «Біотехнологія одержання та використання пробіотиків з наночастинками Селену та діоксиду церію у птахівництві», подану до спеціалізованої вченої ради 27.281.01 у Білоцерківському національному аграрному університеті на здобуття наукового ступеня доктора сільськогосподарських наук за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія.

Актуальність теми дисертаційної роботи. Дисертація Цехмістренко Оксани Сергіївни присвячена актуальній проблемі – розробці нових біотехнологій для одержання і ефективного використання наночастинок металоїдів та оксидів металів як кормових добавок у галузі птахівництва. Сучасне промислове птахівництво стикається із низкою проблем, пов'язаних із захворюваннями птиці та техногенними стрес-чинниками, що зумовлюють розвиток оксидативного стресу птиці й зниження їх продуктивності та резистентності. Публікації останніх років досить широко висвітлюють результати досліджень щодо впливу препаратів Селену, рідкоземельних елементів, зокрема діоксиду церію, та пробіотиків на ефективність вирощування сільськогосподарської птиці. З огляду на це дисертаційні дослідження Цехмістренко О.С. становлять великий науковий та теоретичний інтерес, оскільки розглянуті та розроблені альтернативні методи захисту птиці та поліпшення якості отриманої продукції за рахунок нанотехнологій.

Наночастинки Селену, як і традиційні препарати елементу, приймають участь у регуляції редокс-процесів у клітинах організму, підвищують темпи росту птиці та посилюють антиоксидантний захист організму, при цьому мають кращу біодоступність, відносно високий запас безпеки і низьку токсичність. Показано, що перехід діоксиду церію у нанокристалічний стан супроводжується змінами у його біологічній активності, зокрема зростанні антиоксидантних та появі пробіотичних властивостей.

Переваги наноструктур, синтезованих зеленим підходом, полягають у тому, що конкретні біооб'єкти містять велику різноманітність біомолекул, які трансформують неорганічні форми елементів та сполук у наноформи та покривають поверхню синтезованих наночастинок з утворенням шарів покриття для забезпечення додаткової стабільності, біосумісності та унікальної специфічності їх дії. Вивчення даних переваг дало дисертанту змогу стверджувати, що синтезовані пробіотичними бактеріями та технологіями наночастинки Селену та діоксиду церію можна ефективно застосовувати як альтернативу іншим формам в якості кормової добавки для

зменшення оксидативного стресу, підвищення резистентності та продуктивності птиці.

Наукова і практична цінність отриманих результатів та їх вірогідність.

Наукова робота дисертанта є частиною комплексних програм науково-дослідних робіт Міністерства науки і освіти України: “Вплив різних фізико-хімічних чинників на біохімічні процеси в організмі тварин та птиці” (№ держреєстрації 0115U005335), що виконується в НДІ екології та біотехнології, а також кафедри хімії Білоцерківського національного аграрного університету впродовж 2016–2021 років. Okремі 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 з дослідниками Інституту мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України (відділ проблем інтерферону і імуномодуляторів) у межах теми “Розроблення наукових основ біотехнології отримання безпечних, селеновмісних пробіотичних препаратів для підвищення продуктивності та збереження поголів’я птиці” (шифр: 53/20-Н) (№ держреєстрації 0120U102297).

Дисертантом у складі команди науковців розроблено біотехнологію одержання нових препаратів наночастинок Селену з використанням пробіотиків.

Науково обґрунтовано та експериментально підтверджено доцільність використання препаратів наночастинок Селену за вирощування перепелів, а також перспективність застосування наночастинок діоксиду церію для курчат-бройлерів та курей-несучок з метою підвищення їх збереженості та продуктивності.

Уперше відпрацьовано технології одночасного застосування препаратів Селену, синтезованих методом “зеленого синтезу” за допомогою пробіотику для активації метаболічних процесів в організмі птиці та покращення господарських показників за їх вирощування. Уперше доведено доцільність внесення нанопрепаратів Селену та діоксиду церію у комбікорм птиці для одержання якісних продуктів птахівництва. Підтверджено наукову новизну одержаних результатів Технічними умовами України та Патентами на корисну модель.

На підставі оцінки придатності препаратів наночасточок Селену та діоксиду церію розроблено і затверджено настанови щодо їх застосування, де регламентовано їх дозування, терміни використання та наведено методологію проведення досліджень, необхідних для ефективної реалізації генетичного

потенціалу птиці. Закріплено позитивні результати Патентами на корисну модель та Технічними умовами.

