ВІДГУК

офіційного опонента кандидата сільськогосподарських наук, доцента ЮНИКА Анатолія Васильовича на дисертацію ГОЦУЛЯК Віталія Ярославовича на тему: «Порівняльний аналіз застосування ліпаз для отримання біодизелю з рижію та абіссинської гірчиці», представлену на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія»

Актуальність теми. Актуальність дослідження полягає не лише у вивченні жирнокислотного складу *Camelina sativa* та *Brassica carinata*, але й у визначенні ліпаз, найбільш придатних для їх трансестерифікації у біодизель. Порівняння ендогенних триацилгліцерол-ліпаз із комерційними препаратами грибного походження дозволяє оцінити їхні структурні, доменні та еволюційні особливості. Доцільним є поєднання біоінформатичного аналізу з узагальненням літературних даних та багатокритеріальним порівнянням ліпазних препаратів, що дає змогу визначити перспективні ферменти та межі застосовності опублікованих результатів. Таким чином, тема дослідження є актуальною, оскільки поєднує фундаментальне вивчення генетично зумовленого складу олії з прикладним завданням добору біокаталізаторів і обґрунтування ефективності ліпазної трансестерифікації. Це дозволяє розглядати *C. sativa* та *B. carinata* як біологічно й технологічно різні моделі сировини, для яких ефективність переробки визначається узгодженням трьох складових: жирнокислотного складу, властивостей біокаталізатора та умов ферментативного перетворення.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. В основу роботи покладено результати, отримані автором в рамках виконання трьох держбюджетних тематик в Державній установі «Інститут харчової біотехнології та геноміки Національної академії наук України» (м. Київ) впродовж 2018-2025 рр.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій. Для досягнення мети, яка полягала в обґрунтуванні перспектив використання *Camelina sativa* та *Brassica carinata* як олійної сировини для виробництва біодизелю шляхом ліпазної трансестерифікації на основі аналізу генетичних чинників формування жирнокислотного складу, біохімічних особливостей олії та потенційної придатності комерційних ліпаз до перетворення триацилгліцеролів у жирнокислотні алкілові естери, Гоцуляк Віталій Ярославович сформулював конкретні завдання й опрацював низку сучасних методик проведення лабораторних досліджень, необхідних біохімічних аналізів. Отримані дані оброблено статистично, їхня достовірність не викликає сумнівів. Сформульовані висновки і наукові положення ґрунтуються на значному фактичному матеріалі, цілком відповідають змісту роботи й одержаним результатам. Достовірність отриманих результатів забезпечується виконанням автором низки експериментальних досліджень, публікацією статей у провідних фахових виданнях

України та апробацією матеріалів на всеукраїнських і міжнародних наукових конференціях.

Наукова новизна одержаних результатів. Всі отримані автором результати відрізняються високим ступенем новизни, є достовірними та належно обґрунтованими. Наукова значимість дисертації не викликає сумніву: у роботі комплексно обґрунтовано зв'язок між генетичними чинниками формування жирнокислотного складу олій *C. sativa* та *B. carinata* та перспективами використання цих олій для виробництва біодизелю шляхом ліпазної трансестерифікації. Уперше в межах єдиного дослідження проведено порівняльний аналіз генів *FAD2, FAD3* і *FAE1* у *C. sativa* та споріднених видів *Camelina* з урахуванням їх копійності, філогенетичного положення, синтенії, структурної організації, регуляторних ділянок, експресійної активності та потенційного внеску у формування жирнокислотного складу насіння. Показано, що дикі родичі рижію можуть бути джерелом цінних алельних або регуляторних варіантів, потенційно придатних для поліпшення складу олії *C. sativa* відповідно до потреб паливного використання. Уперше для *B. carinata* системно охарактеризовано набір ключових генів, пов'язаних із біосинтезом, модифікацією та накопиченням олії, зокрема *DGAT1, DGAT2, LPAT2, WRI1, FAD2, FAD3* і *FAE1*. Встановлено особливості їх копійності, походження, філогенетичних зв'язків і синтенії в амфідиплоїдному геномі карінати. Для досліджених селекційних ліній *B. carinata* здійснено узагальнену оцінку жирнокислотного профілю з використанням коефіцієнтів елонгації та десатурації, що дозволило охарактеризувати не лише вміст окремих жирних кислот, але й спрямованість метаболічного потоку. Розроблено та застосовано структурований аналітичний підхід до оцінки придатності комерційних ліпаз для трансестерифікації олій *C. sativa* та *B. carinata*. На основі матриці доказовості, MCDA-підходу, Pugh-матриці, SWOT-подібного аналізу та Evidence-to-Application Map обґрунтовано порівняльну ієрархію ліпазних препаратів Novozym 435, Lipozyme CALB L, Resinase HT і Palatase 20000 L.

