

## ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу  
БОЛГОВОЇ Олени Сергіївни "ВИЯВЛЕННЯ ТА ВИДАЛЕННЯ  
ЖИТТЄЗДАТНИХ НЕКУЛЬТУРАБЕЛЬНИХ МІКРООРГАНІЗМОВ  
З ПИТНОЇ ВОДИ", представлені на здобуття  
наукового ступеня кандидата технічних наук  
зі спеціальності 05.17.21 - технологія водоочищення

### 1. ВІДПОВІДНІСТЬ ДИСЕРТАЦІЇ СПЕЦІАЛЬНОСТІ І ГАЛУЗІ НАУКИ, ЗА ЯКИМИ ЇЇ ПРЕДСТАВЛЕНО ДО ЗАХИСТУ

Представлена до захисту дисертація відноситься до галузі науки - хімічні технології і за метою, задачами, об'єктом, предметом і результатами досліджень повністю відповідає паспорту спеціальності 05.17.21 - технологія водоочищення, оскільки її присвячено хімії, мікробіологічному аналізу, фізико-хімії біологічних, хімічних і контактано-флокуляційних процесів і технологій доочищення питної води від потенційно небезпечних мікроорганізмів.

### 2. АКТУАЛЬНІСТЬ ТЕМИ ДИСЕРТАЦІЇ

Одним із основних чинників впливу на здоров'я людей є якість питної води. Забруднення її, чи не в першу чергу, мікроорганізмами, провокує розповсюдження небезпечних інфекційних захворювань. Отже, одержання і постачання доброякісної питної води в достатній кількості є однією з головних проблем людства.

В той же час, на станціях водопідготовки мікробіологічний контроль якості питної води проводять класичними методами, визначаючи лише загальну кількість бактерій і деяких патогенних збудників, вірусів, найпростіших і, віднедавна, - наявність у воді міцеліальних грибів.

Проте, як нещодавно було виявлено, за несприятливих умов частина мікроорганізмів якби завмирає і не бажає розмножуватися і зростати на твердих поживних середовищах (себто не культивуються на класичних диференціально-діагностичних агарових середовищах і не виявляються у воді класичними методами мікробіологічного аналізу). Це явище визначено як здатність мікроорганізмів переходити в життєздатний некультурабельний стан (ЖНС) під дією природних та антропогенних стрес-факторів. До останніх можна попередньо віднести і вживанням у сучасній водопідготовці метод знезараження питної води гіпохлоритом натрію. Небезпека неповного врахування кількості життєздатних патогенних мікроорганізмів і отримання помилкових результатів при аналізі питної води на станціях водопідготовки полягає в тому, що такі мікроби, що затаїлися у питній воді та чекають "слухного часу" аби вибухнути в ріст, можливо навіть у людському організмі, здатні ініціювати велику шкоду - через виникнення важких захворювань у споживачів такої води.

Оскільки надійні методи визначення мікробів (бактерій, грибів) в ЖНС в світовій науці і практиці до цього часу не розроблені і не відомі, як і технології ефективного вилучення життєздатних некультурабельних мікроорганізмів з питної води, тему дисертаційної роботи О.С.Болгової, націлену на вирішення



наявних перелічених аналітичних, наукових і технологічних проблем, можна безумовно визначити як вкрай актуальну.

Актуальність дисертаційної роботи підтверджується тим, що вона виконана у відповідності до плану НДР Інституту колоїдної хімії та хімії води імені А.В.Думанського НАН України за відомчими темами НАН України: "Створення концепції управління біологічною активністю та фізико-хімічними властивостями води, у т.ч. її ізотопним складом, при очищенні природних вод з урахуванням сучасних вимог до якості питної води" (2012-2016 рр., № держреєстрації 0112U000038); "Вплив хлорованої води на виживання мікрофлори на прикладі *Candida albicans*" (2015 р., № держреєстрації 0115U000816), "Розвиток наукових основ хімії, фізики та біології води" (2017-2021 рр., № держреєстрації 0117U000014); "Фундаментальні основи ефективного використання комплексу хімічних, фізичних і біологічних методів дослідження водних систем" (2017-2021 рр., № держреєстрації 0117U000016).

