Mikrobiološki diverzitet termomineralnih voda Vrnjačke Banje i Metkovića (Mačva) – 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(497.11)
DOI:10.5937/tehnika1903469S

Tokom 2017. godine, prvi put je analiziran mikrobiološki i biohemijski diverzitet termomineralnih voda Vrnjačke banje, izvorišta Jezero (vodozahvatni objekat „VBJ-2/85”), i Metkovića (Mačva) (vodozahvatni objekat „BMe-1”) simultanom primenom sistema od 6 reakcionih testova biološke aktivnosti (BART): IRB, SRB, HAB, DN, SLYM I FLOR biotestova. Termomineralne vode se kaptiraju vodozahvatnim objektima dubine 302 m i 627 m, iz sredina različitih strukturno-geoloških, petrografsko-mineraloških, hidrogeoloških i drugih karakteristika, čija akumulacija i obnavljanje se obavlja u izdani sa nivoom pod pritiskom predstavljenom petrografskim varijetetima paleozojskih škriljica sa sočivima mermera (Vrnjačka banja) i eocenskim peščarima (Metkovića), pri čemu je magmatska aktivnost i prateći vulkanski ekvivalenti indikator povišene temperature i sadržaja CO₂ termomineralnih voda. Na osnovu prethodno definisanog fizičko-hemijskog sastava, zaključeno je da ispitivane pojave pripadaju HCO₃⁻ - Na⁺ osnovnom jonskom tipu, hipotermama (Vrnjačka banja – 27.0°C) i hipertermama (Metković – 59.8°C), neutralnim (pH 7.0), dobro mineralizovanim (Vrnjačka banja – 2009 mg/L; Metković – 1082 mg/L), kao i ugljikiselim vodama, barem kada je reč o pojavi u Vrnjačkoj banji (CO₂ – 1120.0 mg/L). Odabrane pojave termomineralnih voda su zbog navedenih posebnosti i značaja i mikrobiološki analizirane, pri čemu su detektovani predstavnici aerobnih gvoždevitih i anaerobnih bakterija, niske biohemijske aktivnosti. Sulfatoredukujuće, heterotrofne, sluz produkujuće, respiratorne denitrifikacione i fluorescentne Pseudomonas vrste nisu detektovane. Dnevnom posmatranjem signaturnih reakcija u sistemu BART biotektora i primenom softvera BART-Soft v-6, prognozirani rizik od biokorozije, biozastojanja-biofilma, kao i zdravstveni rizik ovih pojava je ocenjen kao nizak, ali se preporučuje povremeno testiranje ispitivanih termomineralnih voda na ciljne fiziološke grupe bakterija i redovna provera sanitarno-higijenske ispravnosti.

Ključne reči: termomineralne vode, bakterije, BART biotektori, Srbija

1. UVOD

Mikrobiološki diverzitet termomineralnih voda, barem kada je reč o teritoriji Srbije, do danas, nije bio predmet detaljnijih istraživanja sa hidrogeološkog aspekta [1] [2].

Bakterije, koje veoma često predstavljaju sastavni deo bioceneze termomineralnih voda, su grupa mikroorganizama prokariotske građe koja se stabilizovala na „primitivnom“ stadijumu ćelijske evolucije i pripadaju najstarijim i sveprisutnim oblicima života koji u poslednjih 4 biliona godina kreiraju naseljive i povoljne uslove za više životne forme na Zemlji. Za razliku od

multicelularnih oblika života koji su ograničeni uglavnom na površinska staništa, polienzimatska priroda, metabolička raznovrsnost biohemijskih puteva, velika adaptivna sposobnost (varijacije u morfologiji i veličini ćelije), mogućnost genetskih izmena, prisustvo plazmida i sl, omogućavaju bakterijama da naseljavaju najrazličitija staništa, gde često predstavljaju jedinu formu života [3], [4], [5]. Mikroorganizmi definišu limite biološke tolerancije na fizičko-hemijske ekstreme uslova sredine, podrazumevajući velike varijacije u temperaturi (hidrotermalna staništa i polarni led), pritisku (interzvezdani prostor, dubine od nekoliko kilometara u zemljinoj kori i pukotine u okeanima), hemiji voda (kisele drenažne vode, alkalni rasol, alkalna jezera), a neke vrste, kao što je *Deinococcus radiodurans*, preživljavaju i sterilišuće doze jonizujućeg zračenja i rastu u rashladnim vodama nuklearnih reaktora. Hemijska reaktivnost i metabolički diverzitet

Adresa autora: Vladimir Šaraba, Univerzitet u Beogradu, Rudarsko-geološki fakultet, Beograd, Dušina 7
e-mail: vladimirsaraba@gmail.com
Rad primljen: 20.02.2019.
Rad prihvaćen: 10.04.2019.

u posredovanju u redoks reakcijama koji ispoljavaju mikrobijalne zajednice u podzemnim vodama, čine ih integralnom komponentom u globalnom kruženju elemenata kao što su ugljenik, gvožđe, mangan, azot, sumpor i dr, kao i u rastvaranju, precipitaciji i stvaranju minerala u podpovršinskim staništima [3], [4], [5].

