

Mikrobiološki diverzitet slanih lekovitih voda Slankamen banje - Srbija

VLADIMIR S. ŠARABA, Univerzitet u Beogradu,
Rudarsko-geološki fakultet, Beograd
VESNA B. OBRADOVIĆ, Institut za vodoprivredu
„Jaroslav Černi“, Beograd

Prethodno saopštenje
UDC: 553.7:579.8(497.113)
553.7:543.95(497.113)
DOI: 10.5937/tehnika1902303S

Tokom 2017. godine, izvršena je procena mikrobiološkog i biohemijskog diverziteta slanih lekovitih voda Slankamen banje na prisusvo ciljanih fizioloških grupa bakterija primenom sistema od 6 reakcionih testova biološke aktivnosti (BART): IRB, SRB, HAB, DN, SLYM i FLOR biotestova, koje potiču iz sredine karstno-pukotinskog tipa izdani predstavljenog petrografskim varijetetima litotamnijskih, ceritskih i peskovitih krečnjaka pliocenske i miocenske starosti, čiji položaj u vertikalnom profilu Zemljine kore je diskordantam preko krečnjaka i serpentinita anizijskog i ladinskog kata. Uz prethodno definisan fizičko-hemijski sastav slanih lekovitih voda, koji ukazuje da pripadaju Na⁺-Cl⁻ tipu vodu, kao i veoma mineralizovanim, hladnim i slabo alkalnim vodama, uz povišene koncentracije balneološki značajanih elemenata: Sr²⁺, J i B³⁺, izvršena su detaljna osmtranja BART biodetektora. Detektovana je visoka biohemijska aktivnost anaerobnih fermentacionih bakterija i aerobnih gvožđe oksidera, pri čemu je bilo procenjeno aproksimativno po danu reakcije 2.200 potencijalno aktivnih ćelija po mL vode. Detektovane su i sulfatoredukujuće bakterije srednje biohemijske aktivnosti, dok je prisustvo denitrifikacionih i bakterija uzorčnika biozarastnja kroz produkciju ekstracelularnih polisaharida karakterisala niska biohemijska aktivnost. Primenom softvera BART SOFT V-6 procenjen je rizik od razvoja procesa biokorozije i biozarastanja vodozahvatnog objekta „B-1“ („Slanjača“), te potencijalni zdravstveni rizik, čime je ustanovljen mogući razvoj isotimenih procesa, kao i minimalni zdravstveni rizik prilikom korišćenja slanih mineralnih voda u balneoterapijske svrhe, kao i odsustvo Pseudomonas (fluorescences i aeruginosa) bakterija u FLOR BART biodetektoru, uzročnika hidričnih bolesti.

Ključne reči: slane lekovite vode, bakterije, biokorozija, biozarastanje, zdravstveni rizik, Srbija

1. UVOD

Mikrobiološki diverzitet slanih mineralnih voda može biti predstavljen različitim fiziološkim vidovima bakterija, koje uglavnom pripadaju rodovima arheobakterija [1] [2] [3].

Prisustvo arheobakterija je utvrđeno i u mineralnim vodama sa sadržajem rastvorenih soli čak i do 300 g/L, i pripadaju grupi halofilnih mikroorganizama, koje karakteriše sposobnost da uspešno opstaju i razvijaju se u mineralnim vodama sa visokim koncentracijama soli [3] [4] [5], zbog čega se mogu smatrati ekstremnim organizmima predstavljajući model otpornosti života na planeti Zemlji [6] [7] [8] [9].

Ekstremofilni organizmi, u velikom broju slučaje-

va, zahtevaju i po nekoliko ekstremnih uslova da bi se uopšte mogli razmnožavati, koji, između ostalog, podrazumevaju i povišene vrednosti sadržaja rastvorenih soli, izražene vrednosti hidrostatičkog pritiska, odsustvo svetlosti, povišenu pH vrednost, povišenu temperaturu, specifične hemijske komponente i sl, čija specifičnost jeste upravo sredina u kojoj opstaju, u poređenju sa ostalim fiziološkim karakteristikama koje su uglavnom slične mezofilnim organizmima [1] [2].

