

ВІДГУК
офіційного рецензента на дисертаційну роботу
Гоцуляка Віталія Ярославовича
«Порівняльний аналіз застосування ліпаз для отримання біодизелю з
рижію та абіссинської гірчиці»,
представлену на здобуття наукового ступеня доктора філософії за
спеціальністю 091 – Біологія

Актуальність обраної теми. Актуальність теми обумовлена необхідністю пошуку відновлюваних джерел енергії та рослинної сировини для виробництва біопалива, що залишається одним із важливих напрямів сучасної біотехнології. Серед різних типів біопалива особливе місце займає біодизель, який може бути отриманий із рослинних олій шляхом трансестерифікації триацилгліцеролів із коротколанцюговими спиртами. Перспективність такого підходу визначається доступністю олійної сировини, та її якістю, насамперед жирнокислотним складом. Особливу увагу привертають представники родини *Brassicaceae*, серед яких *Camelina sativa* (рижій посівний) та *Brassica carinata* (абіссинська гірчиця). *C. sativa* є низьковитратною культурою з високою часткою ненасичених жирних кислот, *B. carinata* – високоерукова непродовольча сировина технічного призначення. Такі характеристики дозволяють розглядати ці культури як перспективні та взаємно доповнювальні для виробництва біодизелю. Формування жирнокислотного складу олії визначається роботою комплексу генів, залучених до біосинтезу, десатурації, елонгації та накопичення триацилгліцеролів, їх дослідження є необхідною основою для отримання більш придатної сировини для біодизельного виробництва. Технологічний аспект переробки олії, а саме ліпазна трансестерифікація розглядається як важливий елемент каталізу, який може працювати за відносно помірних умов і забезпечувати певну субстратну або позиційну специфічність. У зв'язку з цим обрана тема дослідження є актуальною, оскільки поєднує фундаментальне вивчення генетичних механізмів формування жирнокислотного складу олії з прикладним завданням добору ліпаз і

обґрунтування перспектив ліпазної трансестерифікації для отримання біодизелю.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота виконана в Державній установі «Інститут харчової біотехнології та геноміки Національної академії наук України» (м. Київ) у межах науково-дослідних проєктів «Розробка технологічних засад отримання біодизелю з олії карінати (*Brassica carinata*) шляхом ліпазної трансестерифікації» (№ ДР 0124U002185, 2024-25 рр.); "Економічно важливі олійні культури для покращення продовольчої і біологічної безпеки держави та створення нових лікарських препаратів" (№ ДР 0123U102104, 2023-24 рр.); у рамках програми 6541230; цільової комплексної науково-технічної програми наукових досліджень НАН України «Біологічні ресурси і новітні технології біоенергоконверсії» (2018-22 рр.).

Ступінь обґрунтованості та достовірності. Дисертаційна робота Гоцуляка В.Я. демонструє високий ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень і висновків. Структура роботи відповідає поставленій меті та завданням, що були реалізовані на основі сучасних методичних підходів. Було проведено значний об'єм експериментальної роботи з використанням комплексу біоінформатичних, порівняльно-геномних, біохімічних, аналітичних і статистичних методів. Автором опрацьовано значний обсяг літературних джерел, що забезпечило теоретичну базу для інтерпретації результатів. Здійснено статистичну обробку даних, що дозволило зробити науково обґрунтовані висновки.

Повнота викладу у фахових виданнях та апробація основних результатів.

За матеріалами дисертаційного дослідження опубліковано 9 робіт, зокрема 2 статті в періодичних виданнях, індексованих у міжнародній наукометричній базі даних Web of Science / Scopus (Q2 – 1, Q3 – 1), 2 статті в українському періодичному виданні та 5 тез доповідей на міжнародних та всеукраїнських наукових конференціях, що свідчить про повноту апробації роботи. Публікації

повністю розкривають основні результати дослідження, підкреслюють наукову новизну та практичне значення роботи.

Наукова новизна. У дисертаційній роботі В.Я. Гоцуляка комплексно обґрунтовано зв'язок між генетичними чинниками формування жирнокислотного складу олій *C. sativa* та *B. carinata* і перспективами використання цих олій для виробництва біодизелю шляхом ліпазної трансестерифікації.

Уперше в межах єдиного дослідження проведено порівняльний аналіз генів *FAD2*, *FAD3* і *FAE1* у видів *Camelina* з урахуванням їх копійності, синтенії, структурної організації, експресійної активності, потенційного внеску у формування жирнокислотного складу насіння та показано відмінності за рівнем експресії та регуляторними особливостями, що може визначати їх нерівнозначний внесок у накопичення окремих жирних кислот.

