

Mikrobiološka analiza vode na području grada Jastrebarskog

Lacković, Martina

Undergraduate thesis / Završni rad

2015

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Karlovac University of Applied Sciences / Veleučilište u Karlovcu**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:128:072811>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-23**



VELEUČILIŠTE U KARLOVCU
Karlovac University of Applied Sciences

Repository / Repozitorij:

[Repository of Karlovac University of Applied Sciences - Institutional Repository](#)



zir.nsk.hr



DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJ

VELEUČILIŠTE U KARLOVCU
STRUČNI STUDIJ PREHRAMBENE TEHNOLOGIJE
PRERADA MLIJEKA

Martina Lacković

MIKROBIOLOŠKA ANALIZA VODE
NA PODRUČJU GRADA JASTREBARSKOG

ZAVRŠNI RAD

Karlovac, rujan 2015.

Veleučilište u Karlovcu
Stručni studij prehrambene tehnologije
Prerada mlijeka

Martina Lacković

**MIKROBIOLOŠKA ANALIZA VODE
NA PODRUČJU GRADA JASTREBARSKOG**

ZAVRŠNI RAD

Mentor: dr. sc. Bojan Matijević, prof. v.š.

Broj indeksa autorice: 0314610009

Karlovac, rujan 2015.

Rad je izrađen u laboratoriju tvrtke Jamnica d.d. pod vodstvom mr.sc. Željke Haramija
i dr.sc. Bojana Matijevića, prof.v.š.

Mikrobiološka analiza vode na području grada Jastrebarskog

Sažetak

U radu su prikazani rezultati ispitivanja mikrobiološke kakvoće pitke vode uzorkovane na području grada Jastrebarskog. Analizirano je 30 uzoraka pitke vode. Kao izvorišta takove vode najviše se koriste vodovodne vode, ali u upotrebi su bunari i hidrofori. Uzorci voda analizirani su na osnovnu mikrobioloških parametara: broj kolonija bakterija na 22 i 37°C, ukupni koliformi, *Pseudomonas aeruginosa* i fekalni streptokoki. Procjena mikrobiološke analize vode napravljena je prema Pravilniku o parametrima sukladnosti i metodama analize vode za ljudsku potrošnju (NN 125/13) i Pravilniku o izmjenama Pravilnika o parametrima sukladnosti i metodama analize vode za ljudsku potrošnju (NN 141/13). Ukupan broj bakterija u 1mL uzgajan na 22 i 37°C povećan je u 2 uzorka bunarske vode, 2 uzorka vode iz hidrofora i 2 uzorka vodovodne vode. Ukupne koliformne bakterije pronađene su u 5 uzoraka bunarske vode, 2 uzorka vode iz hidrofora i 4 uzorka vodovodne vode. Bakterija *Pseudomonas aeruginosa* pronađena je u 5 uzoraka bunarske vode, 4 uzorka vode iz hidrofora i 4 uzorka vodovodne vode. U niti jednom ispitivanom uzorku vode nisu pronađeni fekalni streptokoki. Visoki postotak neispravnih voda ukazuje na potrebu za praćenjem mikrobiološke kvalitete vode radi sigurne opskrbe stanovništva pitkom vodom.

Ključne riječi: kakvoća vode, mikrobiološki pokazatelji, pitka voda

Microbiological Analysis of Water in and Around Jastrebarsko City

Abstract

The paper has been presented the results of the microbiological analysis of drinking water that had been sampled in Jastrebarsko city and surrounding area. Total of 30 samples were analyzed. A town waterworks is mostly used as a source of such water, but wells and hydrophore systems are also in use. Microbiological parameters that were analyzed in drinking water samples are: the number of bacterial colonies at 22 and 37 °C, total coliforms, *Pseudomonas aeruginosa* and faecal streptococci. The assessment of microbiological analysis of water was made in accordance to “Regulation on Conformity Parametres and Methods for the analysis of Water for Human Consumption” (Official Gazette 125/13) and Amandements on the Regulation on a conformity parameters and methods for human consumption water analysis” (Official Gazette 141/13). The total number of bacteria in 1mL samples, that where grown at 22 °C and 37 °C, has increased in 2 samples of well water, in 2 samples of water from the hydrophore systems, and 2 samples of water from town waterworks. Total coliforms bacterium were found in 5 samples of well water, 2 samples of water from the hydrophore systems and 4 samples of water from town waterworks. The bacterium *Pseudomonas aeruginosa* was found in 5 samples of well water, in 4 samples of water from the hydrophore systems and 4 samples of water from waterworks. The faecal streptococci were not found in any analyzed water sample. A high percentage of defective water samples indicate the need for monitoring the microbiological quality of water due to a secure supply of population with drinking water.

