

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу **Курбацької Олени Володимирівни** на тему: **«Токсикологічна оцінка кормів з використанням біоломінесцентних мікроорганізмів»**, подану на здобуття освітньо-наукового ступеня доктора філософії галузі знань 21 «Ветеринарія» за спеціальністю 211 «Ветеринарна медицина»

Актуальність теми дисертаційної роботи. Методи фізико-хімічного та аналітичного контролю, що використовуються у випробувальних лабораторіях не завжди можуть дати адекватну картину дії тієї чи іншої речовини на живий організм. Значна кількість речовин як природного, так і синтетичного походження, є багатокомпонентними, що ускладнює їх фізико-хімічну стандартизацію. У зв'язку з цим в системі контролю за станом природних середовищ та екосистем (в тому числі і кормів та продукції тваринного походження) важливу роль відіграє біотестування з використанням про- та еукаріотичних організмів у якості тест-моделей. Перевагою біотестування, у відповідності з сучасними вимогами – є зменшення експериментів з високоорганізованими тваринами та скорочення термінів дослідження. Особливо перспективним є напрямок, пов'язаний із застосуванням фотобіосенсорів, а саме: біоломінесцентних бактерій, які вирізняються з поміж інших тим, що як параметр життєдіяльності вимірюється інтенсивність їх світіння. Нині впровадження альтернативних методів оцінки безпечності кормів та продукції тваринництва у лабораторну практику відбувається під контролем міжнародних організацій, у тому числі Інтернаціонального комітету центру по затвердженню альтернативних методів.

В основу роботи здобувача покладена ідея розроблення скринінгової методики визначення токсичності кормів на основі біоломінесценції, яка дозволяє оперативно надати рекомендації щодо необхідності проведення подальшого хімічного аналізу для визначення основних забруднювачів кормів, що безперечно свідчить про актуальність проведених досліджень.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційну роботу виконано у лабораторії токсикологічного моніторингу Національного наукового центру «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», відповідно до завдань: 38.02.02.02 П «Розробити нові методики визначення основних абіотичних токсикантів (пестициди, неорганічні елементи тощо) для отримання якісної і безпечної продукції тваринництва» (номер державної реєстрації 0119U100990) та 34.03.00.01 Ф «Дослідження впливу на організм тварин факторів навколишнього середовища (наночастки, важкі метали, мікотоксини, тощо) та розроблення сучасної системи забезпечення якості і безпечності сільськогосподарської продукції за основними маркерами контролю» (номер державної реєстрації 0121U108350).

Наукова новизна одержаних результатів. Здобувачкою вперше в Україні було розроблено «Спосіб визначення загальної токсичності кормів за допомогою фотобактерій *Photobacterium phosphoreum*» (патент України на корисну модель № 147856), що включає екстрагування проби, фільтрування відібраного екстракту, внесення фільтрату в тест-культуру та визначення токсичності досліджуваного продукту (при цьому у якості екстрагента використовують етанол, а як тест-культуру – фотобактерії *Photobacterium phosphoreum*). Удосконалено систему культивування цього виду бактерій за рахунок розроблення «Поживного середовища для культивування фотолюмінісцентних мікроорганізмів *Photobacterium phosphoreum*» (патент України на корисну модель № 143070), що містить збалансовані компоненти: натрій хлористий, гліцерин, пептон, амоній фосфорнокислий двозаміщений, магній сірчаноокислий семиводний, калій фосфорнокислий двозаміщений, крейду та воду дистильовану. Вперше в Україні отримані нові дані відносно залежності інтенсивності світіння *Ph. phosphoreum* від вмісту в кормах таких забруднювачів як мікотоксини, важкі метали, пестициди та мікроелементи. Також встановлено, що окрім пригнічення інтенсивності світіння, певні токсиканти в малих дозах можуть його стимулювати.