Результати досліджень, викладені в дисертаційній роботі, включено до Технічних умов та патентів на корисну модель, які можуть бути застосовані в науково-дослідних роботах та в практиці промислового птахівництва. Матеріали наукової роботи можуть бути використані в курсах лекцій з дисциплін “Біотехнологія”, “Біохімія” та “Годівля сільськогосподарських тварин” у закладах вищої освіти для підготовки фахівців за спеціальностями “Біотехнологія”, “Технологія виробництва та переробки продукції тваринництва”, “Харчові технології” та науковій роботі.

Розроблена технологія дала змогу одержати нанорозмірні препарати Селену, в яких наноселен перебуває у складі мікробіальної культури. Створені міцели слугують джерелом нетоксичної, розчинної і легкодоступної форми Селену та діоксиду церію. Ці препарати легше засвоюються у шлунково-кишковому тракті, мають ензимоміметичну активність та входять до складу антиоксидантних ферментів.

Встановлено, що досліджувані нанопрепарати мають перевагу над мінеральними формами елементів, які застосовують в Україні, за рахунок особливого співвідношення площин поверхні до об'єму, що обумовлює нові функціональні властивості нанодобавок. Введення нанорозмірних препаратів Селену та діоксиду церію до комбікорму перепелів, курчат-бройлерів та курей-несучок сприяє активації метаболічних процесів, збільшенню приростів маси тіла та підвищенню збереженості поголів'я птиці, що приводить до зниження собівартості продукції птахівництва та підвищення рентабельності галузі.

Пропозиції виробництву викладено у рекомендаціях “Рекомендації по використанню кормової добавки біотехнологічного походження з метою підвищення продуктивності перепелів”, які затверджено радою біологотехнологічного факультету БНАУ та навчальних посібниках. Результати досліджень апробовані у виробничих умовах та підтверджено актами впровадження.

Оформлення, аналіз змісту дисертації та її методичне забезпечення

Дисертація складається зі вступу, огляду літератури, загальної методики та основних методів дослідження, результатів досліджень, узагальнення результатів досліджень, висновків та пропозицій виробництву, списку використаних джерел та додатків. Робота викладена на 345 сторінках, містить 34 рисунки та 39 таблиць. Список використаної літератури включає 723 джерела, у тому числі 606 – латиною.

У «Вступі» дисертант фахово грамотно обґрунтовує актуальність теми, чітко формулює загальну мету, визначає завдання дослідження, акцентує

увагу на науковій новизні, науково-теоретичному і практичному значенні отриманих результатів. Даний розділ свідчить про грунтовне знання автора літературних джерел з предмету досліджень, оцінює важливість досліджень фізіолого-біохімічних особливостей впливу різних, зокрема нанопрепаратів Селену та діоксиду церію, на організм перепелів, курей-несучок та курчат-бройлерів, уповні володіє фактичним матеріалом, фахово його аналізує та співставляє із результатами сучасних наукових шкіл.

В огляді літератури Цехмістренко О.С. проводить аналіз властивостей нанопрепаратів металоїдів і оксидів металів та характеризує їх відмінності від властивостей аналогічних препаратів звичайного розміру. Розглянуто методи синтезу наночастинок, зокрема механізми синтезу їх бактеріями, та чинники, що впливають на “зелений” синтез наночастинок. Встановлено роль Селену та діоксиду церію в регуляції редокс-процесів у клітинах та участь їх як індукторів сигнального шляху Keap1/Nrf2/ARE. Висвітлено перспективи використання наночастинок та їх потенційні небезпеки.

У «Матеріалах і методах досліджень» подано відомості щодо загальної схеми проведення виробничо-лабораторних досліджень. Передували роботі теоретичні дослідження, які включають обґрунтування доцільності, екологічний та економічний аналіз, патентний пошук, галузі застосування та вивчення світових аналогів. Надалі застосовували лабораторно-технологічні дослідження, що об’єднують біотехнологію одержання і застосування наночастинок Селену із класу металоїдів, та використання наночастинок діоксиду церію, як представника наночастинок металів та їх оксидів. При цьому використано фізико-хімічний аналіз, проведено оцінку стабільності препаратів.

Токсикологічні дослідження препаратів на тваринах (щурах) виконували відповідно до методичних рекомендацій, розроблених Державним науково-дослідним контролльним інститутом ветеринарних препаратів та кормових добавок. Для визначення стабільності препаратів використовували модифікований прискорений ізотермічний метод. Наступні блоки – це лабораторні біологічні дослідження в модельних експериментах та доклінічні дослідження. З цією метою проведено експерименти на лабораторних тваринах, відпрацьовано дозування, проаналізовано біологічну дію, що ґрунтуються на біохімічному аналізі та екобезпечності тварин. На лабораторних тваринах (кролі, щурі та миші) визначали гостру та хронічну токсичність, гематологічні та біохімічні показники.