Keywords: water quality, microbiological parameters, drinking water

SADRŽAJ

| | |
|--|----|
| 1. UVOD | 1 |
| 2. TEORIJSKI DIO | 2 |
| 2.1. Voda namijenjena ljudskoj upotrebi..... | 2 |
| 2.1.1. Količina vode na zemlji..... | 2 |
| 2.1.2. Hidrološki ciklus | 2 |
| 2.1.3. Vodoopskrba | 3 |
| 2.1.4. Vodozahvati..... | 3 |
| 2.1.5. Zahvati oborinskih voda – kišnice..... | 4 |
| 2.1.6. Vodozahvati površinskih voda | 4 |
| 2.1.7. Vodozahvat izvora (kaptaža)..... | 4 |
| 2.1.8. Vodozahvati podzemnih voda | 5 |
| 2.2. Pokazatelji kakvoće vode | 6 |
| 2.2.1. Fizikalni pokazatelji | 6 |
| 2.2.2. Kemijski pokazatelji | 7 |
| 2.2.3. Biološki pokazatelji | 8 |
| 2.3. Kondicioniranje vode | 10 |
| 2.3.1. Mehanički i kemijski postupci kondicioniranja | 10 |
| 2.3.2. Dezinfekcija vode | 12 |
| 2.3.3. Kloriranje vode..... | 12 |
| 3. EKSPERIMENTALNI DIO | 15 |
| 3.1. Materijali | 15 |
| 3.2. Metode rada..... | 15 |
| 3.2.1. Odabir mjesta i način uzorkovanja vode | 15 |
| 3.2.2. Priprema boce za uzorkovanje vode..... | 17 |
| 3.2.3. Membranska filtracija vode..... | 17 |
| 3.2.4. Određivanje koliformnih bakterija u vodi | 19 |
| 3.2.5. Određivanje ukupnog broja bakterija u vodi | 20 |
| 3.2.6. Određivanje bakterija <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 21 |
| 3.2.7. Određivanje fekalnih streptokoka..... | 22 |
| 3.2.8. Određivanje broja poraslih kolonija | 23 |
| 3.2.9. Obrada rezultata | 23 |
| 4. REZULTATI | 24 |
| 4.1. Rezultati mikrobiološke analize vode | 24 |

| | |
|----------------------------|----|
| 5. RASPRAVA | 30 |
| 6. ZAKLJUČCI | 32 |
| 7. LITERATURA | 33 |

1. UVOD

Voda je jedna od osnovnih tvari u prirodi. Osim što služi za održavanje biljnog, životinjskog, pa i ljudskog života na zemlji, ona je jedna od najvažnijih industrijskih sirovina, bilo u tehnološkom procesu, bilo kao pogonsko sredstvo u parnom pogonu.

Voda je otapalo za mnoge tvari, a kemijski čista voda u prirodi ne postoji. I najčišća kišnica sadrži otopljene plinove kao što su: CO_2 , O_2 , N_2 , NH_3 . Osim toga kišnica može sadržavati i nečistoće prisutne u atmosferi nečistoće iz atmosfere SO_2 , H_2S , H_2SO_4 , HCl , čađu i prašinu. Na prostorima uz more kišnica može sadržavati i morsku sol, čiji sadržaj može iznositi i do 15 mg/L. Za vrijeme nevremena i oluja može doći do stvaranja ozona i dušične kiseline, koji se također otapaju u kišnici.

Voda koja prolazi kroz različite slojeve zemlje se djelomično filtrira čime se uklanjaju različite organske tvari i mikroorganizmi. Međutim, istovremeno dolazi do otapanja brojnih mineralnih tvari prisutnih u prirodi, npr. Mg , Ca , Cl^- , CO_3^{2-} , NO_3^- , SO_4^{2-} i dr.

Podzemne vode su najmanje onečišćen izvor vode, ali im sastav može znatno varirati ovisno o sastavu i stanju tla kroz koje protiču, količini otpadnih voda, te mnogim drugim čimbenicima. Voda u prirodi sadrži brojne mikroorganizme. Ukoliko voda dođe u kontakt s fekalnim vodama može sadržavati i patogene bakterije poput *E. coli* te može uzrokovati i crijevna oboljenja (Mayer, 2004).

Opskrba stanovništva vodom u većini slučajeva je iz gradskih vodovoda. Ta voda se uzima iz rijeka ili jezera i obrađuje tako da bude u skladu sa zahtjevima za pitku vodu. Međutim, mnoga kućanstva i danas dobivaju vodu iz bunara ili sakupljanjem kišnice.

Cilj istraživanja je procjeni mikrobiološku kvalitetu vode koja služi za piće na području grada Jastrebarskog, a sve to kao poticaj za kvalitetnu vodoopskrbu.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. Voda namijenjena ljudskoj upotrebi

2.1.1. Količina vode na zemlji

Kad bi netko pogledao Zemlju iz svemira, nedvojbeno bi zaključio da se radi o „vodenom planetu“ i ako bi vjerovao onome što vidi, bio bi u pravu, jer danas je 70,8% Zemljine površine prekriveno vodom. No kako je procijenjeno da se na Zemlji nalazi ukupno $1386 \times 10^6 \text{ km}^3$ vode, što iznosi 1/800 volumena Zemlje bio bi u krivu.