U poslednjih nekoliko decenija, opšte prihvaćeno mišljenje je da su bakterije podzemnih voda uobičajenih karakteristika, kao i termomineralnih voda, povezane sa nizom procesa koji su nastali kao rezultat njihove metaboličke aktivnosti i metaboličkih proizvoda u vodi i na matriksu izdani. Ovi procesi utiču na različite načine na starenje vodozahvatnih objekata, izazivajući biokoroziju, biozarastanje monospecijskim i multispecijskim biofilmovima, inkrustacije gvožđem, manganom, karbonatima ili je prisustvo određenih vrsta uticalo na sanitarno-higijensku ispravnost vodnog resursa [3], [4], [5].

U prirodnim uslovima, većina mikroorganizama postoji u obliku asocijacija koje se generalno nazivaju biofilmovi, tj. prostorno i metabolički strukturirane zajednice mikroorganizama koja je podržana i uključena u ekstracelularnu organsku polimernu matricu i koja je locirana na faznom interfejsu (npr. voda-matriks izdani ili voda-vazduh na izlivu izdani). Biofilmovi su vrsta mikrobnih konzorcija (multispecijske udruge) koji igraju važnu ulogu u biogeohemijskim procesima u biosferi. Oni su najstariji i najuspešniji oblik života koji nastaje kada mikroorganizmi koloniziraju tlo, mineralne površine, povrće i korenove sisteme, uključujući i ekstremna staništa kao što su termomineralne vode [3], [4], [5].

Poznato je da stalno mesto življenja gvoždevitih bakterija veoma često predstavljaju vodozahvatni objekti podzemnih (termomineralnih) voda, i razvijaju se na eksploatacionim kolonama, pumpama, potisnim vodovima, filterima i sl, nalazeći se mnogo ređe u planktonskom stanju u podzemnim (termomineralnim) vodama.

Ove vrste odgovorne su za stvaranje i taloženje prokristala gvožđe oksihidroksida u aerobnom i anaerobnom okruženju ili žuto-narandžastog želatinoznog biofilma podržanog filamentoznom matricom određenih mikroaerofilnih, neutrofilnih vrsta.

Takođe, dokazano je da opstanak i perzistencija brojnosti *E. coli* i nekih drugih oportunih patogena u vodi za piće može da se održi znatno duže u prisustvu gvožđe hidroksida, u anaerobnim uslovima. Populacija heterotrofnih aerobnih i fakultativno anaerobnih bakterija ukazuje na uslove koji vladaju u izdani podzemnih (termomineralnih) voda i indikacija su dostupnosti i sadržaja organskih materija, usled čije biodegradacije, kao rezultat metaboličke aktivnosti bakterija mogu

nastati hemijske materije podjednako ili čak većeg stepena toksičnosti od prvobitne zagađujuće materije. Heterotrofnim bakterijama pripadaju i biofilm-formirajuće i oportuno patogene vrste, koje u okviru biofilm struktura perzistiraju duže vreme, a pojedine enterične vrste se uspešno i multiplikuju u okviru biofilma, te je stoga brojnost ove fiziološke grupe vrlo važna i u prognozi zdravstvenog rizika i sanitarno-higijenske ispravnosti vode.

Uobičajena karakteristika sluz produkujućih bakterija je da ekskretuju vanćelijske polimerske materije – niti, kao zaštitne sluzave kapsule oko svojih ćelija. Ekstracelularne polimerne materije (EPS) su neophodne da bi se bakterije pričvrstile za površinu, formirale biofilm i počele da proizvode sluz kao zaštitni omotač. U okviru ekstracelularnih polimernih materija većina minerala i drugih hemijskih vrsta je zarobljena i/ili je istaložena.

U ovu grupu spadaju mnoge aerobne i fakultativno anaerobne bakterije (npr. rodovi *Micrococcus*, *Proteus*, *Pseudomonas* i enterične bakterije *Citrobacter* i *Enterobacter*, *Zoogloea*, itd.).

