

## **ВІДГУК**

офіційного опонента доктора ветеринарних наук, професора

ТАРАСЕНКО Людмили Олексіївни

на дисертаційну роботу

**КОЧЕТОВОЇ Галини Степанівни**

на тему: «**Оцінка безпечності та обґрунтування допустимого вмісту 17 $\beta$ -естрадіолу в молоці-сировині коров'ячому**»,

представленої на здобуття освітньо-наукового ступеня доктора філософії, в галузі знань 21 «Ветеринарія», за спеціальністю 211 «Ветеринарна медицина» у Львівський національний університет ветеринарної медицини і біотехнологій імені С.З. Гжицького

### **Актуальність теми дисертаційної роботи.**

Оцінка безпечності молока є важливим завданням для забезпечення населення корисними повноцінними молочними продуктами. Споживання молочних продуктів, що містять високі рівні естрогенів викликає занепокоєння у науковців різного профілю через те, що існує пряма залежність між хронічним впливом естрогенних гормонів і поширеністю різного виду онкологічних захворювань. Серед стероїдних гормонів 17 $\beta$ -естрадіол є найбільш біологічно активним. Відповідно до вимог Комісії Codex Alimentarius максимальна кількість зовнішнього естрадіолу, що надходить в організм разом з харчовими продуктами, не повинна перевищувати 50 000 пг/кг/добу. Аналіз українських нормативних документів виявив, що контроль молока-сировини, що поступає на переробку за вмістом 17 $\beta$ -естрадіолу не передбачено.

На даний час повною мірою не обґрунтовано кількісні безпечні рівні 17 $\beta$ -естрадіолу у молоці та молочних продуктах, тому враховуючи інтенсивні технології отримання молока та зважаючи на значний вплив високих концентрацій естрогенів на організм споживачів проведення системних досліджень на вміст 17 $\beta$ -естрадіолу у молоці є перспективним та актуальним. Вони дозволять на науковій основі визначити максимальну допустиму кількість даного природного гормону у молоці-сировині при прийманні на переробку.

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

Дисертаційна робота є частиною експериментальних досліджень, які проводилися з 2020 по 2023 роки на кафедрі ветеринарно-санітарного інспектування Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького відповідно до науково-дослідної тематики 0119U101683 «Оцінка концентрації гормонів у молочних продуктах, як фактору, що стимулює порушення метаболізму та розвиток онкозахворювань у споживачів», запланованої на 2019-2023рр.

### **Наукова новизна одержаних результатів.**

Уперше науково обґрунтовано та розроблено методологію визначення гранично допустимої кількості 17 $\beta$ -естрадіолу у молоці-сировині при

прийманні на переробку та запропоновано інтерпретацію кількісних значень даного гормону. Встановлено, що середнє значення вмісту  $17\beta$ -естрадіолу у молоці збірному отриманого протягом доби на одній фермі не залежить від часу отримання молока. Водночас вміст  $17\beta$ -естрадіолу в молоці істотно залежить від місяця тільності корів.

Доведено, що під час сепарування молока  $17\beta$ -естрадіол концентрується у вершках, де його кількість в 5-7 разів більша, ніж у знежиреному молоці. Виявлено вірогідну закономірність зростання вмісту  $17\beta$ -естрадіолу в молоці питному та молочних продуктах із збільшенням у них масової частки жиру.

Встановлено, що під час теплової обробка молока (пастеризація та стерилізація), процесу сквашування за технології виробництва кисломолочних продуктів не відбувається значного зменшення  $17\beta$ -естрадіолу. Водночас, зберігання масла у замороженому стані за температури мінус 9 – мінус 18 °С протягом 6-9 міс. дозволяє зменшити кількість  $17\beta$ -естрадіолу, приблизно на 20-25 % від його початкової кількості.