Prisustvo mikroorganizama u mineralnim vodama može biti uzročnik niza inženjerskih problema, koji, pre svega, utiču na radni vek vodozahvatnog objekta i sanitarno-higijensku ispravnost vodnog resursa. Poznato je da bakterije mineralnih voda mogu da indukuju razvoj procesa biokorozije i biozarastanja vodozahvatnih objekata, kao i da uzorkuju promenu organoleptičkih svojstava mineralnih voda – pojava neprijatnog ukusa, mirisa, zamućenja i sl. [10] [11] [12]. Usled razvoja navedenih procesa, postoji rizik prilikom korišćenja mineralnih voda u balneoterapijske svrhe i svrhe pića (flaširanja), što zahteva konstantan

Adresa autora: Vladimir Šaraba, Univerzitet u Beogradu, Rudarsko-geološki fakultet, Beograd, Đušina 7
e-mail: vladimirsaraba@gmail.com
Rad primljen: 20.02.2019.
Rad prihvaćen: 14.03.2019.

monitoring koji će produžiti radni vek vodozahvatnog objekta i merama remedijacije mineralnih voda obezbediti odsustvo mikroflora nepoželjne sa sanitarno-higijenskog aspekta.

Zbog navedenih razloga, tokom 2017. godine obavljena je procena mikrobiološkog diverziteta slanih lekovitih voda Slankamen banje na prisustvo ciljanih fizioloških grupa bakterija, primenom sistema BART biodetektora, kako bi se utvrdio mikrobiološki potencijal i rizik za razvoj procesa biokorozije i biozaražavanja vodozahvatnog objekta B-1 („Slanjača”), te potencijalni zdravstveni rizik prilikom korišćenja slanih lekovitih voda u balneoterapijske svrhe.

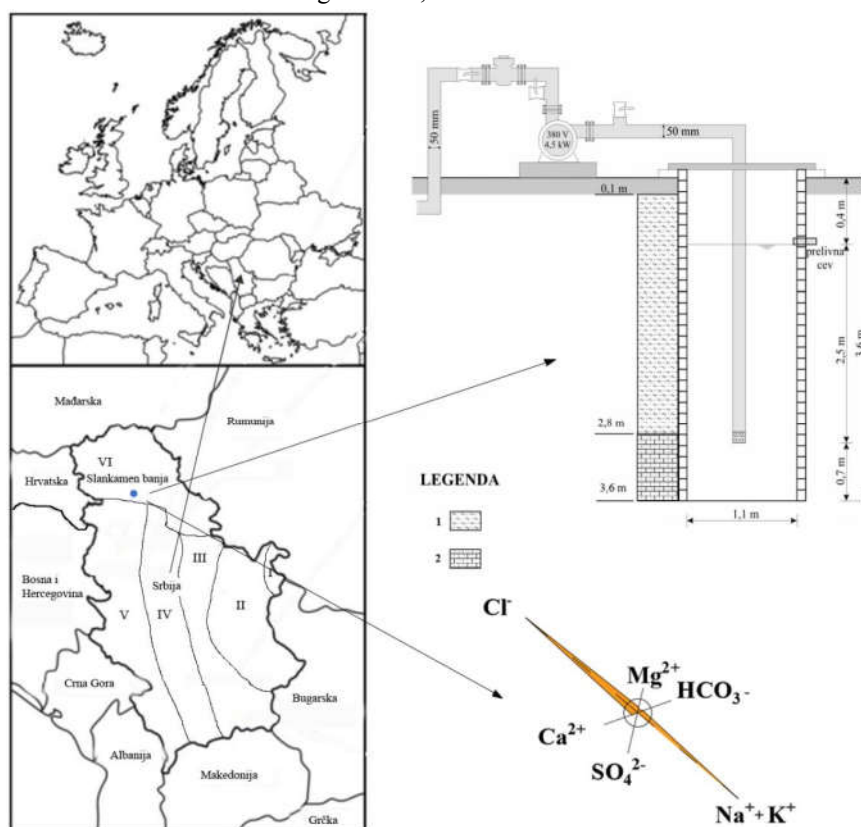
2. OPIS ISTRAŽIVANOG PODRUČJA

Slankamen banja se nalazi na istočnom podgorju Fruške Gore, i pripada geotektonskoj celini, odnosno, hidrogeološkom rejonu Panonskog basena, koji praktično pokriva teritoriju severnog dela Republike Srbije, odnosno, geografsku oblast Vojvodine, čija rejonizacija je izvedena na osnovu strukturno-geoloških,

petrografsko-mineraloških, geomorfoloških, hidrogeoloških, fizičko-geografskih i dr. karakteristika (slika 1). Smeštena je na nadmorskoj visini od 80 m, sa klimom umereno-kontinentalnog karaktera i srednjom višegodišnjom temperaturom vazduha od 11°C [13] [14] [15] [16].