S druge strane, kao sesilni organizmi na tehničkim elementima vodozahvatnih objekata se razvijaju i sulfat-redukujuće bakterije koje generišu stvaranje gasa H_2S i uzrokuju rupičasto fokusiranu koroziju, koroziju ispod naslaga u anaerobnom delu biofilma.

Prisustvo denitrifikacionih bakterija je indikator organske opterećenosti podzemnih (termomineralnih) voda, suboksičnih uslova i prisustva nitrata. Sa denitrifikacijom su asociране i oportuno patogene vrste *E. coli* i *P. aeruginosa*.

Prisustvo *Pseudomonas* bakterija je karakteristično i za podzemne (termomineralne) vode koje sadrže razne organske rastvarače, zatim naftna jedinjenja, kao što su beznin, mlazna goriva i sl.

Siguran indikator prisustva ovih vrsta u podzemnim (termomineralnim) vodama je miris na pokvarenu ribu ili kerozin gorivo, usled čije metaboličke aktivnosti dolazi do aerobne biodegradacije u podzemnim (termomineralnim) vodama [3], [4], [5], [6], [7], [8].

Iz prethodno navedenih razloga, tokom 2017. godine, kako bi se stekao uvid u mikrobiološki i biohemijski diverzitet odabranih pojava i procenio rizik od razvoja procesa biokorozije i biozarastanja vodozahvatnih objekata, te potencijalni zdravstveni rizik, izvršene su mikrobiološke analize Vrnjačke banje izvorišta Jezero (vodozahvatni objekat „VBJ-2/85”) i Metkovića (Mačva) (vodozahvatni objekat „BMe-1”), simultanom primenom sistema od 6 vrsta BART biotestova.

2. OPIS ISTRAŽIVANOG PODRUČJA

Pojave termomineralnih voda koje su bile predmet istraživanja nalaze se u sredinama različitih strukturno-geoloških, istorijsko-geoloških, petro-grafsko-mineraloških, hidrogeoloških i drugih karateristika (tabela 1), u geotektonskim celinama i hidrogeološkim rejonima: Šumadijsko kopaoničko kosovska zona – pojava termomineralnih voda u Vrnjačkoj Banji (vodo-

zahvatni objekat „VBJ-2/85“) i Unutrašnji Dinaridi za padne Srbije - pojava termomineralnih voda u Metkoviću (vodozahvatni objekat „BMe-1“) (slika 1). Hidrogeološki rejon teritorije Srbije izdvojeni su na osnovu tektonskih, litofacijalnih, geomorfoloških, hidrogeoloških, fizičko-geografskih i drugih karakteristika, koji se podudaraju sa geotektonskim celinama, sa manjim ili većim odstupanjima kada su granice u pitanju [9] [10] [11].

Tabela 1. Karakteristike istraživanih pojava termomineralnih voda [9] [10] [12] [13] [14] [15]

Lokalnost / Pojava	Strukturni tip izdani i hidrodinamičke karakteristike	Litološki sastav izdani i stratigrafska pripadnost	Tip vodozahvatnog objekta	Dubina vodozahvatnog objekta (m)	Izdašnost (L/s)	Specifične karakteristike termomineralnih voda	Indikator povišene temperature i sadržaja CO ₂
Vrnjačka Banja (izvorište „Jezero“) / bunar „VBJ-2/85“	Pukotinski tip izdani sa nivoom pod pritiskom	Paleozojski sericitsko-hloritski škriljci sa sočivima mermera	Bušeni bunar	302	1.25	CO ₂ – 1120.0 mg/L	Magmatske intruzije, verovatno predstavljene granitoidima
Metković / bunar „BMe-1“	Pukotinski tip izdani sa nivoom pod pritiskom	Metapeščari eocenske starosti	Bušeni bunar	627	15	T – 59.8°C	Magmatske intruzije prenogenske podloge (granitoidi) i prateći vulkanski ekvivalenti

U geološkom pogledu, područje Vrnjačke Banje čine metamorfiti, predstavljeni paleozojskim škriljcima u vidu kompleksa sericitsko-hloritskih škriljaca i peščara sa sočivima kalkšista i mermera.

Istočno i južno od Banje, većeg rasprostranjenja su ultramafiti harcburgitskog sastava, dok se severoistočno nastavljaju flišni sedimenti barem-apta, a starije stene sa severa zaplavljaju neogene naslage koje su predstavljene glinama, laporima, konglomeratima i tufovima.