Розширено уявлення про природну мінливість жирнокислотного складу у представників роду *Camelina*. Встановлено, що дикі родичі рижію можуть бути джерелом цінних алельних варіантів, потенційно придатних для поліпшення складу олії *C. sativa* відповідно до потреб паливного використання.

Уперше для досліджених матеріалів *B. carinata* охарактеризовано набір ключових генів, зокрема *DGAT1*, *DGAT2*, *LPAT2*, *WRI1*, *FAD2*, *FAD3* і *FAE1*, пов'язаних із біосинтезом, модифікацією та накопиченням олії.

Уперше здійснено узагальнену оцінку жирнокислотного профілю досліджених селекційних ліній *B. carinata* з використанням коефіцієнтів елонгації та десатурації, що має значення для добору сировини з бажаними властивостями для трансестерифікації.

Показано, що виявлені SSR-послідовності у регуляторних і структурних ділянках генів *B. carinata*, пов'язаних із формуванням жирнокислотного складу, можуть бути використані для маркер-опосередкованого добору та пошуку форм із поліпшеними характеристиками олії.

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, що має значення для інтерпретації та доказовості їх біодизельної бази.

Практичне значення одержаних результатів.

Результати дисертаційної роботи мають практичне значення для біотехнологічного поліпшення олійних культур і подальшого розвитку технологій отримання біодизелю з рослинної сировини. Виявлені особливості жирнокислотного складу *C. sativa*, диких видів *Camelina* та селекційних ліній *B. carinata* можливо використовувати у селекційних програмах, спрямованих на створення технічних олійних культур для біопаливного напрямку. Ідентифіковані SSR-послідовності у генах *B. carinata*, пов'язаних із ліпідним метаболізмом, є перспективними для використання як потенційні маркери для генотипування та маркер-опосередкованого добору форм із бажаним жирнокислотним профілем, а також підвищення ефективності селекції карінати як непродуктивної технічної культури. Результати порівняльного аналізу ендогенних і комерційних ліпаз та запропонована ієрархія комерційних ліпаз дозволяє раціонально визначити пріоритети для подальшої перевірки: Novozym 435 може бути використаний як основний референтний препарат, Resinase HT – як перспективна альтернативна ліпаза, Lipozyme CALB L – як препарат для оцінки впливу рідкої форми CALB, а Palatase 20000 L – як додаткова порівняльна позиція з нижчим рівнем доказової підтримки. Важливим практичним результатом роботи є обґрунтування доцільності поєднання двох напрямів: біологічного поліпшення жирнокислотного складу олії та технологічного добору ліпазних препаратів для її подальшої трансестерифікації, що створює передумови для подальшого розвитку більш екологічних, технологічно гнучких і цілеспрямованих способів виробництва біодизелю з олій *C. sativa* та *B. carinata*.

Результати дисертаційного дослідження можна використовувати для досягнення цілі сталого розвитку 7. Доступна та чиста енергія: забезпечення доступу до недорогих, надійних, сталих та сучасних джерел енергії.

Академічна доброчесність. Дисертаційне дослідження виконано з дотриманням принципів академічної доброчесності. Дисертаційна робота засвідчує наукову етику та відповідальність автора, який коректно використовує ідеї та результати інших дослідників, що виражається у належному оформленні посилань на першоджерела.

Оцінка структури, змісту та форми дисертації. Дисертаційна робота викладена на 245 сторінках машинописного тексту і складається з анотації, 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.

Вступ дисертації містить усі обов'язкові структурні елементи. Зокрема, визначено актуальність обраної теми, мету, завдання, об'єкт і предмет дослідження, методи, наведено інформацію про наукову новизну, практичне значення, особистий внесок здобувача та апробацію роботи.

У **Розділі 1** представлено аналітичний огляд наукової літератури, у якому висвітлено сучасні дані про біодизель та рослинні олії, охарактеризовано представників родів *Brassica* та *Camelina* як сировини для їх одержання. Значну увагу приділено висвітленню питання про жирнокислотний склад рослинної олії, оскільки саме він значною мірою визначає її паливну цінність. Проаналізовано генетичні механізми формування олії в насінні рослин. Висвітлено значення аналізу структури, копійності, еволюції окремих генів для подальшого біотехнологічного поліпшення олії, відповідно до вимог харчового, технічного та паливного використання. Представлено критичний аналіз сучасних методів та підходів до отримання біодизеля з рослинної сировини. У

контексті біодизельних технологій розглянуто ліпази та особливості ферментативної трансестерифікації рослинних олій.

