

## PROBIOTIC BACTERIA FOR DRINKING WATER PURIFICATION FROM NITRATES

A. Sapura, P. Hvozdyak

*A. V. Dumansky Institute of Colloid and Water Chemistry of the NAS of Ukraine*

Key words:	ABSTRACT
<i>Probiotic bacteria</i> <i>Potable water</i> <i>Purification</i> <i>Nitrate</i>	We have investigated the purification of potable water from nitrate by means of the probiotic bacteria <i>Bacillus subtilis</i> , <i>B. licheniformis</i> as well as <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>L. bifidus</i> , <i>L. bulgaricus</i> and <i>Streptococcus thermophilus</i> , which form part of corresponding medical preparations. It was shown that slow (0.1 m <sup>3</sup> ·h <sup>-1</sup> ) filtration of water, with contents 300 ... 500 mg·l <sup>-1</sup> of nitrate, through the grain of sand and activated carbon, the chemical fiber under the pretext of carrier «VIYA» with immobilized probiotic bacteria on them, led to the reduction of nitrate concentration below 2,5 mg·l <sup>-1</sup> . Ethanol (0.1 ml to each 100 mg KNO <sub>3</sub> ) was added to treated water for support of microbial growth. The denitrification gas consisted of 95 — 97% of N <sub>2</sub> , 0,1 ... 0,3% — CO <sub>2</sub> , sometimes C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> (<1%), and (2 ... 3%) — H <sub>2</sub> O and did not contained H <sub>2</sub> , CH <sub>4</sub> , H <sub>2</sub> S. The biotests showed high quality and carelessness of obtained water.
<b>Article histore:</b> Received 04.12.2013 Received in revised form 17.12.2013 Accepted 03.01.2014	
<b>Corresponding author:</b> A. Sapura <b>E-mail:</b> sapura.work@gmail.com	

## ПРОБІОТИЧНІ БАКТЕРІЇ В ОЧИЩЕННІ ПИТНОЇ ВОДИ ВІД НІТРАТІВ

О.В. Сапура, П.І. Гвоздяк

*Інститут колоїдної хімії та хімії води ім. А.В. Думанського НАН України*

*У статті встановлено, що пробіотичні бактерії родів *Bacillus*, *Streptococcus* і *Lactobacillus*, які входять до складу лікарських препаратів, здійснюють процес денітрифікації питної води з понаднормованим вмістом нітратів. Очищення води здійснюється шляхом повільного фільтрування крізь зернисті (пісок, активоване вугілля) загрузки з іммобілізованими на них пробіотичними бактеріями. Концентрація нітратів у воді зменшується з 500... 800 мг/дм<sup>3</sup> до 2,5 мг/дм<sup>3</sup> і нижче.*

**Ключові слова:** пробіотичні бактерії, питна вода, очищення, нітрати.

Вважається, що «на стику XX і XXI століть медицина вступила в еру пробіотиків» [5]. З цим твердженням важко не погодитись, оскільки абсолютна безпека пробіотичних бактерій для здоров'я людей будь-якого віку надійно підтверджена багаторічним застосуванням їх у харчуванні та медичній практиці.

Переважає більшість пробіотичних бактерій належить до факультативних анаеробів, тому вони здатні окислювати органічні сполуки — джерела енергії та вуглецю — не тільки киснем, а й нітратами. Нітрати, у свою чергу, часто

виступають у ролі доволі неприємних забруднень стічних, поверхневих, ґрунтових і навіть підземних вод, а тому процеси денітрифікації (звільнення води від нітратів у надлишкових, небезпечних для довкілля, зокрема гідробіонтів, і здоров'я людини концентраціях) постійно знаходяться у полі зору спеціалістів з очищення стоків і підготовки питної води.

Мікробна денітрифікація [1, 4] здавна широко використовується в очищенні побутових і промислових стічних вод. Для цього застосовують складні, комплексні біоценози типу активованих мулів, до складу яких входять найрізноманітніші мікроорганізми, переважно бактерії роду *Pseudomonas*. Зрозуміло, що для звільнення *питної води* від нітратів такі біоценози використовувати неможливо з огляду на їх епідемічну небезпеку для здоров'я людини.

Спроби використання чистих культур непатогенних бактерій, наприклад, *Paracoccus denitrificans* [3], також викликають певні гігієнічні застереження.

Водночас проблема нітратів у питній воді в останні роки стає все більш актуальною [6], у тому числі й для України, бо в криницях багатьох областей, зокрема на сході та півдні, вміст нітратів перевищує гранично допустиму концентрацію (ГДК) у декілька і навіть десятки разів, що не може не позначитися на здоров'ї мешканців цих регіонів, особливо дітей [7].