Tercijarni i kvartarni sedimenti u Mačvi, kojoj područje Metkovića u najužem smislu i pripada, su lokalno različite debljine, u rasponu od 100-1500 m, pri čemu je debljina kvartarnih sedimenata 20-100 m. Preneogenska podloga je izgrađena od različitih

paleozojskih i mezozojskih tvorevina, kao i magmatskih stena [9] [10] [12] [13] [14] [15] (slika 1).

Tektonski odnosi na području Vrnjačke Banje su veoma složeni, što je uslovalo postojanje više tektonskih struktura i raseda, za koje se vezuju pojave termomineralnih voda, kao i antiformu paleozojskih škriljaca izazvanu intruzijom granitoida, što je omogućilo proces generisanja gasa CO₂ kojim su zasićene termomineralne vode.

Na području Mačve, tektonskim pokretima, koji su bili snažni u mlađim odeljcima neogena, formirana je složena parketno-blokovska struktura podloge, a terciarna magmatska aktivnost, evidentna kroz vulkanite, granitoide i druge ekvivalente, prouzrokovala je i geotermalnu anomaliju u terenu [9] [10] [12] [13] [14] [15].

Slika 1 – Shematski prikaz geografsko-geotektonskog položaja sa prikazom geološke podloge i litoloških profila i konstrukcija vodozahvatnih objekata istraživanih pojava termomineralnih voda [9][10][13][16][17][18] Legenda: I – Panonski basen; II – Unutrašnji Dinaridi zapadne Srbije; III – Šumadijsko kopaoničko kosovska zona; IV – Srpsko kristalasto jezgro; V – Karpato-balkanidi; VI – Dakijski basen; a. Metković (Mačva): 1. Aluvijalno-plavni sedimenti: peskovi, alevritski peskovi, alevriti sa karbonatnim konkrecijama; 2. Lesoidno-barski sedimenti: pesak i alevritski pesak; 3. Geološka granica; 4. Rased; 5. Pojava termomineralnih voda; b. Vrnjačka Banja: 1. Aluvijalni sedimenti: šljunkovi, peskovi, gline; 2. Sedimentno-vulkanogena serija; 3. Fliš: glinci, laporci, peščari, alevroliti i konglomerati (valend i otriv); 4. Serpentiniti; 5. Kalkšisti i mermeri; 6. Hlor-epidot-aktinolitiski škriljci i metabazalti; 7. Filiti; 8. Geološka granica; 9. Rased; 10. Pojava termomineralnih voda; BMe-1 (Metković, Mačva) – 1. Tercijarni sedimenti: krupnozrni šljunak, laporovite gline, pseak, gline, peščari, konglomerati; VBJ-2/85 (Vrnjačka banja, izvoriste Jezero) – 1. Škriljci sa kvarcnim žicama; 2. Zeleni škriljci sa kvarcnim žicama; 3. Grafilitični škriljci sa kvarcnim žicama i piritom; 4. Zeleni škriljci; 5. Mermeri; 6. Zeleni kristalasti škriljci sa kvarcnim žicama; ϕ - prečnik uvodne kolone, prečnik eksploatacione kolone i prečnik bušenja.

3. MATERIJALI I METODE

Sa namerom utvrđivanja mikrobiološkog diverziteta odabranih pojava termomineralnih voda i prisustva fizioloških grupa bakterija, bilo je neophodno obaviti uzorkovanje termomineralnih voda za mikrobiološke analize na osnovu prethodno definisanih fizičko-hemijskih svojstava termomineralnih voda. Mikrobiološke analize.

Tokom 2017. godine, uzorci termomineralnih voda Metkovića i Vrnjačke Banje za mikrobiološke analize su kolektovani i transportovani u skladu sa standardima SRPS EN ISO - 19458:2009. Reakcionim testovima biološke aktivnosti određivano je prisustvo gvoždevitih, sulfatoredukujućih, heterotrofnih aerobnih i fakultativno anaerobnih, denitrifikacionih, heterotrofnih bakterija i 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, odnosno određivana je prisutnost glavnih grupa bakterija koje čine arhitekturu multispecijskog biofilma na metalnim površinama.

U svim pojavama, određivano je i prisustvo fluorescentnih *Pseudomonas* vrsta (*aeruginosa* i fluorescences) primenom FLOR BART biotektora. Uzorci su inkubirani na temperaturi od $22 \pm 5^\circ\text{C}$, u standardom propisanom vremenskom periodu za svaki biotektor.

Tokom perioda inkubacije uzoraka (5, 10 do 15 dana u zavisnosti vrste primenjenog biotektora),

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 [8].