### **Практичне і теоретичне значення одержаних результатів.**

Проведені системні дослідження щодо вмісту в молоці-сировині  $17\beta$ -естрадіолу та впливу різних технологічних операцій на його зміну в молочних продуктах підтверджують необхідність постійного контролю даного гормону при прийманні молока на переробку. Для цього розроблено критерії визначення та оцінки гранично допустимої концентрації  $17\beta$ -естрадіолу в молоці-сировині, які апробовані та увійшли у науково-практичні рекомендації виробництву «Методика визначення та методологія оцінки молока-сировини за кількістю  $17\beta$ -естрадіолу», затверджені Вченуою радою Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С.З. Гжицького (протокол №5 від 29.06.2023р.).

Результати досліджень використовуються в навчальному процесі та науково-дослідницькій роботі студентів освітнього ступеня «магістр» за спеціальністю 212 «Ветеринарна гігієна, санітарія і експертиза» і 211 «Ветеринарна медицина» у закладах вищої освіти України.

### **Ступінь обґрунтованості та достовірності досліджень.**

Дисертаційна робота оформлена у відповідності з вимогами до дисертаційних робіт. Дисертацію викладено українською мовою на 150 сторінках комп’ютерного тексту. Вона складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів та методів досліджень, результатів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів власних досліджень, висновків, пропозицій виробництву, списку літератури, додатків. Дисертація ілюстрована 16 таблицями, 11 рисунками. Список літератури включає 233 джерела, з яких 174 – латиницею. До додатків увійшли сканкопії акту впровадження результатів завершених наукових досліджень, методичні рекомендації (С.1-2), список опублікованих праць за темою дисертації.

Під час виконання досліджень з визначення кількісного вмісту  $17\beta$ -естрадіолу у молоці сирому отриманому на молочних фермах за впливу різних чинників було досліджено 278 проб молока. Обрані методи

дослідження є сучасними, високоінформаційними та достатньо чутливими для визначення кількісного вмісту  $17\beta$ -естрадіолу у молоці. Отримані результати подані в тексті дисертації в описаному вигляді, задокументовані статистично обробленими цифровими даними, що представлені у таблицях, а також у рисунках та повністю відображають обсяг проведених досліджень. Цифрові дані не тільки статистично опрацьовані, але й достатньо проаналізовані. Для обговорення та інтерпретації результатів дослідження використано достатню кількість сучасних літературних джерел. Наукові положення та висновки дисертації, що випливають із фактичного матеріалу наукової роботи, є достатньо обґрунтованими, узагальненими та логічно завершують дисертацію, відповідають меті та завданням роботи і мають важливе науково-теоретичне та практичне значення.

За матеріалами дисертації Кочетової Г.С. опубліковано 12 наукових праць, із них 4 статті у наукових фахових виданнях України, 2 статті у закордонних виданнях, які проіндексовані у базі даних Web of Science Core Collection та Scopus, 5 праць – у матеріалах конференцій, розроблено і затверждено 1 методичні рекомендації.

**Розділ 1. «Огляд літератури»** включає 7 підрозділів (с. 21-41) дисертації. Здобувачкою проведений ретельний аналіз літературних джерел на достатньо високому науковому рівні. Проведено огляд нормативно-правових документів, які контролюють показники безпечності, зокрема і за вмістом гормональних препаратів. Наведено дані про вплив стимуляторів росту тварин, гормональних препаратів що містяться в сировині й харчових продуктах на різні функції організму споживачів. Проаналізовано методи визначення гормональних препаратів у сировині й харчових продуктах, їх переваги і недоліки. З аналізу літератури видно, що протягом останнього часу проводились різноманітні наукові дослідження щодо визначення вмісту  $17\beta$ -естрадіолу в молоці сирому проте немає остаточних даних щодо кількісного вмісту естрогену присутнього у молоці питному та молочних продуктах.

**Розділ 2. «Вибір напрямків досліджень. Матеріали та методи досліджень»** (с.42-46). У даному розділі дотримуючись методичної і логічної послідовності здобувачка описала основний напрямок дисертаційного дослідження - визначити кількісний вміст  $17\beta$ -естрадіолу в молоці протягом року та розробити методологію визначення і критерії оцінки гранично допустимої концентрації даного гормону в молоці-сировині при прийманні на переробку.