Практичне значення одержаних результатів. Результати дисертаційної роботи мають практичне значення для селекції, біотехнологічного поліпшення олійних культур і подальшого розвитку технологій отримання біодизелю з рослинної сировини. Отримані дані щодо генів *FAD2, FAD3, FAE1, DGAT1, DGAT2, LPAT2* і *WRI1* можуть бути використані для добору молекулярних мішеней, пов'язаних із формуванням жирнокислотного складу олії. Виявлені особливості жирнокислотного складу *C. sativa*, диких видів *Camelina* та селекційних ліній *B. carinata* можуть бути використані для добору вихідного матеріалу з бажаними характеристиками олії. Для гірчиці абіссинської важливим є добір форм із високим вмістом довголанцюгових мононенасичених жирних кислот і водночас прийнятним балансом показників десатурації та елонгації, що може бути використано у селекційних програмах, спрямованих на створення технічних олійних культур для біопаливного напряму.

Результати порівняльного аналізу ендогенних і комерційних ліпаз мають значення для планування подальших експериментів із ферментативної трансестерифікації олій рижію та гірчиці абісиннської. Запропонована ієрархія комерційних ліпаз дозволяє раціонально визначити пріоритети для подальшої перевірки. Це створює передумови для подальшого розвитку екологічніших, технологічно гнучкіших і більш цілеспрямованих способів виробництва біодизелю з олій *C. sativa* та *B. carinata*.

Висвітлення результатів у наукових публікаціях. За результатами дисертаційної роботи Гоцуляка В.Я. опубліковано 9 робіт, зокрема 2 статті в періодичних виданнях, індексованих у міжнародній наукометричній базі даних Web of Science / Scopus (Q2 - 1, Q3 - 1), 5 тез доповідей на наукових конференціях. Публікації вичерпно відображають основні отримані результати, відмічають їхню новизну та вказують на наукову значущість.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота Гоцуляка В.Я. викладена на 245 сторінках машинописного тексту і складається зі вступу, 5 розділів, узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаних джерел та 5 додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 186 сторінок друкованого тексту. Робота містить 18 таблиць та 31 рисунок. Список використаних джерел містить 217 найменувань, з яких 2 кирилицею та 215 латиницею.

У вступі викладено актуальність проведених досліджень, зв’язок роботи з науковими програмами, мету і завдання дослідження, його об’єкт, предмет та методи, наукову новизну та практичне значення одержаних результатів, особистий внесок здобувача, апробацію результатів дослідження та публікації.

У першому розділі «*Огляд літератури*» проаналізовано наукові праці вчених щодо олійних культур *Camelina sativa* та *Brassica carinata*, які є перспективними для виробництва біодизелю. У контексті біодизельних технологій особливу увагу приділено застосуванню ліпазної трансестерифікації, яка розглядається як перспективний напрям підвищення ефективності та екологічності виробництва. Автор для написання розділу опрацював значний обсяг іноземної та вітчизняної літератури, що дозволило йому визначитися в недостатньому дослідженні ряду питань і вдало й обґрунтовано сформулювати пріоритетні складові елементи для досліджень. Цитування джерел літератури відповідає списку використаних джерел, в кінці розділу наведено загальний висновок з обґрунтуванням доцільності проведення власних досліджень.

Розділ 2 «*Матеріали та методи дослідження*» присвячений опису використаних матеріалів і методичних підходів. Обрана методична база відповідає поставленим завданням та забезпечує досягнення мети дослідження. Зміст розділу свідчить про належне володіння Гоцуляком В.Я. методиками проведення лабораторних досліджень.