4. REZULTATI I DISKUSIJA

Rezultati sprovedenih istraživanja su pokazali da na teritoriji Srbije postoje termomineralne vode specifičnog fizičko-hemijskog sastava sa potencijalom za razvoj jedinstvenih mikrobioloških zajednica.

Tabela 2. Rezultati fizičko-hemijskih analiza termomineralnih voda Vrnjačke Banje („VBJ-2/85“) i Metkovića („BMe-1“)[9] [13] [16]

Ispitivani parametri	Pojava/bunar	
	Vrnjačka Banja, izvorište Jezero/VBJ-2/85	Metković/BMe-1
OSNOVNE FIZIČKO-HEMIJSKE VELIČINE		
T (°C)	27.0	59.8
Mineralizacija (mg/L)	2009	1082
Ph	7.0	7.0
Utrošak KMnO ₄ (mg/L)	3.0	9.2
Elektroprovodljivost (μS/cm)	3250	1443
Slobodan CO ₂ (mg/L)	1120.0	96.8
MAKROKOMPONENTE(mg/L)		
Katjoni		
Na ⁺	552.9	251.6
K ⁺	80.8	19.8
Ca ²⁺	128.1	34.7
Mg ²⁺	52.1	7.8
Anjoni		
HCO ₃ ⁻	2348.5	640.0
SO ₄ ²⁻	3.4	2.5
Cl ⁻	36	112.7
NO ₃ ⁻	<1.0	<0.02
NO ₂ ⁻	<0.005	0.003
MIKROKOMPONENTE (mg/L)		
F ⁻	1.9	1.77
Pb	<0.01	<0.003
As	<0.001	0.002
Zn	<0.05	0.002
Mn	0.18	0.002
Cr	<0.02	0.002
Fe	0.4	0.21
MIKROKOMPONENTE (mg/L)		
Cu	0.01	0.002
Al ³⁺	<0.1	<0.04
Ba ²⁺	<0.5	0.67
Sr ²⁺	2.3	1.10
Li ⁺	1.32	0.33
Rb ⁺	0.54	0.10
H ₂ S	<0.004	0.8

Fizičko-hemijski sastav. Termomineralne vode Vrnjačke Banje („VBJ-2/85“) i Metkovića („BMe-1“) pripadaju HCO_3^- - Na^+ osnovnom jonskom tipu vodu, dok na osnovu preovlađujućeg gasnog sastava pripadaju ugljikoselim (Vrnjačka Banja „VBJ-2/85“ - 1120.0 mg/L slobodnog CO_2) i azotnim vodama (Metković „BMe-1“). Na osnovu pH vrednosti, pojave termomineralnih voda pripadaju neutralnim (pH 7.0), čiji sadržaj rastvorenih soli u vodi je iznad 1 g/L (Vrnjačka banja „VBJ-2/85“ - 2009 mg/L; Metković „BMe-1“ - 1082 mg/L). Temperaturne vrednosti termomineralnih voda Vrnjačke Banje („VBJ-2/85“) iznose 27.0°C, na osnovu čega pripadaju hipotermama, dok je za pojavu u Metkoviću („BMe-1“) izmerena vrednost temperature od 59.8°C, što ih klasifikuje u kategoriju hipertermi.

Elektroprovodljivost, kao svojstvo termomineralnih voda koje zavisi od sadržaja rastvorenih soli u vodi i temperature, imalo je vrednost od 3250 $\mu\text{S}/\text{cm}$ za pojavu u Vrnjačkoj Banji („VBJ-2/85“), odnosno, od 1443 $\mu\text{S}/\text{cm}$ za pojavu u Metkoviću („BMe-1“) (tabela 2). U hidrogeološkim kolektorima preneogenske podloge Mačve, kojoj područje Metkovića u najužem smislu pripada, akumulirane su značajne količine termomineralnih voda, čiji je energetski potencijal procenjen u ekvivalentnoj vrednosti od 75 miliona tona nafte [9] [10] [13] [19].

Hemijski sastav termomineralnih voda prikazan je grafički na slici 2, koja pojedinačno ilustruje jonski sastav ispitivanih pojava, ukazujući na dominantno prisustvo HCO_3^- i Na^+ jona, a posredno ukazuje i na vrednost mineralizacije ispitivanih pojava, pri čemu termomineralne vode Vrnjačke banje odlikuje znatno veći sadržaj rastvorenih soli.