Зважаючи на наведене вище, мета дослідження полягає у використанні цілком безпечних, більше того — лікувальних пробіотичних бактерій в очищенні питної води від нітратів у підвищених концентраціях.

У досліджах використовували пробіотичні бактерії видів *Bacillus subtilis* і *Bacillus licheniformis*, що входять до складу лікувальних пробіотичних препаратів «Біоспорин-Біофарм» та «Біоспорин-Дніпрофарм» (Україна). Ці бактерії, крім того, що мають відмінні денітрифікаційні властивості, ефективні як антагоністи щодо багатьох клінічних штамів патогенних бактерій, зокрема збудників кишкових захворювань і мікроскопічних грибів [5].

Також застосовували молочнокислі бактерії, такі як *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* і *Streptococcus thermophilus*, які входять до складу лікувального пробіотичного препарату «Йогурт» фірми Pharma Science (Канада), «систематичне використання якого з профілактичною метою покращує перистальтику кишечника, призводить до зниження холестерину в крові та підвищує імунітет в осіб усіх вікових груп» [5].

Культури вирощували на агаризованому поживному середовищі та іммобілізували шляхом природної адгезії на простерилізованому піску, через який фільтрують воду на Дніпровській водопровідній станції ПАТ «АК «Київводоканал» (м. Київ). У відстояну водопровідну воду вносили по 500 мг нітрату калію та 0,5 см<sup>3</sup> етилового спирту на 1 дм<sup>3</sup> води і пропускали через скляну колонку діаметром 36 мм із шаром іммобілізованого пробіотиками *B. subtilis* та *B. licheniformis* піску висотою 22 см зі швидкістю 0,1 м/год. (тобто в режимі «повільного англійського фільтру») упродовж 120 діб при кімнатній температурі (12 °С—25 °С). Регулярні аналізи концентрації нітратів у доочищеній воді за методом трихвильової фотометрії в ультрафіолеті [2] показали, що концентрація нітратів у біологічно очищеній воді не перевищувала 2 мг/дм<sup>3</sup>, що у понад 20 разів менше за гранично допустиму (ГДК).

Також проводили доочищення водопровідної питної води, в якій встановлювали концентрацію нітратів  $100 \text{ мг/дм}^3$ . Додавали по  $0,1 \text{ см}^3$  етилового спирту на кожен літр цієї води і пропускали її через піщаний фільтр з висотою загрузки  $90 \text{ см}$ . Пісок з Дніпровської водопровідної станції (м. Київ) попередньо стерилізували, потім на ньому іммобілізували пробіотичні бактерії *S. thermophilus*, *L. bulgaricus*, *L. acidophilus* і розміщали в тілі фільтра. Воду з розчиненими в ній нітратами і етанолом пропускали через фільтр у режимі «повільного фільтру» — зі швидкістю  $0,1 \text{ м/год}$ . впродовж  $120 \text{ діб}$ . Досліди проводили при кімнатній температурі. Регулярні аналізи концентрації нітратів у доочищеній воді показали, що ступінь біологічного доочищення питної води від цього забруднення становить  $97\text{—}98\%$ .

При проведенні доочищення питної води з бювету встановлювали концентрацію нітратів  $150 \text{ мг/дм}^3$ . Додавали  $0,15 \text{ см}^3$  етанолу на кожен літр цієї води і пропускали її через фільтр з активованим вугіллям (КАУ), на якому попередньо іммобілізували біомасу бактерій роду *Bacillus*, що входять до складу лікувального пробіотичного препарату «Біоспорин-Дніпрофарм». Висота вугільної загрузки фільтра становила  $90 \text{ см}$ , швидкість фільтрування —  $0,1 \text{ м/годину}$ . Дослід тривав  $120 \text{ діб}$  при кімнатній температурі. Концентрація нітратів у біологічно очищеній воді не перевищувала  $2 \text{ мг/дм}^3$ .

Для перевірки якісного складу біогазу, що виділявся під час пробіотичної денітрифікації, в ПЕТ-пляшки ємністю  $5,5 \text{ дм}^3$  кожна поміщали по  $1000 \text{ дм}^3$  попередньо простерилізованого піску з Дніпровської водопровідної станції (м. Київ) з іммобілізованими на ньому пробіотичними бактеріями видів *B. subtilis* та *B. licheniformis*, доливали по  $3,5 \text{ дм}^3$  відстояної водопровідної води, в яку додавали по  $800 \text{ мг}$  нітрату калію і  $2 \text{ см}^3$  етилового спирту на  $1 \text{ дм}^3$  води, створювали анаеробні умови: пляшку стискали з двох боків до повного витіснення з неї повітря, потім щільно закупорювали її гумовим корком з отвором, в який була вставлена скляна трубка з гумовим шлангом, кінець останнього був заблокований спеціальним затискачем з метою створення герметичних умов.