У всіх цих НДР Болгова О.С. приймала участь як виконавець.

### 3. СТУПІНЬ НОВИЗНИ РЕЗУЛЬТАТІВ, ОДЕРЖАНИХ В ДИСЕРТАЦІЇ, І НАУКОВИХ ПОЛОЖЕНЬ, ЩО ВІНОСЯТЬСЯ НА ЗАХИСТ

Результати експериментальних і теоретичних досліджень, наведені в дисертаційній роботі Болгової О.С., привносять нові пріоритетні знання і тлумачення явищ існування і способу виявлення в питних водах мікроорганізмів, що перебувають в життєздатному некультурабельному стані та технології водоочищення від них. Зокрема, до наукових досягнень дисертації слід віднести наступне:

- вивчено умови переходу мікроорганізмів (наприклад, неспорової бактерії, прокаріота *Escherichia coli*) у питній воді в ЖНС при її знезараженні найбільш прогресивним і найчастіше вживаним у сучасній водопідготовці реагентом - гіпохлоритом натрію. Вперше в світі виявлено перехід в дуже небезпечний для людини ЖНС за таких саме умов поширеного у довкіллі еукаріота, мікроміцета - *Candida albicans*;
- вперше розроблено і обґрунтовано простий і доступний метод виявлення бактерій та мікроскопічних грибів у ЖНС у питній воді шляхом рекультивації цих клітин у суміші поживних бульйонів (Сабуро та ін.) з поживним сольовим середовищем М-9;
- шляхом порівняння класичного мікробіологічного методу аналізу питної води на присутність мікроорганізмів, що використовується на станціях водопідготовки, із запропонованим методом, вперше встановлено, що саме і тільки останній гарантує виявлення мікроорганізмів у ЖНС;
- вперше з глибоким теоретичним аналізом, побудованим на фізико-хімічному стані поверхні клітин, обґрунтовано і реалізовано новий технологічний метод контактної флокуляції із застосування флокулянту (полідіалілдиметиламоній хлорид) з антимікробними властивостями, чим гарантовано забезпечується ефективне вилучення з води і інактивація мікроорганізмів в ЖНС.



Кожен з перелічених наукових положень одержано пошукачем вперше, теоретичне їх трактування можна вважати переконливим, а кінцеві висновки не розходяться з фундаментальними засадами фізико-хімічних, хіміко-біологічних, сорбційних взаємодій біологічних структур з хімічними реагентами і активованим вугіллям.

#### 4. ОБГРУНТОВАНІСТЬ І ДОСТОВІРНІСТЬ ВИСНОВКІВ І РЕКОМЕНДАЦІЙ, СФОРМУЛЬОВАНИХ В ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові положення, сформульовані в дисертації, є в достатній мірі обгрунтованими. Кожне положення наукової новизни знайшло переконливе підтвердження в стійко відтворюваних і статистично достовірних результатах експериментів різного масштабу: від лабораторних дослідів (з залученням сучасної, в тому числі, - прецизійної, техніки аналізів і з використанням стандартних методів оцінки результатів дослідів) до апробаційних випробувань і впровадження.

У висновках до розділів і в загальних "Висновках" до дисертації викладено наукові і хіміко-технологічні положення, які в сукупності можна оцінити як рішення, що характеризуються науковою новизною і чіткою націленістю на розв'язання важливої і актуальної загальнодержавного (і, в деякій мірі, світового) значення задачі створення теоретичних і прикладних засад ефективного методу виявлення життєздатних некультурабельних мікроорганізмів у воді і способу (технології) доочищення питної води від них. Таким чином, дисертацію О.С.Болгової можна вважати завершеною в науковому і прикладному аспектах роботою, доведеною до практично цінного використання.

#### 5. АНАЛІЗ ЗМІСТУ РОБОТИ

Дисертаційна роботи складається із анотації, вступу, 5-ти розділів, висновків, списку використаних джерел, 2-х додатків. Загальний обсяг дисертації становить 142 сторінки друкованого тексту, з них 109 сторінок - основний текст. Дисертація містить 28 рисунків, 24 таблиці. Список використаних джерел літератури включає 134 найменувань (на 13 сторінках).