Ležište slanih lekovitih voda, čija eksploatacija i višenamensko korišćenje se obavlja u Specijalnoj bolnici za neurološka i posttraumatska stanja „Dr Borivoje Gnjatić”, formira se u geološkoj sredini karstno-pukotinskog tipa, predstavljenog petrografskim varijetetima litotamnijskih, ceritskih i peskovitih krečnjaka pliocenske i miocenske starosti, čiji položaj u vertikalnom profilu Zemljine kore je diskordantam preko krečnjaka i serpentinita anizijskog i ladinskog kata [13] [14] [15] [16] (slika 1).

Kaptiranje slanih lekovitih voda se obavlja vertikalnim vodozahvatom, tj. kopanim bunarom „B-1” („Slanjača”) dubine 3.6 m (slika 1), čija izdašnost iznosi 0.5 L/s, a apsolutna starost voda se procenjuje na 132.500 godina [14] [15].



Slika 1 - Shematski prikaz geografsko-geotektonskog položaja Slankamen banje sa prikazom litološkog profila i konstrukcije vodozahvatnog objekta „B-1” („Slanjača”) koji kaptira slane lekovite vode i prikazom rozete osnovnog jonskog sastava ispitivane pojave [13] [14] [15]

Legenda: 1 – Glinoviti materijal i peskoviti sedimenti; 2 – Vodonosni litotamnijski, peskoviti i ceritski krečnjaci; I – Dakijski basen; II – Karpato-balkanidi; III – Srpsko kristalasto jezgro; IV – Šumadijsko kopaoničko kosovska zona; V – Unutrašnji Dinaridi zapadne Srbije; VI – Panonski basen.

3. MATERIJALI I METODE

Sa namerom detekcije ciljanih fizioloških grupa mikroorganizama, uzorkovane su slane lekovite vode za mikrobiološke analize, uz prethodno definisan fizičko-hemijski sastav ispitivane pojave.

Mikrobiološke analize - Tokom 2017. godine, uzorci slanih lekovitih voda Slankamen banje za mikrobiološke analize, su kolektovani i transportovani u skladu sa standardima SRPS EN ISO - 19458:2009. Slane lekovite vode analizirane su na prisustvo različitih ekofizioloških grupa bakterija primenom BART biodetektora. Određivano je prisustvo gvožđevitih, sulfatoredukujućih, heterotrofnih aerobnih i fakultativno anaerobnih, denitrifikacionih i heterotrofnih bakterija koje imaju sposobnost produkcije ekstracelularnih polimernih materija primenom IRB (Iron Related Bacteria), SRB (Sulfate Reducing Bacteria), HAB (Heterotrophic Aerobic Bacteria), DN (Denitrifying Bacteria) i SLYM (Slime Forming Bacteria) BART sistema. U svim pojavama, određivano je i prisustvo fluorescentnih *Pseudomonas* vrsta (*aeruginosa* i fluo-

rescences) primenom FLOR BART biodetektora. Uzorci su inkubirani na temperaturi od 22°C, u standardnom vremenskom periodu za svaki biodetektor.

Tokom perioda inkubacije uzoraka (5, 10 do 15 dana u zavisnosti vrste primenjenog biodetektora), signaturne reakcije bakterijske aktivnosti i njihovih metaboličkih proizvoda, praćene su dnevno i fotografisane su za fotodokumentaciju i proveru pojave vremena i tipa reakcija prateći proceduru datu u priloženoj literaturi.

4. REZULTATI I DISKUSIJA

Rezultati istraživanja su pokazali da slane lekovite vode Slankamen banje, pored specifičnog fizičko-hemijskog sastava, karakteriše i postojanje konzorcijuma jedinstvenog mikrobiološkog diverziteta koji ima potencijal da indikuje razvoj procesa bikorozije i biozarastanja vodozahvatnog objekta „B-1” („Slanjača”), te da postoji i minimalni zdravstveni rizik prilikom korišćenja slanih lekovitih voda u balneoterpijske svrhe.