Na slici 3 prikazan je trojni Ca^{2+} - Mg^{2+} - Na^+ i Cl^- - SO_4^{2-} - HCO_3^- dijagram, koji pokazuje da su za obe istraživane pojave dominantni katjoni Na^+ , nakon čega po zastupljenosti slede katjoni Ca^{2+} i Mg^{2+} (slika 4a). Obe pojave se nalaze u području sa visokim koncentracijama bikarbonatnih jona (slika 4b), odnosno, termomineralne vode se mogu klasifikovati kao infiltracione vode, koje nastaju na račun poniranja voda sa površine zemlje u njene dublje delove u kojima se odvija proces međusobnog dejstva vode i stena, zagrevanje, sakupljanje i ponovno pojavljivanje na površini [11] [20] [21]. Razlog povišene temperature termomineralnih voda, pogotovo termomineralnih voda Metkovića, treba upravo tražiti u kontekstu njihove povezanosti sa stenama magmatskog porekla.

Rezultati mikrobioloških analiza - Detaljnim osmatranjem signaturnih biohemijskih reakcija i njihovih proizvoda u biodektorima sa uzorcima termomineralnih voda Vrnjačke Banje („VBJ-2/85“) (slika 4a),

detektovana je populacija aerobnih gvoždevitih bakterija (verovatno dominiraju *Gallionella ferruginea* i heterotrofne gvoždevite bakterije u biofilmu), niskog stepena biohemijske aktivnosti, dok je mikrobiološki diverzitet termomineralnih voda Metkovića („BMe-1“) bio predstavljen samo populacijom anaerobnih bakterija u DN-BART sistemu bez redukcije nitrata do N_2 , takođe niskog stepena biohemijske aktivnosti (Slika 4b). Gvoždevite bakterije u IRB BART biodektoru detektovane su na osnovu karakteristične reakcije „BR“ („Brown Ring“), koja je uočena kao pojava crveno-smeđeg do tamno-smeđeg kompaktnog prstena oko flotacione lopte u testnoj bočici, širine manje od 3 mm i braon mutnoće u stubu testera ispod loptice. Poznato je da gvoždevite bakterije mogu da utiču na starenje vodozahvatnog objekta koje se manifestuje narušavanjem površinskih karakteristika materijala bunarske konstrukcije na kojima dolazi do formiranja taloga gvožđa, što posredno može uticati i na smanjenje eksploatacionih kapaciteta vodozahvata i promenu organoleptičkih karakteristika mineralnih voda. Talози, kao posledica biohemijske aktivnosti gvoždevitih bakterija, mogu da sadrže u svom sastavu i karbonate i sulfide sa visokim sadržajem gvožđa (od 1% do čak 40% suve težine), kao i redukovani sadržaj organskog ugljenika (<1% organskog ugljenika). Zajednička karakteristika svih taloga jeste prisustvo visoke koncentracije Fe^{3+} i izvesna brojnost populacije gvoždevitih bakterija [6] [7] [8] [22]. U okviru DN BART testa, denitrifikacione bakterije nisu detektovane na osnovu karakteristične reakcije „FO“ („Foam“), jedine karakteristične reakcije za respiratornu denitrifikaciju (mehurići N_2) i ovaj tip BART testa, koja se pojavljuje u zoni oko flotacione lopte [6] [7] [8] [22]. Konstatovana je samo mutnoća duž primenjenog testera koja je upućivala na aktivnost anaerobnih bakterija. Prisustvo denitrifikacionih bakterija je indikator izvesnog sadržaja organskih materija i nitrata u podzemnoj vodi, odnosno i moguće kontaminacije jedinjenjima azota iz različitih izvora (otpadne vode, kanalizacioni sistemi, poljoprivredno zemljište i sl.) i potencijalnog prisustva patogenih bakterija i pesticida. U primenjenim biodektorima nisu uočene reakcije koje bi upućivale na bakterije enteričnog tipa, sulfatoredukujuće i proteolitičke vrste, kao ni na prisustvo fluorescentnih *Pseudomonas* vrsta. Primenom aplikativnog softvera BART-Soft v-6, na osnovu dana pojave i vrste biohemijskih reakcija koje su se pojavile u svim BART testovima, procenjen je rizik od biokorozije i biozarastanja vodozahvatnih objekata u Vrnjačkoj banji („VBJ-2/85“) i Metkoviću („BMe-1“), kao i rizik od razvoja istoimenih procesa na termotehničkoj opremi i potencijalni zdravstveni rizik u korišćenju termomineralnih voda kao hidrogeotermalnog resursa, te njihove primene u balneoterpijske svrhe i svrhe pića

(flaširanja). Na osnovu detektovane niske brojnosti populacije aerobnih gvoždevitih i anaerobnih bakterija prognozirani je minimalan zdravstveni rizik, nije ustavljen rizik za razvoj procesa biokorozije i biozarastanja

vodohvatnih objekta i termotehničke opreme, ali je preporučljivo povremeno testiranje na ekofiziološke grupe bakterija, kao i redovna provera sanitarno-higijenske ispravnosti ovih resursa [22].