Вивчення біологічної дії різних форм Селену проводилося на перепелах породи Фараон. Дозування пробіотику та препаратів Селену відповідають встановленим ефективним кількостям за попередніми науковими

дослідженнями і становило 200 г кормової добавки/т комбікорму та містить 0,3 мг Se/кг корму. Біогенний наноселен синтезований спільно із науковцями відділу проблем інтерферону та імуномодуляторів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України.

Для наступних досліджень використовували нанодисперсний діоксид церію, синтез якого здійснено у відділі проблем інтерферону та імуномодуляторів Інституту мікробіології та вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України. Вивчали вплив наночастинок діоксиду церію на організм курчат-бройлерів та курей-несучок. Формування груп проводили за методом пар-аналогів. Дослідним групам птиці додавали препарат перорально з питною водою у дозі 8,6 мг/л впродовж перших 14 діб, після 7- (2 група) та 14-добової (3 група) перерви курс повторювали.

Після лабораторно-експериментальних досліджень проводили виробничу перевірку, під час якої вивчали вплив добавок наночастинок у складі комбікорму на якість м'яса, яєць, стан паренхіматозних органів, інтенсивність росту та збереженість поголів'я. Якість м'яса визначали за поживністю та токсичністю. Щотижня проводили зважування птиці та контроль за збереженістю поголів'я.

Поєднання сучасних фізіолого-біохімічних, технологічних і статистичних методів досліджень та наукового аналізу дозволило дисертанту отримати результати, здатні бути відтворними, співставними та узагальненими у висновках, достовірність результатів підтверджена статистичною обробкою фактичного матеріалу.

Загальна методика досліджень побудована грамотно. Дисертант досконало володіє багатьма методами наукового аналізу, за допомогою яких отримані результати, відповідні поставленій меті та завданням досліджень.

Розподіл і виклад матеріалу у «Результататах власних досліджень» логічно послідовні, що дозволило Цехмістренко О.С. розкрити основні наукові положення і сформулювати висновки, винесені на захист. Сформульована концепція створення та підвищення ефективності нанопрепаратів, що базується на використанні механізмів, характерних для організму тварин та птиці. За допомогою трансмісійного електронного мікроскопа ТЕМ-1400 (ТЕМ) встановлено фізичні характеристики наночастинок Селену. Для створення кормових добавок на основі *L. plantarum* IMB B-7679 з різними носіями Селену для перепелів середовище культивування MRS збагачували різними носіями Селену.

За згодовування різних препаратів Селену та пробіотику перепелам досліджено показники білкового, ліпідного, енергетичного, мінерального

обмінів, проведено аналіз ліпідного спектру крові та активність ферментів антиоксидантного захисту, вивчено стан паренхіматозних органів.

У роботі вивчена гостра і хронічна токсичність нанодисперсного діокиду церію та його корегуючий вплив на курей-несучок та курчат-бройлерів.

Економічна ефективність використання наночастинок у птахівництві показала доцільність застосування досліджених препаратів за вирощування промислової птиці, зменшення витрат корму при виробництві продукції птахівництва, підвищення конверсії корму та збереженість поголів'я птиці.

У розділі «Узагальнення результатів досліджень та їх аналіз» Цехмістренко О.С. фахово грамотно, об'єктивно та критично порівнює результати власних досліджень з даними літератури, оцінює та визначає їх значення для біотехнології, біохімії, фізіології, та промислового птахівництва. Автор є ерудованим науковцем, сповна володіє фактичним матеріалом, об'єктивно й аргументовано його оцінює та інтерпретує з сучасних наукових позицій, узагальнює результати у висновках. Загалом робота спроявляє позитивне враження, логічно побудована, легко читається.

Обґрунтованість наукових положень, висновків і рекомендацій сформульованих у дисертації, їх відповідність отриманим результатам досліджень.

Дисертація Цехмістренко Оксани Сергіївни є самостійною і завершеною науковою працею, яка є підсумком власних експериментальних досліджень. Зміст дисертації відповідає спеціальності 03.00.20 – біотехнологія. Експериментальна частина роботи виконана методично правильно з використанням сучасних методів, на достатній кількості матеріалу, висновки узагальнені, аргументовані і випливають із результатів досліджень. Кваліфікований вибір схем та методик досліджень, аргументована інтерпретація отриманих результатів вказують на досконале володіння дисертантом науковими знаннями і методологією досліджень, що обумовило виконання дисертаційних завдань і досягнення поставленої мети.