Tabela 1. Rezultati fizičko-hemijskih analiza slanih mineralnih voda vodozahvatnog objekta B-1 („Slanjača”) na području Slankamen banje [14] [15] [16].

OSNOVNE KARAKTERISTIKE		MAKROKOMPONENTE (mg/L)	
Temperatura (°C)	17	Na ⁺	2370.7
Miris	Prisutan	K ⁺	20.7
pH	7.4	Ca ²⁺	188.5
Mineralizacija (mg/L)	7435	Mg ²⁺	105.0
Elektroprovodljivost (μS/cm)	10610	HCO ₃ ⁻	240.9
Utrosak KMnO ₄ (mg/L)	63.7	SO ₄ ²⁻	2
Ukupna tvrdoća (°dH)	45.9	Cl ⁻	4150.0
Mutnoća (NTU)	6.4	NO ₃ ⁻	1.1
MIKROKOMPONENTE (mg/L)			
F ⁻	0.5	Ba ²⁺	1.035
J ⁻	2.7	Cr	<0.010
SiO ₂	40	Cu	0.007
Sr ²⁺	50	Zn	0.005
B ³⁺	3.23	NH ₄ ⁺	66
Li ⁺	0.1	As	<0.0001
Mn	0.090	Ni	0.042
Cd	0.43	Pb	0.007
P ₂ O ₅	0.005	Fe ³⁺	0.45
Hg	<0.001		
GASOVI (mg/L)			
Slobodan CO ₂	21.2	Slobodan H ₂ S	0
RADIOAKTIVNOST (Bq/L)			
¹³⁷ Cs	<0.2	²²⁶ Ra	0.91±0.22
²³² Th	0.55± 0.14		

Fizičko-hemijski sastav - Slane lekovite vode Slankamen banje pripadaju klasi hloridnih i podklasi natrijumskih voda, čiji hemijski sastav je prikazan roze-
tom osnovnog jonskog sastava koja ukazuje na dominantan sadržaj jona Na^+K^+ (2390.7 mg/L) i Cl^- (4150.0 mg/L) [14] [15] [16] (slika 1) (tabela 1), a formula Kurlov-a glasi:

$$M_{7435} \frac{\text{Cl}_{97}}{(\text{Na}+\text{K})_{92}} T_{19} Q_{0.5} \quad (1)$$

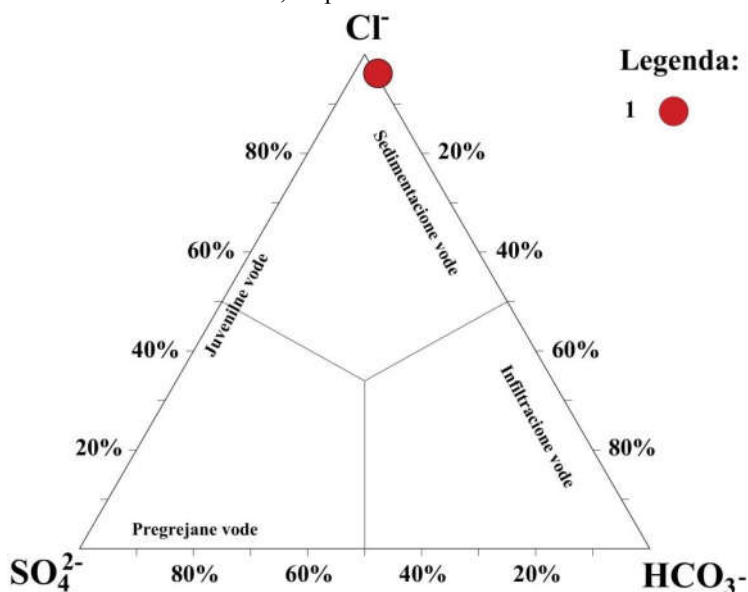
Na osnovu temperaturnih karakteristika i pH vrednosti, slane lekovite vode svrstavaju se u kategoriju hladnih ($T - 19^\circ\text{C}$) i slabo alkalnih voda (pH 7.4), a izuzetno visoke vrednosti sadržaja rastvorenih soli u vodi ih klasifikuju u kategoriju dobro mineralizovanih voda ($M - 7435 \text{ mg/L}$) (tabela 1). Od balneološki značajanih elemenata zabeležene su povišene koncentracije jona Sr^{2+} (50 mg/L), J^- (2.7 mg/L) i B^{3+} (3.23 mg/L) [14] [15] [16] (tabela 1).

