

ВІДГУК

офіційного опонента, доктора технічних наук, старшого наукового співробітника **Чарного Дмитра Володимировича** на дисертаційну роботу **Болгової Олени Сергіївни «Виявлення та видалення життєздатних некультурабельних мікроорганізмів з питної води»**, що подана до захисту на здобуття наукового ступеня кандидата технічних наук за спеціальністю 05.17.21 – технологія водоочищення

Актуальність дисертаційної роботи. Якість питної води є одним із основних факторів, який впливає на здоров'я людей. За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я близько 80% захворювань людей пов'язані саме з поганою якістю питної води. Вода може брати участь в розповсюдженні ряду інфекційних захворювань, таких як: черевний тиф, паратифи А і В, холера, дизентерія, сальмонельоз, ешеріхіоз та інші. Саме тому проблема водопостачання доброякісної води в достатній кількості є однією з головних проблем людства.

Мікробіологічний контроль якості питної води на станціях водопідготовки здійснюють загальноприйнятими класичними методами, за допомогою яких визначають загальну кількість бактерій і деяких патогенних збудників, вірусів, найпростіших і, віднедавна, – наявність у воді міцеліальних грибів.

Останніми дослідженнями встановлено здатність мікроорганізмів переходити в життєздатний некультурабельний стан під дією природних та антропогенних стрес-факторів, в результаті чого мікроорганізми не культивуються на класичних диференційно-діагностичних агарових середовищах і не виявляються у воді при використанні класичних методів мікробіологічного аналізу. Це несе небезпеку неповного врахування кількості життєздатних патогенних мікроорганізмів і отримання помилкових результатів при аналізі питної води на станціях водопідготовки, що, в свою

11 127
09 18

чергу, може призвести до виникнення ряду важких захворювань у споживачів такої води.

Відповідно, ця дисертаційна робота присвячена вирішенню важливої задачі щодо очищення питної води від мікроорганізмів, які перебувають у життєздатному некультурабельному стані у вже очищеній водопровідній воді, але в той же час ці мікроорганізми, при відповідних умовах, є сталою загрозою вторинного мікробіологічного забруднення питної води. В роботі розглянуто комплексні заходи, які дозволяють: виявити цю загрозу (розробка відповідних біологічних тестів), а також технології доочищення водопровідної води, яка дозволяє ефективно вилучати мікроорганізми та інші шкідливі домішки.

Ступінь обґрунтованості, достовірності наукових положень, висновків, рекомендацій.

Розроблені наукові положення та висновки дисертації щодо створення комплексної технології виявлення мікроорганізмів у некультурабельному стані та доочищення водопровідної води від них, та інших негативних включень ґрунтуються на аналізі великої кількості експериментів, виконаних з використанням сучасного обладнання та сучасних методів контролю, на вивченні впливу різноманітних факторів та співставленні одержаних результатів з літературними відомостями.

Експериментальні результати дозволили визначити вплив різноманітних факторів на процеси доочищення води, а також розробити методи інженерного розрахунку, необхідні для проектування подібних систем доочищення води, які забезпечують антимікробний захист систем внутрішнього водопостачання.

Визначено ряд закономірностей та залежностей, які не викликають сумнівів, так як оснований на сучасних методах математичної обробки результатів експериментів.

Сукупність результатів щодо створення нових технологій тестування і вилучення мікроорганізмів, в цілому добре узгоджується із сучасними теоретичними положеннями.

Тому можна сказати, що ступінь обґрунтованості, достовірності розроблених автором наукових положень, висновків, рекомендацій не викликає сумнівів.

Наукова новизна одержаних результатів.

Всі дослідження, здійснені Болговою О. С., присвячені умовам переходу мікроорганізмів у воді у життєздатний некультурабельний стан. Показано, що застосування гіпохлориту натрію для знезараження води сприяє утворенню некультурабельних форм мікроорганізмів. Вперше розроблено інформативний метод виявлення у воді мікроорганізмів у життєздатному некультурабельному стані, шляхом рекультивації цих клітин у рідкому поживному середовищі М-9 з подальшою їх культивуацією на традиційному агаровому диференційно-діагностичному поживному середовищі. Додаткове використання поживного середовища М-9 сприяє більш швидкому відновленню і росту клітин культур. Вперше проведено порівняння класичного мікробіологічного методу, що використовується на станціях водопідготовки, із запропонованим методом виявлення мікроорганізмів при аналізі водопровідної води і води з бюветів м. Києва та встановлено, що запропонований метод дає можливість виявити мікроорганізми, які перебувають у ЖНС. Запропоновано ефективний спосіб доочищення питної води від мікроорганізмів, що перебувають в життєздатному некультурабельному стані, шляхом контактної флокуляції, при цьому як флокулянт використовували полідіалілдиметиламоній хлорид (ДБ-45), що має антимікробні властивості. Виявлено, що застосування запропонованого технологічного прийому забезпечує ефективне вилучення та інактивацію цих мікроорганізмів.

Наукова та практична цінність дисертації.