Практичне і теоретичне значення одержаних результатів полягає в тому, що на основі вивчення інтенсивності світіння *Ph. phosphoreum* під дією різних токсикантів розроблено науково-методичні рекомендації «Експрес-методика визначення загальної токсичності кормів з використанням фотолюмінесцентних мікроорганізмів *Ph. phosphoreum*» (схвалено Науково-методичною радою Держпродспоживслужби: протокол № 1 від 12 травня 2021 р). Експрес-методика визначення загальної токсичності дозволяє швидко (1-1,5) год і з високою вірогідністю надавати токсикологічну оцінку кормам. Розроблене поживне середовище для культивування фотолюмінесцентних мікроорганізмів *Ph. phosphoreum*, що, за рахунок введенням нових компонентів, забезпечує достатньо високий рівень світіння бактерій, пришвидшує їх ріст і накопичення бактеріальної маси та більш економічно вигідніше. Практичним аспектом роботи є й те, що більшість токсикантів на максимально допустимих рівнях у кормах характеризували їх як токсичні або сильно токсичні, а саме: ДДТ, α - і β -ізомерів ГХЦГ, діючі речовини гербіцидів (імазамокс+імазапір), (2,4-Д 2-етилгексилловий ефір+флорасулам), хізалофоп-п-тефурил, калійна сіль гліфосату, (метолахлор+тербутилазин), ацетохлор, нікосульфурон, фунгіциду (карбендазим+ципроконазол), інсектициду (тіаклоприд), Т₂ токсину, дезоксиніваленолу, фумонізину, афлатоксину В₁, зеараленону, заліза, свинцю та арсену, що свідчить про необхідність подальших досліджень з вивчення токсикологічної характеристики вищевказаних речовин в організмі лабораторних і продуктивних тварин, можливо з подальшим переглядом (у бік зниження) МДР відповідного забруднювача у кормах.

Отримані здобувачкою дані використовуються в освітньому процесі при підготовці здобувачів вищої освіти за спеціальністю «Ветеринарна медицина» у закладах вищої освіти України, включені окремим підрозділом до монографії «Основи токсикологічної безпеки кормів у сільському господарстві» (ISBN 978-617-8238-25-4) та впроваджені в лабораторну практику у науково-дослідному хіміко-токсикологічному відділі Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи.

Ступінь обґрунтованості та достовірності досліджень, проведених здобувачем, підтверджується достатнім обсягом досліджуваного матеріалу. Дисертаційна робота виконана на сучасному науковому рівні, що дало змогу зробити аргументовані висновки та запропонувати практичні рекомендації. Новизну, теоретичну та практичну значимість роботи обумовлює адекватний методичний підхід, застосування сучасних методів обробки інформації. Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, та їх достовірність мають високий науковий рівень.

Автором застосовані релевантні методи дослідження: токсикологічні, фармакологічні, мікробіологічні, статистичні, які обумовили отримання обґрунтованих наукових положень, висновків і практичних рекомендацій.

Ступінь обґрунтованості наукових положень є достатнім враховуючи, що його підґрунтям стали результати вивчення наукових джерел, проведення мультифакторних досліджень та відповідному аналізі їх результатів.

Рукопис дисертаційної роботи написаний відповідно до вимог, які регулюють написання дисертацій, має відповідну структуру.

Дисертаційна робота представлена за класичною структурою, викладена на 231 сторінці друкованого тексту. Основні розділи дисертації представлені у вигляді анотації, вступу, огляду літератури, матеріалів та методів досліджень, власних досліджень, аналізу і узагальнення отриманих результатів, висновків, бібліографії та додатків. Дисертаційна робота має достатньо ілюстрованого матеріалу для пояснення і візуалізації отриманих результатів.

Анотація складається зі стислого переказу основних пунктів дисертаційного дослідження, в анотації українською та англійською мовами висвітлено зміст та основні результати дослідження, зазначено елементи наукової новизни та практичного значення, ключові слова.

У **вступі** описано актуальність досліджуваної проблеми, вказано зв'язок з іншими дослідницькими темами, сформульовано мету і задачі дослідження наведено публікації, в яких викладено результати дослідження з вказанням вкладу здобувача.

Огляд літератури написаний кваліфіковано. Складається з основних фактів, які є підґрунтям досліджуваної проблеми, описано поточний стан досліджень на основі аналізу статей інших дослідницьких груп та подано інформацію про сучасні методологічні підходи розв'язання поставленої наукової задачі.

У розділі **«Матеріали та методи досліджень»** авторка вичерпно викладає та обґрунтовує методику і схему експерименту, методи статистичної обробки результатів досліджень, подає детальний опис і обґрунтування використаних моделей токсикантів, процесу розробки та валідації методики визначення токсичності кормів з використанням біолоюмінесцентних мікроорганізмів. Також у розділі описані сучасні методи дослідження, які були використані здобувачкою під час проведення досліджень.