У **Розділі 2** «Матеріали і методи» дисертаційної роботи обґрунтовано методичні підходи, які були застосовані для досягнення поставлених завдань. Використання комплексу біоінформатичних, порівняльно-геномних, біохімічних, аналітичних і статистичних методів забезпечило порівняльний аналіз застосування ліпаз для отримання біодизелю з ріжю та абіссинської гірчиці та високий рівень наукової достовірності отриманих результатів.

У **Розділі 3** «Особливості генів ферментів синтезу жирних кислот *Camelina* та їх вплив на склад олії насіння» представлено результати комплексного дослідження зв'язку між генетичними чинниками, які відповідають за формування жирнокислотного складу олій у представників роду *Camelina*, та перспективами використання цих олій для виробництва біодизелю шляхом ліпазної трансестерифікації. Розглядається різноманіття генів *FAD2* в геномах видів *Camelina*. Виявлено сім генів *FAD2* у геномах п'яти видів *Camelina* та проаналізовано різноманіття цих генів. Представлено організацію генних ділянок, розподіл консервативних функціональних доменів в ідентифікованих пептидах *FAD2*. У досліджених видів проведено ідентифікацію генів *FAD3*. За попередньою схемою проаналізовано розподіл консервативних доменів і показано, що всі ідентифіковані білки генів *FAD3* містять ті самі домени десатураз жирних кислот, що й білки *FAD2*. Вивчено різноманіття генів *FAE1*, які виявились менш консервативними, ніж *FAD2* та *FAD3*. Достатню увагу приділено походженню панелі *FAD2*, *FAD3* і *FAE1* з точки зору еволюції роду *Camelina*, а також розглянуто різноманіття цих генів та можливості їх використання для покращення виду *C. sativa*. В цілому обґрунтовано, що використані у роботі наукові підходи, є перспективними для подальшого використання *C. sativa* як високопродуктивної олійної культури, що відповідає економічним та екологічним вимогам сталого виробництва рослинної сировини.

У **Розділі 4** «Особливості генів ферментів синтезу жирних кислот *Brassica carinata* та їх вплив на склад олії насіння» досліджено ряд генів, залучених до біосинтезу ліпідів у *B. carinata*. Проведено реконструкцію філогенії та синтенії ідентифікованих генів та пошук мікросателітних послідовностей в інтронах та промоторних регіонах генів. Розглядаються особливості жирнокислотного складу олії насіння різних генотипів *B. carinata*, що дозволяє оцінити спрямованість відповідних метаболічних процесів та роль ідентифікованих генів у регуляції синтезу жирних кислот та ліпідів. Отримані результати формують основу для подальшого використання *B. carinata* як технічної олійної культури, а також її придатності для виробництва біопалива й олеохімічної сировини.

У **Розділі 5** «Порівняльний аналіз ліпаз та їх застосування для ферментативної трансестерифікації олій рижію та карінати» представлено порівняльний аналіз ендегенних ліпаз *Camelina sativa* та промислових ліпаз грибного походження. За результатами філогенетичного аналізу ліпази було розподілено на дві групи та представлено їх характеристики згідно амінокислотних послідовностей. Окреслено відмінності функціональних доменів ТАГ-ліпаз *B. carinata* та комерційно доступних ТАГ-ліпаз. Аналітична оцінка ефективності ліпазної трансестерифікації олій рижію та карінати дозволила сформувати біоінформатичне підґрунтя для добору комерційних ферментів, потенційно придатних для каталізу реакцій трансестерифікації олій цих культур. Було здійснено аналітичну оцінку літературних даних щодо застосування чотирьох комерційних ліпазних препаратів у реакціях трансестерифікації рослинних олій. Розглянуто референтні дані щодо метанольної та етанольної конверсії олій рижію та карінати, а також виконано узагальнення літературної доказової бази щодо відібраних ліпаз, що дозволило створити матрицю доказовості для чотирьох ліпаз як первинного рівня формалізації літературного аналізу. Представлено MCDA матрицю багатокритеріального аналізу вибору ліпаз для потенційної трансестерифікації олій рижію та карінати, Pugh-матрицю оцінки чотирьох ліпаз відносно

стандарту метанолізу/етанолізу до FAME/FAEE, а також SWOT-подібну матрицю. В якості фінального етапу узагальнення представлено Evidence-to-Application Map. Узагальнена інтерпретація літературних даних засвідчила, що олії рижію та карінати є технологічно придатними субстратами для утворення жирнокислотних алкілових естерів.