Біогаз, що виділявся під час пробіотичної денітрифікації, заповнював вільний простір стиснутої пляшки. Досліди проводили при температурі —  $28^\circ\text{C} \pm 0,5^\circ\text{C}$  у чотирьох повторностях. Через сім діб збирали утворений біогаз і проводили газохроматографічний аналіз в Інституті газу НАН України на газовому хроматографі 6890 N фірми «Agilent». Умови аналізу: детектор — катарометр; аналіз легких газів проводили на колонці MOLSIV довжиною  $15 \text{ м}$ , вуглеводнів — на колонці PLOTQ довжиною  $15 \text{ м}$ . Зразки газу вводили безпосередньо в дозатор хроматографа. Результати досліджень показали, що  $95\text{—}97\%$  газу, що виділявся в процесі пробіотичної денітрифікації, складав нітроген, решта — це вуглекислий газ і вода. У складі газу не виявлено водню, метану, сірководню.

### Висновки

Запропонована пробіотична денітрифікація питної води є високоєфективним, екологічно безпечним, економічно вигідним і корисним для здоров'я людей способом очищення води від нітратів.

### Література

1. *Екологічна біотехнологія: Навч. посібник: у 2-х кн. Кн. I* / О.В. Швед, О.Б. Миколів, О.З. Комаровська-Порохнявець, В.П. Новіков. — Львів: Видавництво Національного університету «Львівська політехніка», 2010. — 424с.
2. *Калиниченко И.Е., Демуцкая Л.Н.* Определение нитратов в питьевой воде методом трехволновой фотометрии в ультрафиолете // Журнал аналитической химии. — 2004. — Т. 59, № 3. — С. 240—244.
3. *Уланов М.М.* Розробка технології денітрифікації підземної води у реакторі з фіксованою біоплівкою. Автореферат дисертації канд. техн. наук, Київ. НУХТ — 2003. — 26 с.
4. *Хенце М., Армоэс П., Ля-Кур-Янсен Й., Арван Э.* Очистка сточных вод. Биологические и химические вопросы. — Москва: Мир, 2009. — 480 с.
5. *Широбоков В.П., Янковський Д.С., Димент Г.С.* Мікробна екологія людини з кольоровим атласом. [Навч. посібн.]. — Київ: ТОВ «Червона Рута-Турс», 2009. — 312 с.
6. *Archana, Sharma S.K., Sobti R.Ch.* Nitrate Removal from Ground Water: A Review // E-Journal of Chemistry. — 2012. — 9, № 4. — P. 1667—1675.
7. *Bondarenko Y.G., Samotuga V.V., Papach V.V., Bilyk L.I.* Medical-hygienic evolution of the impact of the nitrates of water of decentralized water delivery sources on the health status of the children of the early age // Environment and Health. — 2011. — № 4. — P. 23—25.

## ПРОБИОТИЧЕСКИЕ БАКТЕРИИ В ОЧИСТКЕ ПИТЬЕВОЙ ВОДЫ ОТ НИТРАТОВ

Е.В. Сапура, П.И. Гвоздяк

*Институт коллоидной химии и химии воды им. А.В. Думанского НАН Украины*

*В статье изучены особенности очистки питьевой воды от нитратов с помощью пробиотических бактерий *Bacillus subtilis*, *B. licheniformis* а также *Lactobacillus acidophilus*, *L. bifidus*, *L. bulgaricus* и *Streptococcus thermophilus*, которые входят в состав соответствующих медицинских препаратов. Показано, что при медленном (0,1 м/час) фильтровании воды, содержащей 300...500 мг/дм<sup>3</sup> нитратов через зернистые (песок, активированный уголь) и волокнистую (химическое волокно в виде носителя ВИЯ) загрузки с предварительно иммобилизованными на них пробиотическими бактериями концентрация нитратов уменьшается до уровня ниже 2,5 мг/дм<sup>3</sup>. Жизнедеятельность и денитрифицирующую способность микроорганизмов поддерживали добавкой к исследуемой воде этилового спирта в количестве 0,1 см<sup>3</sup> на каждые 100 мг KNO<sub>3</sub>. Образующийся в результате денитрификации газ состоял на 95—97% из N<sub>2</sub>, 0,1...0,3% — CO<sub>2</sub>, иногда C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> (<1%), остальные (2...3%) — H<sub>2</sub>O и не содержал H<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>S. Биотестирование (на дафниях, гидрах, зернах озимой пшеницы) подтвердило высокое качество и безопасность полученной в результате пробиотической денитрификации воды.*

**Ключевые слова:** *пробиотические бактерии, питьевая вода, очистка, нитраты.*