Комплексний підхід автора до вирішення проблем захисту очищеної водопровідної води від вторинного мікробіологічного забруднення вилився у розробку тестів присутності мікроорганізмів у життєздатному некультурабельному стані і розробці ефективних методів затримання цих мікроорганізмів і цілого ряду інших фізико-хімічних чинників, здатних негативно впливати на якість питної води.

В дисертації приведено нову технологію доочищення води для водопровідних систем. Застосування запропонованих рішень дозволило підвищити стабільність якості питної води та підвищити її антиепідемічну стійкість.

Загальна характеристика роботи.

Автором у вступі обґрунтовано актуальність роботи, визначено її зв'язок з науковими програмами та темами, сформульовано мету, об'єкт, предмет та завдання дослідження, визначено наукову новизну та практичне значення отриманих результатів, а також особистий внесок здобувача.

Перший розділ: проаналізовано умови переходу мікроорганізмів у життєздатний некультурабельний стан, а також розглянуто існуючі методи виявлення мікроорганізмів у такому стані. Оцінено негативний вплив цих мікроорганізмів на здоров'я людини. Охарактеризовано мікроорганізми *E. coli* і *C. albicans* та їх особливості.

На основі проведеного аналізу літератури сформульовано мету та визначено основні напрямки досліджень.

У другому розділі приведено характеристику об'єктів та методик експериментальних досліджень. В роботі наведено адреси місць відбору проб води з мереж централізованого водопостачання. Описано метод переведення культур в життєздатний некультурабельний стан за допомогою знезаражування води гіпохлоритом натрію. Приведено метод ідентифікації клітин у життєздатному некультурабельному стані шляхом прямої мікроскопії. Описано розроблену автором методику виявлення у воді мікроорганізмів, що перебувають у життєздатному некультурабельному

стані, а також спосіб доочищення питної води від мікроорганізмів, що перебувають у такому стані, шляхом контактної флокуляції на відповідному завантаженні. В якості флокулянту використовували катіонний флокулянт полідіалілдиметиламоній хлорид (ДБ-45), а як завантаження – кварцовий пісок та мезопористе активоване вугілля марки КАВ.

Третій розділ: досліджено вплив гіпохлориту натрію у різних концентраціях на здатність санітарно-показового мікроорганізму *E. coli* 1257 та дріжджоподібного гриба *C. albicans* 10231 перебувати у життєздатному некультурабельному стані у водному середовищі.

Показано, що антимікробний ефект гіпохлориту натрію зростає зі збільшенням його концентрації, що цілком закономірно, а також залежить від ступеня зараження води культурою мікроорганізмів. Проведено вибір оптимальних концентрацій гіпохлориту натрію, що забезпечують повне знезараження води від культур *E. coli* та *C. albicans*, яке оцінювали класичним методом, шляхом висіву на агарові диференційно-діагностичні середовища.

Встановлено, що концентрації NaOCl в діапазоні 0,1-1 мг/дм³ при початковому навантаженні *E. coli* 1·10⁶ КУО/см³ не призводять до повного знезараження води, а тільки частково зменшують ступінь забруднення, очевидно це пов'язано з недостатньою кількістю активного хлору, що інактивує клітини мікроорганізмів. Повне знезараження води від культури *E. coli* спостерігається при концентрації NaOCl 2-5 мг/дм³.

Розроблено та застосовано новий спосіб виявлення життєздатних некультурабельних мікроорганізмів у воді (Патент України на винахід № 113472). Спосіб базується на включенні додаткового етапу – культивування проби води у поживному сольовому середовищі М-9, з подальшим її висівом на агарове диференційно-діагностичне поживне середовище.

Проведено рекультивацію культури *E. coli* після її контакту з NaOCl, шляхом щоденного внесення робочої суспензії (р/с), що містить інактивовані, згідно з класичним мікробіологічним методом, клітини *E. coli*, в середовище М-9, або поживний бульйон (ПБ) з подальшим посівом на диференційно-діагностичне агарове середовище Ендо.

Проведено цикл досліджень щодо встановлення оптимальних концентрацій іонів Ca²⁺ і Mg²⁺ у складі середовища М-9 для рекультивації клітин *C. albicans*, що перебувають у життєздатному некультурабельному стані. Досліджено діапазони концентрацій для Ca²⁺ від 0,000002 до 0,0025 М та для Mg²⁺ від 0,00002 до 0,002 М.

В четвертому розділі приведено результати систематичного мікробіологічного і мікологічного аналізу зразків води, відібраних у різні пори року з водорозподільних мереж та бюветів м. Києва. Відбір зразків водопровідної води здійснювали у Святошинському, Солом'янському і Дарницькому районах. Аналізували відібрані зразки води класичним мікологічним методом, а також запропонованим методом виявлення мікроорганізмів у життєздатному некультивурабельному стані.

Встановлено, що у всіх пробах води, незалежно від терміну експлуатації трубопроводів, а також від місця відбору та пори року, загальна кількість мікроміцетів коливається від 3 до 25 КУО/100 см³ – визначені класичним методом та від $3 \cdot 10^2$ до $1,2 \cdot 10^3$ – визначені запропонованим методом. При цьому домінують дріжджоподібні види. Найвища кількість грибів роду *Candida* та *Rhodotorula* виявлено в Солом'янському та Святошинському районах. Серед міцеліальних форм мікроміцетів найчастіше виявляли гриби, що належать до видів *Penicillium*, *Mycelia* та *Aspergillus*, які досить стійкі до дії дезінфектантів і мають токсикогенні, алергенні та мутагенні властивості.