У розділі 3 «*Особливості генів ферментів синтезу жирних кислот Camelina та їх вплив на склад олії насіння*» представлено комплексний і деталізований аналіз різноманіття генів *FAD2*, *FAD3* і *FAE1* у п’яти видів роду *Camelina*, зокрема у

гексаплоїдного виду *C. sativa* та чотирьох диплоїдних видів - *C. neglecta, C. laxa, C. hispida* var. *hispida* і *C. hispida* var. *grandiflora*. Описані результати формують основу для розроблення різних стратегій подальших досліджень і селекційного покращення *Camelina*. У сукупності ці підходи окреслюють перспективи подальшого розвитку *C.sativa* як високопродуктивної олійної культури, здатної відповідати як економічним, так і екологічним вимогам сталого виробництва рослинної сировини.

У розділі 4 «*Особливості генів ферментів синтезу жирних кислот Brassica carinata та їх вплив на склад олії насіння*» охарактеризовано геномну організацію, еволюційні зв'язки та потенційне прикладне значення генів, залучених до синтезу жирних кислот і ліпідів у *Brassica carinata*. За результатами повногеномного пошуку ідентифіковано набір генів *DGAT1, DGAT2, LPAT2, WRI1, FAD2, FAD3* та *FAE1*. Аналіз жирнокислотного складу олії насіння показав виражене накопичення ерукової кислоти та міжгенотипові відмінності у співвідношенні шляхів елонгації й десатурації. Отримані результати формують основу для подальшого використання *B. carinata* як технічної олійної культури, а також для розроблення селекційних і генно-інженерних підходів, спрямованих на оптимізацію вмісту олії, жирнокислотного профілю та придатності цієї культури для виробництва біопалива й олеохімічної сировини.

У п'ятому розділі «*Порівняльний аналіз ліпаз та їх застосування для ферментативної трансестерифікації олій рижію та карінати*» ідентифіковано гени триацилгліцерол-ліпаз рижію та гірчиці абіссинської, проаналізовано особливості філогенетичних взаємозв'язків, доменної організації та консервативних мотивів відповідних білкових послідовностей, а також здійснено їх порівняння з комерційно доступними ліпазами грибного походження. Результати аналітичної оцінки даних щодо чотирьох відібраних ліпаз показують, що Novozym 435 є найкраще підтвердженим стартовим препаратом для подальших досліджень, Resinase HT - перспективним альтернативним ферментом, Lipozyme CALB L - важливим інструментом для оцінки ролі препаративної форми, а Palatase 20000 L - додатковою порівняльною позицією з високим рівнем невизначеності

Завершується дисертаційна робота доволі детальним узагальненням отриманих результатів та викладенням загальних **висновків**, які експериментально та теоретично обґрунтовані і відповідають меті та завданням дослідження, а достовірність не викликає сумніву. Висновки сформульовано чітко і лаконічно.

Дисертація Гоцуляка Віталія Ярославовича є завершеною науковою працею, а її оформлення відповідає встановленим вимогам МОН України.

Відсутність (наявність) порушення академічної доброчесності. Дисертація є самостійно написаною кваліфікаційною науковою працею із науково-обґрунтованими висновками та рекомендаціями, які подано автором для публічного захисту. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідні джерела. У роботі відсутнє привласнення чужих ідей, результатів або слів без

оформлення належного цитування. Таким чином, у дисертаційному дослідженні Гоцуляка В.Я. відсутні порушення академічної доброчесності.

Дискусійні положення та зауваження щодо дисертаційної роботи. Поряд з позитивною оцінкою дисертаційної роботи Гоцуляка В.Я., вона, як наукова творча праця, не позбавлена недоліків, які можуть слугувати підґрунтям для наукової дискусії та вдосконалення, зокрема:

1. Варто зазначити, що для аналітичного огляду площ вирощуваних культур (Підрозділ 1.1. *Біодизель та рослинні олії як сировина для його одержання*) доцільно використовувати більш актуальні статистичні дані, що ще більше підтверджувало б практичну цінність дисертаційної роботи. Так, автор на с. 35 відмічає, що понад 65 % від загальної кількості рослинних олій, які виробляються у світі, забезпечується вирощуванням ріпаку (*Brassica napus*), сої (*Glycine max*), олійної пальми (*Elaeis guineensis*) та соняшника (*Helianthus annuus*) (Warwick, 2011). Проте, за даними ФАО (2024), у світовому виробництві рослинних олій у 2023 р. частка цих культур становила вже близько 88 %, із тенденцією подальшого зростання.