У розділі 3 **«Результати власних досліджень»**, який містить п'ять підрозділів, описано власне результати проведених експериментальних досліджень. Так, у підрозділі 3.1. **«Удосконалення системи культивування та розроблення поживного середовища для біолоюмінесцентних мікроорганізмів *Ph. phosphoreum*»** описано процес поетапного удосконалення поживного середовища для культивування *Ph. phosphoreum* шляхом підбору його компонентів та встановлення оптимальних параметрів передліофілізаційної підготовки й відновлення культури *Ph. phosphoreum*. Отримані дані дали змогу забезпечити кращі умови для накопичення біомаси та світіння бактеріальних клітин *Ph. phosphoreum* і їх надійний захист у процесі ліофілізації/деліофілізації. Результати даних експериментальних досліджень відповідали критерію «новизна», що в свою чергу дозволило отримати патент України на корисну модель № 143070.

Підрозділ 3.2. **«Розроблення та проведення валідації експрес-методи визначення загальної токсичності кормів з використанням біолоюмінесцентних мікроорганізмів»** поділено на два підпункти: 3.2.1 **«Розроблення експрес-методи визначення загальної токсичності кормів з використанням біолоюмінесцентних мікроорганізмів»** та 3.2.2 **Установлення валідаційних**

параметрів експрес-методики визначення загальної токсичності кормів з використанням біоломінесцентних мікроорганізмів. У першому підпункті підрозділу на основі експериментальних даних визначено алгоритм дослідження кормів на токсичність із використанням *Ph. phosphoreum* та обґрунтована кількісна оцінка показників тест-реакції, а в другому – наведено комплекс досліджень, що підтверджує можливість даної методики вірогідно виконувати вищевказану задачу, власне її валідацію. Отримані дані також відповідали критерію «новизна», що дозволило отримати патент України на корисну модель № 147856 та опублікувати науково-методичні рекомендації.

Підрозділ 3.3 присвячено вивченню впливу різних рівнів пестицидів різних класів у кормах на люмінесценцію біоломінесцентних мікроорганізмів та їх токсикологічній характеристиці. Підрозділ включає 3 підпункти. У підпункті 3.3.1 досліджено вплив різних рівнів пріоритетних пестицидів (гептахлор, дихлордифеніл трихлорметилметан, гексахлорциклогексан (α -, β - і γ -ізомери) у кормах на люмінесценцію біоломінесцентних мікроорганізмів та надано їм токсикологічну оцінку; у підпункті 3.3.2 – різних рівнів гербіцидів Сотеїра (імазамокс+імазапір), Грінфорт преміум (2,4-Д 2-етилгексиловий ефір+флорасулам), Грінфорт НК 40 (нікосульфурон), Скат (хізалофоп-п-тефуріл), Агроцит супер (калійна сіль гліфосату), Грінфорт екстра (метолахлор+тербутилазин), Астанес (ацетохлор), Астралід (клопіралід), Грінфорт хорс (хізалофоп-п-етил) і у підпункті 3.3.3 – різних рівнів фунгіциду Карбендазол (карбендазим+ципроконазол) та інсектицидів Велес (тіаклоприд+дельтаметрин) і Вирій (тіаклоприд).

У підрозділі 3.4 «Вивчення впливу різних рівнів мікотоксинів у кормах на люмінесценцію біоломінесцентних мікроорганізмів та їх токсикологічна характеристика» надані результати досліджень кормів забруднених різними рівнями мікотоксинів, а саме: Т2-токсину, зеараленону, дезоксиніваленолу, охратоксину А, фумонізіну та афлатоксину В₁.

Підрозділ 3.5 присвячено вивченню впливу різних рівнів неорганічних елементів у кормах на люмінесценцію біоломінесцентних мікроорганізмів та їх

токсикологічній характеристиці. Підрозділ включає 2 підпункти. У підпункті 3.5.1 досліджено вплив різних рівнів важких металів (арсену, кадмію, свинцю, ртуті, міді і цинку) у кормах на люмінесценцію біоломінесцентних мікроорганізмів та надано їм токсикологічну оцінку, а у підпункті 3.5.2 – різних рівнів мікроелементів: заліза, кобальту, марганцю, селену, нікелю, хрому і бромю.