Poznato je da joni Sr^{2+} na nivou kože sprečavaju keratinocite da stvaraju zapaljenske citokine [9] [17] [18], čiji sadržaj u mineralnim vodama za svrhe pića (flaširanja) ne sme biti veći od 2 mg/L [19], dok joni J^- predstavljaju glavni deo hormona štitne žlezde, i ispo-

ljavaju pozitivne efekte na vazodilataciju, resorpciju zapaljenskih eksudata, pojačanje odbrambenih i regenerativnih procesa, antiinflamatorno delovanje i sl. [16] [20]. B^{3+} predstavlja neophodan mikronutrijent, čiji je sadržaj zabeležen u povišenim koncentracijama od 3.23 mg/L, a vrednosti u vodi za piće ne smeju biti iznad 1 mg/L [21] (tabela 1).

Na slici 2 prikazan je trojni $\text{Cl}^- - \text{SO}_4^{2-} - \text{HCO}_3^-$ dijagram koji ukazuje na genezu slanih lekovitih voda Slankamen banje, na osnovu čega se zaključuje da se ispitivana pojava nalazi u delu sedimentacione („fossilne” ili „konatne”) vode, koje nastaju u procesu sedimentacije, odnosno, geoloških, tektonskih i drugih procesa u kome su morske vode zahvaćene i kao takve akumulirane u odgovarajućim hidrogeološki pogodnim sredinama [4] [5] [19].

Imajući u vidu činjenicu da je hidrogeološki rejon, odnosno, geotektonska celina Panonski basen, kojoj istraživana pojava slanih lekovitih voda Slankamen banje pripada, predstavljao delove nekadašnjeg Panonskog mora, odnosno, Paratetisa [14] [15], pitanje geneze slanih lekovitih voda treba tražiti u kontekstu stepa mediteranskog stadijuma.



Slika 2 - Trojni $\text{Cl}^- - \text{SO}_4^{2-} - \text{HCO}_3^-$ dijagram

Legenda: 1 – Slankamen banja

Rezultati mikrobioloških analiza - Detaljnim osmotranjem BART biodetektora na uzorcima slanih lekovitih voda Slankamen banje (slika 3), detektovana je visoka biohemijska aktivnost anaerobnih fermentacionih bakterija i aerobnih gvožđe oksidera, pri čemu je bilo detektovano aproksimativno po danu reakcije 2.200 potencijalno aktivnih ćelija po mL slane vode. Detektovane su i sulfatoredukujuće bakterije srednje

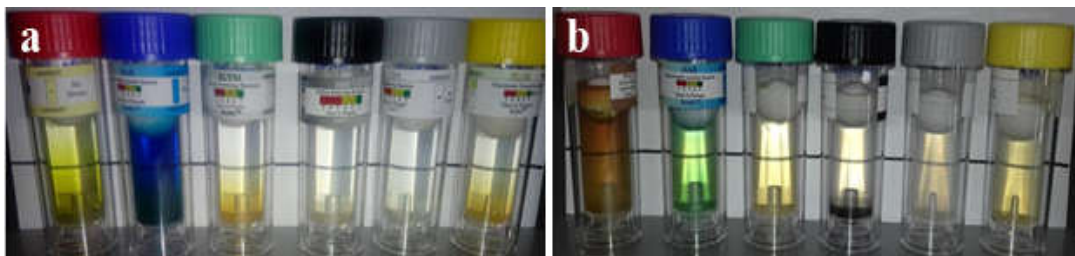
biohemijske aktivnosti, aproksimativno po danu reakcije 226 potencijalno aktivnih ćelija po mL slane vode, pri čemu je na osnovu pojave karakteristične reakcije BB („Blancked Base”) u SRB BART biodetektoru definisan konzorcijum anaerobnih vrsta među kojima dominiraju vrste roda Desulfovibrio, sa potencijalom za razvoj procesa biozarastanja, čiji opstanak je karakterističan za redukcione uslove i du-

boke slojeve biofilma. Prisustvo denitrifikacionih bakterija i bakterija uzročnika biozarastanja kroz produkciju ekstracelularnih polisaharida je karakterisala niska biohemijska aktivnost [22].