Встановлено, що у всіх пробах води, які досліджували класичним мікробіологічним методом, виявлено бактерії в межах допустимої норми та мікроміцети таких родів як *Rhodotorula*, *Penicillium* та *Absidia* у кількості від одиниць до десятків КУО/100 см³. Показано, що застосування запропонованого методу дає можливість виявити ширший видовий спектр мікроорганізмів та встановити реальні кількісні показники у порівнянні з класичним методом. Так, майже у всіх зразках води із бюветів виділено міцеліальні гриби роду *Penicillium* від десятків до сотень КУО/100 см³. В деяких зразках води виявлено міцеліальні гриби роду *Cladosporium* та *Aspergillus* в кількості від 1 до $3 \cdot 10^2$ КУО/100 см³. Ці види можуть стати причиною розвитку респіраторних захворювань, дерматозів. Також виявлено дріжджоподібні гриби роду *Rhodotorula* і *Candida*, кількість яких сягає від 1 до $8 \cdot 10^2$ КУО/100 см³, які можуть стати причиною мікозів різних органів. Всього виявлено 6 родів мікроміцетів.

У п'ятому розділі розглянуто актуальність проблеми доочищення води від мікроорганізмів, що перебувають у ЖНС. Математичне моделювання процесів очищення води від штамів мікроорганізмів, та опис запропонованих методів доочищення питної води, які забезпечують знезараження її від мікроорганізмів.

Щодо завершеності дисертації в цілому, то слід зауважити, що дисертація – це завершена наукова робота, викладена на 142 сторінках друкованого тексту, складається із вступу, 5 розділів, висновків, списку використаних джерел літератури та додатків і включає 28 рисунків, 24 таблиць, список використаних джерел із 134 найменувань та 2 додатки.

Редакційний аналіз. Робота виконана грамотно, з використанням сучасної термінології, є послідовно і логічно завершеною. Оформлення роботи відповідає вимогам ДСТУ- 3008 - 95 «Документація. Звіти у сфері науки і техніки. Структура і правила оформлення» та вимогам ДАКу України, висвітленням в Бюлетені ДАКу України за № 2, 2002 р., а також вимогам до дисертаційних робіт, висвітлених у Бюлетені ВАКу України за № 9-10 2011 р. Назва роботи цілком відповідає її змісту. Обсяг дисертації не перевищує встановлених норм, а зміст автореферату повністю відповідає розділам дисертації та її основним положенням.

Повнота викладення результатів роботи в опублікованих працях.

За темою дисертаційної роботи опубліковано 9 робіт: 5 статей, з них 4 у наукових фахових виданнях, 1 патент України та тези 3 доповідей. В опублікованих працях досить повно описані головні наукові здобутки, представлені в 3-5 розділах дисертації.

Зауваження по роботі.

1. У дисертації відсутній розділ по плануванню експерименту.
2. У дисертації відсутній розділ визначення економічної ефективності запропонованого методу доочищення води.
3. Не зрозуміло, чому автор вважає, що *Candida albicans* може бути використаний як один з тест-об'єктів?
4. Так само не зрозуміло, чому автор вважає свої спостереження за якістю води в Київських бюветах статистично достовірними і робить з цих спостережень глобальні висновки.

Проте зазначені недоліки та зауваження принципово не впливають на ступінь наукової новизни та практичної значимості отриманих в дисертаційній роботі результатів. Зроблені автором висновки і положення, що виносяться на захист, добре обґрунтовані, логічно випливають із отриманих даних і відповідають поставленим меті й задачам досліджень.

Загальний висновок по дисертаційній роботі.

Дисертаційна робота Болгової Олени Сергіївни «Виявлення та видалення життєздатних некультурабельних мікроорганізмів з питної води», на здобуття наукового ступеня кандидата технічних наук є актуальним дослідженням, що завершено на належному науково-теоретичному рівні з логічним викладенням матеріалу, поєднанням наукової новизни і практичних рекомендацій. Зроблені зауваження не впливають на загальну оцінку проведеної автором науко-дослідної роботи та формування її кінцевих результатів.

Таким чином, за об'ємом, науковим рівнем, змістом і оформленням представлена робота відповідає вимогам до кандидатських дисертацій у відповідності з п. 9, 11 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 р. № 567, а її автор Болгова Олена Сергіївна заслуговує присвоєння їй наукового ступеня кандидата технічних наук за спеціальністю 05.17.21 – технологія водоочищення

Офіційний опонент,

головний науковий співробітник


Інституту водних проблем і меліорації
Національної академії аграрних наук України,

доктор технічних наук,
старший науковий співробітник



Д.В. Чарний

Підпис Д.В. Чарного засвідчую:
/ Учений секретар ІВПіМ НААН
кандидат техн. наук



О. П. Музика