Опис отриманих власних результатів підсумовується в розділі 4 «**Аналіз і узагальнення результатів дослідження**», в якому авторка дискутує і порівнює отримані дані з наявними даними літератури відносно впливу різних рівнів хімічних сполук та речовин на біоломінесценцію різних видів біоломінесцентних мікроорганізмів, включаючи *Ph. phosphoreum*.

Висновки логічно сформульовані на основі результатів досліджень та відображають найбільш суттєву інформацію, отриману в процесі дослідження.

Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях. За матеріалами дисертації опубліковано 16 друкованих наукових праць, 4 статті у фахових наукових виданнях України; одна стаття у періодичному науковому виданні інших держав, які входять до складу Європейського Союзу (індексується в базі Scopus); 2 патенти України на корисну модель; одна монографія; одні методичні рекомендації та 7 тез доповідей на наукових конференціях. Положення дисертації були обговорені й схвалені на міжнародних, національних наукових і науково-практичних конференціях.

Зауваження щодо змісту та оформлення дисертації. Наукова робота виконана на достатньо високому рівні, містить наукову новизну та має практичну цінність, проте доцільно було б вказати на окремі дискусійні положення, зауваження та побажання:

1. Чому як тест-культуру для розробки методики було обрано саме *Ph. phosphoreum*, адже з огляду літератури ми бачимо, що біоломінесцентних мікроорганізмів налічується до 12 видів?

2. Доцільно було б щоб здобувачка під час прилюдного захисту дисертації детальніше пояснила механізм біоломінесценції, оскільки власне на цьому базується вся робота.

3. Також варто було б вказати чи розроблені аналогічні методики (на основі біолюмінесценції) за кордоном та які основні переваги розробленої методики порівняно з існуючими, і як вони впроваджені в системі забезпечення безпечності кормів на законодавчому рівні?

4. Чим відрізняється процес валідації методик такого формату від звичайних аналітичних?

5. За якою методикою проводили відновлення ростових властивостей *Ph. phosphoreum* після ліофілізації та якою була експозиція і температурний режим?

6. Доцільно було б пояснити за яким принципом було обрано відповідні рівні токсикантів у кормах?

7. Назви хімічних елементів необхідно подавати згідно з ДСТУ 2439:2018 «Хімічні елементи та прості речовини. Терміни та визначення основних понять, назви й символи».

8. Чи можна застосовувати розроблену методику для оцінки безпечності продукції тваринництва чи інших об'єктів ветеринарного нагляду (грунт, вода тощо)?

9. З чим пов'язане стимулювання біолюмінесценції *Ph. Phosphoreum* різними токсикантами у малих дозах та як його можна використати у практичному плані?

10. Чи підтверджують результати Ваших досліджень необхідність корекції встановлених максимально допустимих рівнів досліджуваних токсикантів у кормах?

11. Чи проводили (плануєте провести) дослідження відносно одночасного впливу декількох токсикантів біолюмінесценцію *Ph. phosphoreum*? Те ж саме питання відносно біотичних контамінантів кормів (мікроміцети, патогенні мікроорганізми)?

Дані зауваження мають рекомендаційний характер, направлений на самовдосконалення і розвиток компетенцій дисертанта. Вказані дискусійні

положення та побажання відображають власну наукову позицію опонента і не знижують загальної позитивної оцінки роботи.

Загальний висновок. Аналіз дисертації та наукових праць, опублікованих за темою дозволяє зробити висновок, що дисертаційна робота Курбацької Олени Володимирівни на тему: «Токсикологічна оцінка кормів з використанням біоломінесцентних мікроорганізмів» є цілісною науковою працею, яка вирішує актуальну експериментальну задачу. За актуальністю, науковою новизною, практичним значенням, достатньою повнотою викладення матеріалів в опублікованих працях, оформленням робота повністю відповідає вимогам наказу Міністерства освіти і науки України «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації» від 12.01.2017 року № 40, зареєстрованого в Міністерстві юстиції України 03 лютого 2017 року за № 155/30023, Постанови Кабінету Міністрів України «Про затвердження Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії» від 12 січня 2022 р. № 44, а її авторка Курбацька Олена Володимирівна заслуговує на присудження ступеня доктора філософії галузі знань 21 «Ветеринарія» за спеціальністю 211 «Ветеринарна медицина».

Офіційний опонент, професор кафедри
нормальної і патологічної морфології, гігієни та експертизи
Поліського національного університету
доктор ветеринарних наук, професор

Василь СОКОЛЮК

11 березня 2024 року