Окремі розділи структуровані, наприкінці кожного розділу наведено висновки.

У **вступі** обгрунтовано актуальність дисертаційного дослідження, наведено зв'язок з відомчими темами НАН України і планами НДР ІКХХВ імені А.В.Думанського НАН України, сформульовано мету, об'єкт, предмет, методи дослідження, висвітлено наукову новизну і практичне значення роботи, деталізовано особистий внесок здобувача.

У **першому** розділі дисертації достеменно проаналізовані теоретичні (хімічні, біологічні, структурні) основи переходу клітин мікроорганізмів у воді в ЖНС як реакції на будь-які форми і фактори індукції природного і техногенного стресу. Визначено види мікроорганізмів (бактерій і мікроміцетів), у яких виявлено ЖНС і які патогенні для людини. Показано, що класичні методи підготовки питної води не забезпечують її повного знезараження від мікроорганізмів, а навпаки сприяють їх переходу в ЖНС. Визначено, що існуючі аналітичні методи



оцінки якості води за мікробіологічними показниками не зовсім достовірні (надаються помилково-негативні результати) і потребують змін.

З критичного огляду літературних джерел зроблено висновок, що досліджень питної води на наявність у ній мікроорганізмів в ЖНС в Україні не проводили, а дані про їх видалення практично відсутні.

На цій основі і сформульовано мету та напрямки дисертаційного дослідження, які відповідають назві теми роботи.

У **другому** розділі приведено об'єкти досліджень (вода ряду свердловин і водопровідних кранів м. Києва) і методики проведення експериментів: відбору проб, проведення мікробіологічних та мікологічних досліджень, культивування мікроорганізмів, переведення культур в ЖНР за допомогою гіпохлориту натрію, доочищення питної води контактною флокуляцією.

В **третьому** розділі досліджено вплив гіпохлориту натрію (NaOCl) в різних концентраціях на здатність загально визнаного санітарно-показового мікроорганізму *Escherichia coli* (*E.coli* 1257 і К-12) та дріжджоподібного гриба *S.albicans* 10231 перебувати в ЖНС у воді.

Доведено, що антимікробний ефект NaOCl зростає зі збільшенням його концентрації до 2-5 мг/дм<sup>3</sup> (з повним знезараженням від культури *E.coli* при початковому навантаженні 1·10<sup>6</sup> КУО/см<sup>3</sup>) і до 5-6 мг/дм<sup>3</sup> NaOCl від культури *S.albicans* з початковим навантаженням 4·10<sup>4</sup> КУО/см<sup>3</sup>), згідно з результатами, отриманими класичним мікробіологічним методом оцінки якості води (методом Гісса та при мембранному фільтруванні). Проте, як виявлено пошукачем, мікроорганізми при попаданні в сприятливі умови (температурні, рН тощо) знову переходять в ЖНС і відновлюють свої патогенні властивості.

Цінним досягненням дисертантки є не тільки встановлення цього явища, а й розроблення та обґрунтування нового методу надійного виявлення у питній воді мікроорганізмів, що перебувають в ЖНС. Метод базується на рекультивації клітин, що перебувають в ЖНС, у рідкому поживному сольовому середовищі М-9 з подальшою їх рекультивацією на агаровому диференційно-діагностичному поживному середовищі. Пошукачем встановлені оптимальні концентрації компонентів середовища і параметри культивування. Більшість того, встановлено роль і механізми впливу йонів Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup> і глюкози (як додаткових компонентів і кофакторів багатьох ферментів) в сольовому середовищі М-9 на рекультивацію клітин в ЖНС.

На основі отриманих результатів одержано патент на винахід, а розроблений метод покладено в основу створення державного нормативного документу (ДСТУ).