Primenom aplikativnog softvera BART-Soft v-6, procenjen je zdravstveni rizik, rizik od biokorozije i biozarastanja vodozahvatnog objekta, koji je na graduisanoj skali od 0-10 za slučaj biokorozije iznosio 4, dok je za slučaj biozarastanja vodozahvatnog objekta iznosio 3, uz prognozirani minimalni zdravstveni rizik prilikom korišćenja slanih lekovitih voda u balneoterapijske svrhe, pri čemu je na osnovu detektovanih

reakcija u FLOR BART biodetektoru slane lekovite vode karakterisalo odsustvo fluorescentnih *Pseudomonas* (*aeruginosa* i *fluorescences*) vrsta, uzročnika hidričnih bolesti [22].

Zbog detektovane visoke biohemijske aktivnosti gvožđevitih bakterija, preporučuju se mere sanacije koje će podrazumevati tretman remedijacije slanih lekovitih voda i/ili revitalizacije vodozahvatnog objekta, dok srednji stepen biohemijske aktivnosti sulfatoredukujućih bakterija ukazuje na neophodnost redovnog testiranja slanih lekovitih voda na prisustvo ciljane grupe bakterija [12].



Slika 3 – BART biodetektor prvo dana testiranja (27.10.2017.) (a) i pojava karakterističnih reakcija poslednjeg dana testiranja (6.11.2017.) (b) (foto: V. Obradović & V. Šaraba, 2017)

5. ZAKLJUČAK

Dugo vremena se smatralo da podzemne vode specifičnih fizičko-hemijskih karakteristika, kao što su slane lekovite vode Slankamen banje, karakteriše odsustvo postojanja specifičnih biocenoza, zbog čega, barem kada je reč o teritoriji Srbije, postoji veoma malo podataka o mikroorganizmima mineralnih voda, koji pored uticaja na radni vek i stabilnost vodozahvatnog objekta, utiču i na sanitarno-higijensku vodnog resursa. Rezultati istraživanja primenom sistema od 6 reakcionih testova biološke aktivnosti (BART testova) su pokazali da slane lekovite vode Slankamen banje karakteriše postojanje specijalizovanih grupa bakterija koje mogu da indukuju razvoj procesa biokorozije i biozarastanja vodozahvatnog objekta B-1 („Slanjača”), kao i da postoji minimalni zdravstveni rizik prilikom korišćenja slanih lekovitih voda u balneoterapijske svrhe, ali naročito važno, slane lekovite vode je karakterisalo odsustvo *Pseudomonas* (*fluorescences* i *aeruginosa*) vrsta u FLOR BART biodetektoru, uzročnika hidričnih bolesti.

LITERATURA

- [1] Bachofen R. Introduction, *Experientia*, Vol. 42, No. 11-12, pp. 1179-1182, 1986.
- [2] Madigan MT, Martinko JM, Parker J. *Brock biology of microorganisms*, Upper Saddle River, NJ: Prentice hall, 1997.
- [3] Jemcević V, Đukić D. *Mikrobiologija*, Vojnoizdavački zavod, Beograd, 2000.
- [4] Dragišić V. *Hidrogeologija*, Univerzitet u Beogradu, Rudarsko-geološki fakultet, Beograd, 1997.
- [5] Dragišić V, Živanović V. *Opšta hidrogeologija*, Univerzitet u Beogradu, Rudarsko-geološki fakultet, Beograd, 2014.
- [6] Pederson, K. Exploration of deep intraterrestrial microbial life: current perspectives, *FEMS Microbiology Letters*, Vol. 185, No. 1, pp. 9-16, 2000.
- [7] Danielopol DM, Pospisil P, Rouch R. Biodiversity in groundwater: a large-scale view, *Trends in Ecology Evolution*, Vol. 15, No. 6, pp. 223-224, 2000.
- [8] Griebler C, Lueders T. Microbial biodiversity in groundwater ecosystems, *Freshwater Biology*, Vol. 54, No. 4, pp. 649-677, 2009.
- [9] Šaraba V, Krunic O, Obradović V. Mikrobiološki diverzitet termomineralnih lekovitih voda Selters banje – Srbija, in Proc. 39. Međunarodni stručno-naučni skup „Vodovod i kanalizacija '18”, Valjevo, Srbija, pp. 266-273, 9-12 Oktobar, 2018.
- [10] Cullimore DR. *Ribbon formers, Gallionella (Group 1) - Microbiology of well biofouling*, CRC Press, Boca Raton, 1999.
- [11] Cullimore DR. *Practical manual of groundwater microbiology, 2nd Edition*, CRC Press, 2007.
- [12] Cullimore DR. *Standard Methods for the application of BART testers in environmental investigations of microbiological activities*, DBI, Canada, 2010.