Slika 2 - Dijagram radialnih koordinata hemijskog sastava ispitivanih pojava: a. Vrnjačka Banja („VBJ-2/85“), b. Metković („BMe-1“)

Slika 3 - Trojni Ca^{2+} - Mg^{2+} - Na^{+} (a.) i Cl^{-} - SO_4^{2-} - HCO_3^{-} (b.) dijagram ispitivanih pojava termomineralnih voda: 1. Vrnjačka Banja („VBJ-2/85“), 2. Metković („BMe-1“)

Slika 4 - BART biotest detektori prvog dana testiranja (a. – Vrnjačka banja („VBJ” – 2/85): 30.10.2017.; c. – Metković („BMe-1“): 27.10.2017.) i pojava karakterističnih reakcija poslednjeg dana testiranja (b. – Vrnjačka Banja („VBJ” – 2/85): 3.11.2017.; d. – Metković („BMe-1“): 6.11.2017.) (foto: V. Obradović & V. Šaraba, 2017)

5. ZAKLJUČAK

Termomineralne vode, do danas, nisu bile predmet detaljnijih istraživanja sa aspekta prisustva specifičnih grupa bakterija, barem kada je reč o teritoriji Srbije. Primenom BART biodetektora, na primerima odabranih pojava termomineralnih voda u Vrnjačkoj Banji („VBJ-2/85“) i Metkoviću („BMe-1“), koje potiču iz sredina različitih strukturno-geoloških, petrografsko-mineraloških, hidrogeoloških i drugih karakteristika, se pokazalo da termomineralne vode karakteriše prisustvo gvožđevitih i anaerobnih bakterija, niskog stepena biohemijske aktivnosti, a dobijeni podaci utiču na celokupno formiranje mozaika svih onih parametara koji karakterišu jednu ispitivanu pojavu termomineralnih voda, ujedno, utičući i na formiranje naučne misli o mikrobiološkom potencijalu podzemnih voda specifičnih fizičko-hemijskih karakteristika, baš kao što su pojave termomineralnih voda.