В **четвертому** розділі вперше приведено порівняльні результати мікробіологічного і мікологічного аналізу класичним і запропонованим методами зразків води, відібраних у різні пори року з водорозподільних мереж та бюветів м. Києва. Виявлено, що запропонований дисертантом метод, у порівнянні з класичним, дає можливість виявити мікроорганізми, що перебувають у ЖНС. Показано, що застосування нового методу надає можливість виявити ширший видовий спектр мікроорганізмів та встановити реальні кількісні показники у порівнянні з класичним методом.



Отримані результати переконливо свідчать про необхідність розробки нормативних документів для контролю життєздатних некультурабельних мікроорганізмів у воді і технологій їх видалення з води безпосередньо на місці її споживання населенням.

В п'ятому розділі обґрунтовано і запропоновано надійний та простий спосіб (технологія) доочищення питної води від мікроорганізмів, що перебувають в ЖНС.

В роботі, в цьому аспекті, прослідковується вельми продуктивна реалізація ідеї і методу.

Взагалі, дисертація О.С.Болгової відрізняється чітким формулюванням задач та цілеспрямованістю експериментів. Показовим в цьому аспекті є експериментальне доведення, що *E.coli*, рятуючись від згубної дії антропогенного гіпохлориту і переходячи в ЖНС, не змінює свого геному і демонструє, що вплив біоциду не є настільки небезпечним, щоб на рівні ДНК від нього захищатись. Мікроби зберігають свої сили і засоби для протидії більш жорстким впливам гібридних і комплексних знарядь знищення. Отже, О.С.Болгова переконливо показує, що орієнтація на знищення світу мікроорганізмів є в деякій мірі безперспективною. Тому й пропонує не намагатися знищити мікроорганізми у питній воді більшими дозами біоцидів чи їх різноманіттям, а прибрати їх з питної води, скориставшись тими властивостями мікробів, яких вони позбутися, чи бодай трохи змінити, в принципі не в змозі. А це, в першу чергу, фізико-хімічний стан поверхні будь-яких клітин: наявність позитивно і негативно заряджених хімічних груп, а звідси - й електричного заряду клітин мікроорганізмів; присутність ліофільних і ліофобних ділянок; існування поляризації клітин, зумовленої молекулами води, що структурують їх поверхню, тощо.

Враховуючи ці факти, дисертантка звернулася до використання флокулянту, який збирає до купи клітини - живі, мертві і ті, що знаходяться в ЖНС, створює з них конгломерати, що легко затримуються на піщаних чи вугільних фільтрах, і, таким чином, питна вода звільняється від усіх мікроорганізмів - і вразливих до біоцидів прокариотів, і стійких еукаріотів.

Спосіб реалізується шляхом подачі на поверхню завантаження фільтру одночасно обґрунтовано вибраного флокулянту (катіонний полідіалілдиметиламоній хлорид (ДБ-45)), а як завантаження фільтру - кварцовий пісок або мезопористе кісточкове активоване вугілля. Визначено раціональні технологічні параметри розробленої схеми. Розроблено математичну модель процесу доочищення води від мікроорганізмів різного виду, а також представлено механізм цього процесу.

Визначено, що в присутності флокулянту ДБ-45 мікроорганізми, що знаходяться у воді, зчіплюються між собою за рахунок адсорбції макромолекул флокулянта на поверхні мікроорганізмів. Пластівці, що утворюються, затримуються при фільтруванні на завантаженні. Антимікробний вплив флокулянту відбувається за рахунок амонійних груп у його структурі.

Катіонний електроліт має позитивний поверхневий заряд, за рахунок чого і відбувається його адсорбція на поверхні клітин мікроорганізмів, що призводить до блокування дихання, живлення та транспорту метаболітів крізь клітинну стінку. Далі вони порушують проникаючу здатність клітинної стінки



мікроорганізмів та надходять всередину клітки, де вступають в електростатичну та гідрофобну взаємодію з фосфоліпідами та білками цитоплазматичної мембрани. Ці процеси призводять до розривання мембрани клітин, блокування дихальної системи та зрештою - до загибелі мікроорганізму. Такі умови й забезпечили повну інактивацію кишкових бактерій *E.coli* та дріжджоподібних грибів *Candida albicans*, що перебувають у ЖНС у воді.