Розділ «Узагальнення результатів досліджень» охоплює ключові складові дисертаційної роботи: констатується центральна логіка роботи, пов'язана із з'ясуванням біологічних чинників, які визначають якість олійної сировини та її технологічної придатності до ферментативного перетворення у жирнокислотні алкілові естери. Акцентується увага на аналізі генів, залучених до біосинтезу жирних кислот у досліджуваних видів; біохімічному аналізі насіння видів з метою визначити цінність їх олії, зокрема, для виробництва біодизелю; геномному аналізі генів, залучених до формування кількісних і якісних показників олії; порівнянні видів з точки зору біодизельного використання; розглядаються підходи до майбутнього генетичного та біотехнологічного покращення цих культур. Обговорюється друга частина роботи, присвячена біоінформатичному дослідженню чотирьох комерційних ліпаз як біокаталізаторів, здатних перетворювати олію рижію та карінати у жирнокислотні алкілові естери. На основі цього розділу можна об'єктивно оцінити рівень наукової новизни та практичної цінності отриманих результатів, що підтверджує успішне досягнення поставлених у дослідженні цілей і завдань.

Сформульовані у дисертації **висновки** є чіткими, послідовними, логічними та повністю відповідають меті та завданням дослідження. Вони узагальнюють отримані експериментальні результати та демонструють високий рівень опрацювання матеріалу.

Запитання та побажання щодо змісту дисертаційної роботи. Суттєвих зауважень до дисертаційної роботи Гоцуляка Віталія Ярославовича немає. Однак є питання для дискусії і перспектив подальшої наукової роботи. А саме, які із одержаних у роботі експериментальних даних і узагальнень, Ви вважаєте

найбільш визначальними при вирішенні питань практичного використання олій рижію та карінати для виробництва біодизелю ?

Зазначене питання має дискусійний характер і не впливає на загальну позитивну оцінку дисертаційної роботи.

Загальний висновок рецензента. Дисертаційна робота «Порівняльний аналіз застосування ліпаз для отримання біодизелю з рижію та абіссинської гірчиці» є завершеним дослідженням, що вирізняється новизною, практичною значущістю та високим науковим рівнем. Робота відповідає вимогам «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України № 44 від 12.01.2022 із змінами, та наказу Міністерства освіти і науки України від 12.01.2017 № 40 «Про затвердження вимог до оформлення дисертації», а її автор Гоцуляк Віталій Ярославович, заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії (PhD) зі спеціальності 091 – «Біологія» (галузь знань – 09 «Біологія»).

Рецензент дисертації
доктор біологічних наук, професор,
головний науковий співробітник
лабораторії проблем біобезпеки
відділу клітинної біології та біотехнології
ДУ «ІХБГ НАН України»

Тетяна ЧУГУНКОВА

ПРОТОКОЛ
створення та перевірки кваліфікованого та удосконаленого електронного підпису

Дата та час: 14:53:55 07.09.2026

Назва файлу з підписом: vydguk_Chugunkova.pdf.p7s
Розмір файлу з підписом: 319.9 КБ

Перевірені файли:
Назва файлу без підпису: vydguk_Chugunkova.pdf
Розмір файлу без підпису: 302.6 КБ

Результат перевірки підпису: Підпис створено та перевірено успішно. Цілісність даних підтверджено

Підписувач: ЧУГУНКОВА ТЕТЯНА ВОЛОДИМИРІВНА
П.І.Б.: ЧУГУНКОВА ТЕТЯНА ВОЛОДИМИРІВНА
Країна: Україна
РНОКПП: 1673801226
Організація (установа): ФІЗИЧНА ОСОБА
Час підпису (підтверджено кваліфікованою позначкою часу для підпису від Надавача): 14:53:55 07.09.2026
Сертифікат виданий: КНЕДП АЦСК АТ КБ "ПриватБанк"
Серійний номер: 21E4B79083A82E7F04000000E3553B02A799F107
Алгоритм підпису: ДСТУ 4145
Тип підпису: Удосконалений
Тип контейнера: Підпис та дані в одному файлі (CAdES enveloped)
Формат підпису: З повними даними ЦСК для перевірки (CAdES-X Long)
Сертифікат: Кваліфікований

Версія від: 2026.08.19 13:00