LITERATURA

- [1] Šaraba V, Krunic O, Lazić M, Biohidrogeologija – naučna disciplina u sklopu metodike hidrogeoloških istraživanja, in Proc. 17 Kongres geologa Srbije, Vrnjačka banja, Srbija, pp. 526-531, 17 – 20 Maj, 2018.
- [2] Krunic O, Subakov Simić G, Popović S, Lazić M, Kljajić Ž, Šaraba V, Hidrogeobiologija fototrofnih mikroorganizama u biofilmovima odabranih pojava termomineralnih voda Srbije, in Proc. XV Srpski Simpozijum o hidrogeologiji sa međunarodnim učešćem, Kopaonik, Srbija, pp.351-356, 14 – 17 Septembar, 2016.
- [3] Konhauser K, *Introduction to geomicrobiology*, Blackwell Publishing, 2009.
- [4] Dalmacija B, Agbaba J, Petrović O. *Voda i biofilm*, Futura, PMF Novi Sad, Petrovaradin, 2007. ISBN 978-86-7031-116-9.
- [5] Obradović V, Petrović O, BART testovi u monitoringu podzemnih voda, *Voda 2006*, Srpsko društvo za zaštitu voda, 2006.
- [6] Cullimore D. R, Ribbon formers, *Gallionella (Group 1) - Microbiology of well biofouling*, CRC Press, Boca Raton, 1999.
- [7] Cullimore D. R, *Practical manual of groundwater microbiology*, 2nd Edition, CRC Press, 2007.
- [8] Cullimore D. R, *Standard Methods for the application of BART testers in environmental investigations of microbiological activities*, DBI, Canada, 2010.
- [9] Filipović B, *Mineralne, termalne i termomineralne vode Srbije*, Univerzitet u Beogradu, Rudarsko-geološki fakultet, Beograd, 2003.
- [10] Filipović B, Krunic O, Lazić M, *Regionalna hidrogeologija Srbije*, Univerzitet u Beogradu, Rudarsko-geološki fakultet, Beograd, 2005.
- [11] Krunic O, *Mineralne vode*, Univerzitet u Beogradu, Rudarsko-geološki fakultet, Beograd, 2012.
- [12] Milovojević M, *Report on results of past hydrogeothermal explorations in Mačva*, Univerzitet u Beogradu, Rudarsko-geološki fakultet, Beograd, 1990.
- [13] Protić D, *Mineralne i termalne vode Srbije*, Geoinstitut, Beograd, 1995.
- [14] Martinović M, Milivojević M, The hydrogeothermal system of Mačva and Semberija, in Proc. 5. *Geothermische Fachtagung*, Straubing, pp. 133–141, 12 – 15 Maj, 1998.
- [15] Martinović M. *Hidrogeotermalni potencijal Mačve*, Master teza u rukopisu, Univerzitet u Beogradu, Rudarsko-geološki fakultet, Beograd, 2008.
- [16] Šaraba V, Popović S, Kljajić Ž, Razvoj fototrofnih mikroorganizama u biofilmu na mestima isticanja karstnih termalnih voda Mačve, *Srpska nauka danas*, Vol. 2, No. 1, pp. 86-103.
- [17] Geološki Informacioni Sistem Srbije. Geološka karta sa rasporedom listova Osnovne Geološke karte, 1 : 100 000 (Map), Geološki Informacioni Sistem Srbije, Beograd, 2012.
- [18] Polomčić D, Hajdin B, Ćuk M, Papić P, Stevanović Z, Groundwater resources for drinking water supply in Serbia 's southeast Pannonian basin, *Carpathian Journal of Earth and Environmental Sciences*, Vol. 9, No. 3, pp. 97-108, 2014.
- [19] Stanković S, et al. *Energetski potencijal značajnih termalnih i termomineralnih voda Jugoslavije*, Komitet za geof., Beograd, 1987.
- [20] Dragišić V, *Hidrogeologija*, Univerzitet u Beogradu, Rudarsko-geološki fakultet, Beograd, 1997.
- [21] Dragišić V, Živanović V, *Opšta hidrogeologija*, Univerzitet u Beogradu, Rudarsko-geološki fakultet, Beograd, 2014.
- [22] Šaraba V, Krunic O, Obradović V, Primena BART biodetektora u metodologiji hidrogeoloških istraživanja mineralnih voda, in Proc. 17. Kongres geologa Srbije, pp. 532-537, 17-20 Maj, 2018.

SUMMARY

MICROBIOLOGICAL DIVERSITY OF THERMOMINERAL WATERS OF VRNJAČKA BANJA AND METKOVIĆ (MAČVA) – SERBIA

*The microbiological and biochemical diversity of thermomineral waters of Vrnjačka Banja – the Jezero Spring (well VBJ-2/85) and Metković in Mačva District (well BMe-1) were analyzed for the first time in 2017. Six biological activity reaction tests (BART): IRB, SRB, HAB, DN, SLYM and FLOR were used simultaneously. The thermomineral waters are captured by the wells at a depth of 302 m and 627 m, respectively, from aquifers featuring different structural geological, petrographic-mineralogic, hydrogeological and other characteristics. The groundwater is stored and the aquifers renewed at pressure levels typical of the petrographic varieties of Paleozoic schists with marble lenses (Vrnjačka Banja) and Eocene sandstones (Metković). The magma activity and accompanying volcanic equivalents indicated elevated temperatures and CO₂ concentrations of the thermomineral waters. Based on previously defined physico-chemical compositions, it was concluded that the studied occurrences are of the HCO₃⁻ - Na⁺ basic ionic type, that they are hypothermal (Vrnjačka Banja - 27.0°C) and hyperthermal (Metković - 59.8°C), neutral (pH 7.0) and with a high mineral content (Vrnjačka Banja - 2009 mg/L; Metković - 1082 mg/L), as well as carbonated in Vrnjačka Banja (CO₂ - 1120.0 mg/L). Due to the specific features and importance of the selected occurrences of thermomineral waters, microbiological analyses were performed as well. Representatives of aerobic iron bacteria and anaerobic bacteria were detected at a low level of biochemical activity. Sulphate-reducing, heterotrophic, slime-forming, respiratory denitrifying and fluorescent *Pseudomonas* species were not detected. Daily observations of BART biodetector signatures and BART-Soft v-6 software indicated that the biocorrosion, biofouling and apparent health risks were low. However, periodic tests of the thermomineral waters for the target physiological group of bacteria and regular checks of sanitary and hygienic adequacy are recommended.*

Key words: thermomineral waters, bacteria, BART biodetectors, Serbia