В лабораторних експериментах та при впровадженні запропонованого контактано-флокуляційного способу доочищення питної води встановлено методом біотестування, що за органолептичними, токсикологічними та хімічними показниками якості питна вода не містить шкідливих домішок і не є токсичною.

Визначено, що промивні води після зворотного промивання контактано-флокуляційного фільтру повністю відповідають вимогам приймання стічних вод підприємств у систему каналізації і не несуть небезпеки.

## 6. НАУКОВА, ПРАКТИЧНА, ЕКОНОМІЧНА, ЕКОЛОГІЧНА ТА СОЦІАЛЬНА ЗНАЧУЩІСТЬ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ

В науковому відношенні можна стверджувати, що виявлені автором механізми і закономірності хімічних, біохімічних, сорбційних взаємодій в багатокомпонентних водних мікробіологічних системах є внеском в теорію хімічних і біологічних перетворень, що перебігають в процесах біологічного визначення і контактано-флокуляційної інактивації мікроорганізмів в ЖНС.

Результати експериментальних і теоретичних досліджень, що наведені в дисертації, є достатньо надійною основою для створення державного нормативного документу (ДСТУ) щодо виявлення життєздатних некультурабельних мікроорганізмів у воді.

Практична, економічна, екологічна і соціальна значущість розробок автора обумовлена вирішенням важливої загальнодержавної і, в деякій мірі, світового значення проблеми забезпечення населення якісною і безпечною для здоров'я людини прісною водою простим, економічним, майже безвідходним способом.

Позитивні результати апробаційних випробувань і поки що локального впровадження розроблених автором наробок дозволяють рекомендувати їх для впровадження в системах водопостачання (водоочищення) лікарень, їдалень, об'єктів харчової галузі промисловості тощо.

## 7. ПОВНОТА ВИКЛАДУ ОСНОВНИХ ПОЛОЖЕНЬ І РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ В ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЯХ І В АВТОРЕФЕРАТІ

Матеріали дисертації викладено в 9 наукових роботах, в тому числі: в 5 статтях в фахових наукових виданнях України (3 з них - наукометричні), 1 патенті України, тезах доповідей на 3-х наукових і науково-практичних конференціях. Публікації О.С.Болгової повністю віддзеркалюють основні положення дисертації. До речі, з них видно, що авторка роботи здатна враховувати і виправляти свої помилки. Так, на відміну від робіт, де суспензію мікроорганізмів у воді названо розчином (російською мовою в публікаціях - "раствором"), в дисертації та авторефераті вже всюди використовується словосполучення "робоча суспензія".



Автореферат з належною повнотою висвітлює результати досліджень і висновків з них. Констатую ідентичність змісту автореферату і основних положень дисертації.

## 8. ОЦІНКА ОФОРМЛЕННЯ ДИСЕРТАЦІЇ

Роботу оформлено у відповідності до вимог до кандидатських дисертацій. Мова дисертації лаконічна, стисла, в гарному науковому і літературному стилі, хоч текст не позбавлений (в невеликій кількості) граматичних і стилістичних негараздів (див. нижче). Рисунки і таблиці представлено в інформативному і наочному вигляді, що, в основному, відображає достовірність і відтворюваність одержаних експериментальних результатів і виявлених закономірностей.

## 9. ЗАУВАЖЕННЯ ДО ДИСЕРТАЦІЙНОЇ РОБОТИ

Дисертаційна тема є новітньою, складною і трудомісткою в експериментальному виконанні, багатоплановою при обґрунтуванні виявлених теоретичних закономірностей. Отже, природно, що дисертація має критичні (можливо, дискусійні) зауваження, а саме:

1. В тексті дисертації не згадується рівень гранично допустимих концентрацій життєздатних некультурабельних мікроорганізмів у водоймах і в межах водопостачання населених пунктів (ДСТУ?).
2. Не вказується, наскільки змінюється фільтрацикл за запропонованою технологією у порівнянні з класичною сорбцією.
3. Немає інформації щодо досліджень на летальність клітин мікроорганізмів після водоочищення на контактено-флокуляційній установці.
4. Відсутня належна критична оцінка ДСТУ 7487:2013. Якість води. Метод визначення мікроміцетів у воді.
5. Було б цікавим навести ймовірні причини появи у воді з бюветів м. Києва ряду мікроскопічних грибів у ЖНС. Які ж умови ініціювали їх перехід в цей стан за відсутністю антропогенного впливу на них, коли вода відкачується з великої глибини?
6. Відомо, що метод зворотного осмосу вельми ефективний при комплексному очищенні води від всіляких домішок, включаючи мікроорганізми, бактерії, гриби тощо. Звісно, цей метод представляється конкурентноздатним по відношенню до запропонованої в дисертації технології. Цікавим було б порівняти обидва методи з позицій економічності, матеріаловитратності, імпортозалежності матеріалів і реактантів тощо.
7. На рис. 3.3, 3.4, 5.1-5.4, 5.7-5.12 представлено результати (як вказано) "кінетики процесів". Рекомендував би обережно і більш обґрунтовано використовувати позначення "кінетика", бо це вчення про швидкість і механізми процесів і явищ. Що ж до останніх, то про них (при оцінці розвитку явищ і процесів в динаміці) інформації немає. Отже, краще вказувати просто на швидкість реакцій і процесів.
8. Ряд літературних джерел (поз. 115, 117) та й власний патент (с. 131) позбавлено переліку авторів.



9. У висновках до розділу 5 і в загальних висновках не відображені досягнення авторки з математичного моделювання процесу доочищення питної води.
10. Не пояснено, чому вибір авторки зупинився на кварцовому піску саме з Волгограду.
11. В тексті дисертації зустрічаються граматичні і стилістичні помилки, описки (с. 13, 14, 19, 40, 53, 69, 70, 83, 99, 124), ідентичні повторення (с. 26, 53, 71, 81, 82, 90, 92, 99, 114), невдалі фрази (наприклад, "на основі отриманих результатів отримано...", с. 68), неупорядковані позначення (с. 29, 30).

## 10. ВИСНОВКИ

Як загальний висновок, відмічаю, що дисертація О.С.Болгової присвячена надзвичайно актуальній проблемі підготовки епідемічно безпечної питної води, зокрема, вивченню нового, неочікуваного виклику у водопідготовці, а саме, появи у воді, при її загально прийнятому хімічному знезаражуванні, мікроорганізмів у так званому "життездатному некультурабельному стані" (ЖНС). Дисертантка розробила простий і ефективний метод виявлення мікроорганізмів у такому стані та експериментально продемонструвала і науково обґрунтувала придатність контактної флокуляції для звільнення питної води від різноманітних мікроорганізмів, що перебувають у ЖНС. Робота О.С.Болгової - це нове слово у водопідготовці, слово-попередження, яке не слід ігнорувати, бо мікроби стають непередбачуваними у своїх діях і дуже небезпечними, коли їх заганяють у глухий кут, виходу з якого нема.

Зроблені зауваження до дисертації не змінюють вельми позитивної її оцінки. За рівнем проведених досліджень можна стверджувати, що О.С.Болгова володіє науковою кваліфікацією, яка відповідає шуканому науковому ступеню.

За об'ємом, актуальністю, новизною, ступенем обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у роботі, значенням для науки і практики, технологічною завершеністю можна зробити висновок, що дисертаційна робота "Виявлення та видалення життездатних некультурабельних мікроорганізмів з питної води" задовольняє вимогам пп. 9, 11, 12 "Порядку присудження наукових ступенів", затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 р. № 567 щодо кандидатських дисертацій, а її авторка - Олена Сергіївна Болгова, заслуговує присудження наукового ступеня кандидата технічних наук за спеціальністю 05.17.21 - технологія водоочищення.

Офіційний опонент,

Декан хіміко-технологічного факультету

Національного технічного університету України

«Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»,

доктор технічних наук, професор кафедри

технології неорганічних речовин, водоочищення

та загальної хімічної технології

заслужений діяч науки і техніки України



I.M. Астрелін

Вчений секретар КПІ ім. Ігоря Сікорського

A.A. Мельниченко