2. В огляді літератури доцільно було б приділити більше уваги законодавчим положенням, стандартам якості біопалива, оскільки вони є критично важливими для його практичного впровадження. Включення аналізу нормативної бази дозволило б не лише окреслити наукові перспективи, але й підкреслити реальні можливості інтеграції результатів дослідження у виробничу практику та їх відповідність міжнародним вимогам.

3. На с. 37–38 розділу 1 варто було відмітити, що рижій (*C. sativa*) є малопоширеною, але традиційною культурою для регіонів України з достатнім вологозабезпеченням, яка була поширеною у XIX – першій половині XX ст. Водночас на сьогодні він залишається нішевою культурою з незначними посівними площами, проте зберігає перспективний потенціал для використання у біоенергетиці та виробництві авіаційного палива.

4. В огляді літератури значна увага приділяється перспективам вирощування *Brassica carinata* як джерела для виробництва біопалива. Проте, автор не наводить даних щодо врожайності цієї культури та валового виходу олії з одиниці площі, що є необхідним для розуміння її конкурентоспроможності порівняно з іншими представниками родини *Brassicaceae*. Включення таких показників дозволило б більш обґрунтовано оцінити практичну значимість вирощування *B. carinata* у контексті сучасних агротехнологій та біоенергетики.

5. На с. 39 та 42 дисертації використано вираз «вміст олії в насінні», який у наукових працях доцільніше замінити на «вміст жиру» або «вміст ліпідів у насінні», що відповідає прийнятій термінології у біохімічних та агрономічних дослідженнях. Крім того, на с. 40 невдалим видається формулювання «для насіннєвих олій багатьох культур», яке потребує уточнення. У наукових роботах, зокрема дисертаціях, на відміну

від науково-популярної літератури, більш коректним є використання латинської назви *Brassica carinata* замість спрощеного «каріната» (с. 73).

6. У деяких дослідженнях результати наведені без належного статистичного аналізу (середні значення, довірчі інтервали, рівень значущості), що знижує їхню доказовість. Зокрема, у таблиці 4.4 «Хроматографічний аналіз жирнокислотного складу олії насіння *Brassica carinata* залежно від генотипу» (с. 138) відсутні показники статистичної обробки, що ускладнює інтерпретацію даних. Включення відповідних статистичних параметрів дозволило б підвищити наукову достовірність та практичну цінність результатів.

7. У розділі 5 «Порівняльний аналіз ліпаз та їх застосування для ферментативної трансестерифікації олій рижію та *Brassica carinata*» характеристика окремих ферментів подана неповно. Зокрема, для таких препаратів, як Resinase HT та Palatase 20000 L, наведено лише загальні відомості без ґрунтовного аналізу їхньої ефективності за різних технологічних режимів. Це обмежує можливість оцінки їхнього практичного застосування та порівняння з іншими ферментами.

8. Доцільно було б розширити експериментальну частину дослідження, оскільки наведені результати мають переважно лабораторний характер. Відсутність промислових випробувань чи масштабних польових експериментів обмежує можливість практичного впровадження отриманих висновків у виробництво, тому включення таких даних підвищило б прикладну цінність роботи.

Висновок щодо відповідності дисертації встановленим нормам. Вважаю, що дисертаційна робота **Гоцуляка Віталія Ярославовича на тему: «Порівняльний аналіз застосування ліпаз для отримання біодизелю з рижію та абіссинської гірчиці»** за актуальністю, ступенем новизни та практичним значенням представлених результатів, їх обґрунтованості, повноти викладення в опублікованих наукових працях відповідає вимогам «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 (в редакції постанови Кабінету Міністрів України від 3 травня 2024 р. № 507) та вимогам до оформлення дисертації, затвердженим наказом МОН України № 40 від 12.01.2017 р. «Про затвердження вимог до оформлення дисертації», а її автор – **Гоцуляк Віталій Ярославович** заслуговує на присудження ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія».

Офіційний опонент,
доцент кафедри рослинництва НУБіП України,
канд. с.-г. наук, доцент **Анатолій ЮНИК**
27.08.2026 р.