Експериментальна частина дисертаційної роботи складалася з п'ятьох етапів. Використано: хімічні, фізико-хімічні, токсикологічні методи досліджень. Описано методики кількісного визначення  $17\beta$ -естрадіолу в зразках молока коров'ячого методом імуноферментного аналізу з використанням тест-системи RIDASCREEN® $17\beta$ -östradiol Art. No. R2301 (manufactured by firm Art-Biopharm / R-Biopharm, Darmstadt, Germany) та визначення кількості  $17\beta$ -естрадіолу за допомогою рідинного хроматографа з мас-спектричним детектором Waters TQ-XS (США).

**Розділ 3. «Результати власних досліджень»** (с. 47-97) розкрито у 7 підрозділах. У цьому розділі авторкою представлено теоретичне узагальнення та експериментальне вирішення наукової проблеми щодо визначення гранично допустимої кількості  $17\beta$ -естрадіолу у молоці-сировині при прийманні на переробку та запропоновано інтерпретацію кількісних значень даного гормону.

У підрозділі 3.1 проведено моніторинг молока сирого за вмістом  $17\beta$ -естрадіолу в Україні, визначено, що середнє значення вмісту  $17\beta$ -естрадіолу у молоці-сировині збірному отриманого протягом доби на одній фермі не залежить від часу отримання молока.

У підрозділі 3.2 Описано дослідження вмісту  $17\beta$ -естрадіолу у молоці сирому протягом лактаційного періоду. Встановлено, що протягом лактації вміст  $17\beta$ -естрадіолу у молоці, істотно залежить від місяця тільності корів.

Дисертантка вперше провела оцінку молока питного і молочних продуктів, які реалізуються в торговельній мережі України за вмістом  $17\beta$ -естрадіолу. Виявлено, що чим більш високожирніший молочний продукт, тим більша кількість у ньому естрогеного гормону –  $17\beta$ -естрадіолу (підрозділ 3.3).

У підрозділі 3.4 описано токсико-біологічну характеристику молока-сировини з різним вмістом  $17\beta$ -естрадіолу. Згідно отриманих даних зроблено висновок, що кількість  $17\beta$ -естрадіолу у молоці сирому навіть за найбільшого природного вмісту (до 1000 пг/мл у третьому триместрі тільності) не може спричиняти токсичного впливу та знижувати його відносну біологічну цінність відносно клітин *Tetrachymena pyriformis*.

У підрозділі 3.5 досліджено зміни  $17\beta$ -естрадіолу за впливу різних технологічних операцій виробництва молочних продуктів. З'ясовано, що  $17\beta$ -естрадіол у молоці є термостійким гормоном, який не має тенденції до значного зменшення під впливом високих температур пастеризації. Відзначено, що за технології виробництва масла методом збивання вершків основна частина  $17\beta$ -естрадіолу концентрується у маслі, а у маслянку переходить, в середньому 0,8 % гормону від загальної його кількості в маслі. Зберігання масла у замороженому стані за температури мінус 9 °C та мінус 18 °C протягом 6-9 міс дозволяє зменшити кількість  $17\beta$ -естрадіолу, приблизно на 20-25 % від його початкової кількості.

У підрозділі 3.6. Розроблено методологію визначення гранично допустимої кількості  $17\beta$ -естрадіолу у молоці-сировині при прийманні на переробку та запропоновано інтерпретацію отриманих кількісних значень даного гормону.

В останньому підрозділі (3.7) даного розділу проведено порівняльну оцінку визначення  $17\beta$ -естрадіолу в молоці з різною пробопідготовкою методом імуноферментного аналізу за допомогою тест-системи RIDASCREEN® $17\beta$ -östradiol. Отримані дані підтверджували арбітражним (хроматографічним) методом. Встановлено, що визначення  $17\beta$ -естрадіолу в молоці доцільно проводити без попереднього розведення зразків.