- [13] Protić D. *Mineralne i termalne vode Srbije*, Geoinstitut, Beograd, 1995.
- [14] Filipović B. *Mineralne, termalne i termomineralne vode Srbije*, Univerzitet u Beogradu, Rudarsko-geološki fakultet, Beograd, 2003.
- [15] Filipović B, Krunic O, Lazić M. *Regionalna hidrogeologija Srbije*, Univerzitet u Beogradu, Rudarsko-geološki fakultet, Beograd, 2005.
- [16] Lazić M. *Elaborat o rezervama mineralnih voda na izvoristu SB Borivoje Gnjatić iz Starog Slankamena*, Rudarsko-geološki fakultet, Arhiva Departmana za hidrogeologiju, Beograd, 2008.
- [17] Tomić M, Lazić M. *Lekovite vode Vojvodine kao potencijal za razvoj banjskog turizma*, Zadužbina Andrejević, Beograd, 2017.
- [18] Selinus O, Alloway BJ. *Essentials of medical geology*, Springer, New York, 2013.
- [19] Selinus O, Alloway B, Centeno J, Finkelman R, Fuge R, Lindh U, Smedley P. *Essentials of Medical Geology*, 2005.
- [20] Krunic O. *Mineralne vode*, Univerzitet u Beogradu, Rudarsko-geološki fakultet, Beograd, 2012.
- [21] Dimitrijević N. *Hidrohemija*, Univerzitet u Beogradu, Rudarsko-geološki fakultet, Beograd, 1988.
- [22] Dimkić M, Brauch HJ, Kavanaugh M. *Upravljanje podzemnim vodama u velikim rečnim slivovima*, Institut za vodoprivredu „Jaroslav Černi“, Beograd, 2012.
- [23] Šaraba V, Krunic O, Obradović V. Primena BART biotektora u metodologiji hidrogeoloških istraživanja mineralnih voda, in Proc. 17. Kongres geologa Srbije, Vrnjačka banja, Srbija, pp. 532-537, 17-20 Maj, 2018.

SUMMARY

MICROBIOLOGICAL DIVERSITY OF SALINE HEALING WATER OF SLANKAMEN BANJA – SERBIA

In 2017, the microbiological and biochemical diversity of saline healing water at Slankamen Banja was assessed for the presence of targeted physiological groups of bacteria, using a system of six biological activity reaction tests (BART): IRB, SRB, HAB, DN, SLYM and FLOR. The water samples originated from a karst-fractured aquifer, represented by petrographic varieties of Pliocene and Miocene lithotamian, ceritic and sandy limestones, which discordantly overlie Anisian and Ladinian limestone and serpentinite. Prior to using the BART biotektors for detailed observations, the physical and chemical composition of the saline healing water was defined, indicating that it is of the Na⁺-Cl⁻ type, with a high mineral content. The water is also cold and low alkaline, exhibiting elevated concentrations of significant balneotherapeutic elements: Sr²⁺, J and B³⁺. The detected biochemical activity of anaerobic fermentation bacteria and aerobic iron oxidants was high. It is 2,200 potentially active cells per ml of water, approximately by day of reaction. Sulphate-reducing bacteria of medium biochemical activity were also detected, while the presence of denitrifying and slime forming bacteria was characterized by low biochemical activity. BART-Soft v-6 software was used to assess the risk of biocorrosion and biofouling processes developing in well B-1 ("Slanjača"), as well as the potential health risk. The study indicates that the development of these processes is possible, that the health risk of using the saline mineral water for balneotherapy is minimal, and that the BART FLOR biotektor did not reveal any Pseudomonas (fluorescences and aeruginosa) bacteria, which cause waterborne diseases.

Key words: saline healing water, bacteria, biocorrosion, biofouling, health risk, Serbia