У кваліфікаційній дисертаційній роботі викладено теоретичне обґрунтування та використання сучасних підходів до вирішення проблеми, яка полягає у конструюванні та синтезу нових нанопрепаратів на основі важливих металоїдів і оксидів металів. З цією метою проведено біотехнологічний синтез наночастинок Селену та діоксиду церію, що відповідає напряму інноваційної діяльності виробників кормових добавок – створення нових біологічно доступних форм, які сприятимуть підтримуванню здоров'я тварин і птиці та позитивно впливатимуть на якісні і кількісні показники їх продуктивності. Проведено доклінічні та клінічні дослідження на лабораторних тваринах,

визначено токсикологічні характеристики одержаних препаратів, здійснено їх державну реєстрацію, розроблено необхідну нормативну документацію (Технічні умови, патенти, рекомендації). Науково обґрунтовано та експериментально підтверджено в умовах виробництва ефективність нанопрепаратів Селену та діоксиду церію для корекції адаптивних систем організму перепелів, курчат-бройлерів та курей-несучок.

Відповідність змісту автореферату основним положенням дисертації. Автореферат у достатньому обсязі відображає основні положення дисертації. Результати досліджень, основні положення, висновки, пропозиції виробництву є ідентичними в дисертації та авторефераті.

Публікація основних результатів дисертації. 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. Це вказує на широке ознайомлення відповідних фахівців та наукової громадськості з основними результатами дисертаційних досліджень.

Окремі дискусійні питання і зауваження.

Водночас із позитивною оцінкою рецензованої дисертаційної роботи вважаю за необхідне виділити окремі дискусійні питання, зауваження та побажання.

1. Пояснити роль Селену в регуляції клітинних окисно-відновних процесів. Що є відмінністю у механізмах впливу на організм тварин та птиці селеніту натрію та наноселену?
2. Обґрунтуйте роль Селену у функціонуванні редокс-чутливої сигнальної системи Keap1/Nrf2/ARE (Kelch-like ECH-associated-protein 1/NF-E2-related-factor-2)/antioxidant response elements)?
3. Експериментальна частина, апробація та виробничі перевірки результатів досліджень виконані на штамах культур *B. subtilis* та *L. plantarum*. За якими ознаками був обраний штам пробіотику для дослідження?
4. У власних дослідженнях зазначається про внутрішньо- та позаклітинний синтез білкових метаболітів та нанопрепаратів пробіотиками. Охарактеризуйте особливості даних процесів.
5. Охарактеризуйте вплив різних форм Селену на активність антиоксидантних ензимів та вміст продуктів ПОЛ.
6. Розкрийте механізм впливу нанодисперсного діоксиду церію на метаболічні процеси в організмі птиці.

7. Зустрічаються невдалі граматичні структури та незначні граматичні помилки, які не зменшують наукової цінності роботи, її актуальності та практичного значення.

Висновок на дисертацію

Дисертація Цехмістренко Оксани Сергіївни на тему: «Біотехнологія одержання та використання пробіотиків з наночастинками селену та діоксиду церію у птахівництві» є якісною за формулою, змістовою і розкриває нові дані щодо біотехнології одержання нанопрепаратів сполук металів та металоїдів та їх впливу на обмінні процеси та господарські показники різних видів промислової птиці (перепела, курі-несучки, курчата-бройлери). Дисертація оформлена акуратно, її мова логічна, точна й виразна, досить легко й швидко читається. Дисертаційна робота є закінченою науковою працею, яка вносить вагомий науковий доробок у науки: біотехнологія, біохімія та годівля сільськогосподарських тварин. Наукова праця має значне теоретичне та практичне значення, в ній добре висвітлено характер обраної теми, принципи вирішення поставлених наукових завдань, використані сучасні методи досліджень та отримані нові дані в експериментах на різних видах сільськогосподарської птиці. Аналіз матеріалів дисертації дає можливість зробити висновок, що дисертант за вибором теми, методичного рівня, аналізу літературних джерел і результатів досліджень, висновків та практичних рекомендацій проявив себе кваліфікованим, ерудованим науковцем і сформованим дослідником, здатним ставити та вирішувати наукові проблеми. Враховуючи актуальність теми, обсяг проведених досліджень, їх високий методичний рівень, наукову новизну, теоретичну й практичну цінність, ґрунтовний аналіз одержаних результатів, належне оформлення дисертації, апробацію та висвітлення результатів експериментальних досліджень у наукових працях, зміст висновків і рекомендацій, вважаю, що дисертаційна робота ЦЕХМІСТРЕНКО ОКСАНИ СЕРГІЙВНИ повністю відповідає вимогам МОН України «Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вчених звань», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України зі змінами та доповненнями, а її автор заслуговує на присвоєння наукового ступеня доктора сільськогосподарських наук за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія.

Офіційний опонент – доктор сільськогосподарських наук,
професор, головний науковий співробітник

Української лабораторії якості і безпеки

продукції АПК НУБІП України

Лідійчук за обслугує
якість з контролем якості
АПК НУБІП

В.В. Данчук