**Розділ 4. «Аналіз та узагальнення результатів дослідження»** присвячений обговоренню основних підсумків роботи. У цьому розділі викладено досить професійно і грамотно глибокий аналіз і обговорення одержаних результатів досліджень, що характеризує здобувачку як всебічно підготовленого й ерудованого науковця. Десять висновків повністю відповідають поставленій меті та завданням і узагальнюють інформацію, отриману авторкою при проведенні експериментальних досліджень. Три пропозиції виробництву можуть бути використані під час оцінки молока-сировини коров'ячого під час приймання на молокопереробному підприємстві.

Отже, дисертаційна робота Кочетової Галини Степанівни є завершеною науковою працею, що містить усі необхідні розділи.

#### **Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях.**

За матеріалами дисертації опубліковано загалом 12 наукових праць, із них 4 статті у наукових фахових виданнях України, 2 статті у закордонних виданнях, які проіндексовані у базі даних Web of Science Core Collection та Scopus, 5 праць – у матеріалах конференцій, розроблено і затверджено 1 методичні рекомендації. Положення дисертації були обговорені й схвалені на щільнох міжнародних, національних наукових і науково-практичних конференціях.

Дисертаційна робота Кочетової Галини Степанівни базується на фактичному матеріалі, який отримано в результаті методично правильно проведених досліджень, а отримані дані оброблено статистично та підтверджено їх вірогідність.

#### **Зауваження щодо змісту та оформлення дисертації**

Дисертацію в цілому можна оцінити позитивно, однак варто вказати на виявлені окремі недоліки, неузгодженості, а також задати деякі дискусійні питання, що потребують роз'яснення:

- Які тест-системи для визначення  $17\beta$ -естрадіолу існують ще на ринку України та в Європі?;
- Чому саме  $17\beta$ -естрадіол Ви визначаєте у молоці, а не інші естрогенні гормони?;
- Які ще стероїдні гормони використовують у скотарстві для збільшення продуктивності тварин?;
- Як Ви пропонуєте практично реалізувати розроблені Вами критерії оцінки молока-сировини за вмістом  $17\beta$ -естрадіолу при прийманні на переробному підприємстві?;
- Скажіть будь-ласка чи визначали Ви як впливає мастит у корів на вміст  $17\beta$ -естрадіолу у молоці сирому, чи є залежність між кількістю соматичних клітин і вмістом  $17\beta$ -естрадіолу?;
- Ви провели значний огляд літератури хотілося б почути від Вас чи впливає порода корів на вміст  $17\beta$ -естрадіолу у молоці? А може у Вас є такі дослідження?;

– Хотілося б почути від дисертанта інформацію про допустимі кількості 17 $\beta$ -естрадіолу у інших продуктах тваринного походження, які існують і чи Ваш норматив узгоджується з їхніми даними?

**Рекомендації щодо використання результатів дисертації в практиці.**

Отримані авторкою результати мають надзвичайно важливе практичне значення адже пропонують методику та критерії оцінювання безпечності молока сировини при прийманні на переробне підприємство за вмістом стероїдного гормону 17 $\beta$ -естрадіолу. До того ж у випадку виявлення наявності значної кількості 17 $\beta$ -естрадіолу у маслі вершковому пропонується спосіб його зниження.

**Загальний висновок.**

Враховуючи актуальність теми, завершеність наукової роботи, наукову новизну та ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій їх практичну цінність, повноту викладення в опублікованих працях та оформлення вважаю, що представлена дисертаційна робота Кочетової Галини Степанівни «Оцінка безпечності та обґрунтування допустимого вмісту 17 $\beta$ -естрадіолу в молоці-сировині коров'ячому» 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 автор заслуговує присудження освітньо-наукового ступеня доктора філософії галузі знань 21 «Ветеринарія», за спеціальністю 211 «Ветеринарна медицина».

**Офіційний опонент:**

Офіційний опонент:

доктор ветеринарних наук,  
професор, завідувач кафедри  
ветеринарної гігієни,  
санітарії і експертизи  
Одеського державного  
агарного університету

Людмила ТАРАСЕНКО

02.02.2024



Людмила Тарасенко  
з кафедри Магістратури  
з кандидатом наук