Voda se nalazi u atmosferi, hidrosferi i litosferi. Na zemlji se 96,5% vode nalazi u morima i oceanima, 1,7% u podzemnim vodama, 1,7% u ledenjacima i vječnom ledu, mali postotak u drugim većim vodenim površinama i 0,001 u atmosferi kao vodena para, oblaci i atmosferske padaline. Samo 2,5% vode otpada na slatke vode, a 98,8% slatke vode nalazi se zarobljeno u ledu ili u podzemnim vodama. Manje od 0,3% slatkih voda na Zemlji nalazi se u rijekama, slatkovodnim jezerima i atmosferi, a čak i manji postotak slatkih voda nalazi se sadržan u biološkim oblicima i vještačkim proizvodima (Mayer, 2004; Kaštelan – Macan i Petrović, 2013).

2.1.2. Hidrološki ciklus

Hidrološki ciklus je stalni proces kruženja, obnavljanja i prividnog gubljenja vode na zemlji. Zemlja se smatra zatvorenim hidrološkim sustavom. Hidrološkim se ciklusima bavi hidrologija.

Najjednostavnije tumačenje hidrološkog ciklusa je da djelovanjem sunčeve toplinske energije voda stalno isparava sa površine oceana, mora, ili podzemnih voda, kondenzacija i stvaranje oblaka, oborine, akumulacija vode na tlu ili u vodenim tokovima, jezerima i morima te ponovno isparivanje. Prema tome hidrološki ciklus kruženje je vode kroz atmosferu i na zemljinoj površini. On se događa u Zemljinu sustavu u:

- atmosferi
- hidrosferi (na površini Zemlje)
- litosferi (tvrdi sastav zemlje ispod hidrosfere)



Slika 1. Hidrološki ciklus vode na Zemlji (Mayer, 2004).

Voda prodire u zemlju prosječno 1 km (u kršu i do 3 km), a u atmosferu do 15 km, pa se cijeli proces zbiva u amplitudi od 16 km. Pri takvoj cirkulaciji ukupna količina vode na Zemlji ostaje nepromijenjena.

2.1.3. Vodoopskrba

Pod pojmom vodoopskrbe podrazumijevamo pridobivanje, transport i distribuciju vode koja se rabi za piće, pripremu hrane, higijenske potrebe, industrijsku proizvodnju i komunalne potrebe. U Europi, pa tako i u našim krajevima moderni vodoopskrbni sustavi masovno se razvijaju od druge polovine 18. stoljeća. Tako je Zagreb dobio vodovod 1878., Sušak 1885., a Rijeka 1894. Slijedili su drugi gradovi, a postojeći sustavi su se stalno proširivali i modernizirali. Izgradnja novih i obnova postojećih vodoopskrbnih sustava traje i danas (Mayer, 2004).

2.1.4. Vodozahvati

Suvremeni vodoopskrbni sustavi sastoje se od vodozahvata, cjevovoda za dovod vode, rezervarskog prostora (vodosprema) i cjevovoda za raspodjelu vode. Vodozahvat je temeljni dio svakog vodoopskrbnog sustava, ostali dijelovi manje ili više se razlikuju po tehničkim rješenjima, koja su uglavnom uvjetovana financijskim mogućnostima.

Dakle, vodozahvati su objekti kojima se zahvaća voda za vodoopskrbu. S obzirom na vrstu vode koja se koristi, vodozahvati se dijele na zahvate oborinskih voda, zahvate površinskih voda, zahvate (kaptaze) izvora i zahvate podzemnih voda (Mayer, 2004).

2.1.5. Zahvati oborinskih voda - kišnice

Koriste se tamo gdje nema površinskih ili podzemnih voda. Obično služe za vodoopskrbu jednog ili više kućanstava, a vrlo rijetko se na takvom vodozahvatu temelji vodovodni sustav manjih naselja. Sastoje se od nakapne površine i cisterne. Svrha nakapne površine je da prikuplja kišu koja s nje otječe u cisternu.

Cisterna je građevina koja uskladištava oborinsku vodu što dotječe s nakapne plohe tijekom kiše. Kvalitetne cisterne obično su opremljene filtarskim uređajima. Uz filtarske uređaje za očuvanje kvalitete vode bitno je redovito održavanje cisterni (Mayer, 2004).

2.1.6. Vodozahvati površinskih voda

Oni se grade na potocima, rijekama i prirodnim i umjetnim jezerima. S obzirom na smještaj vodozahvatne građevine, razlikuju se priobalni i obalni zahvati, zahvati u koritu rijeke s pontona, plutajući vodozahvati, potopljeni vodozahvati u koritu rijeke i vodozahvati iz umjetnih jezera-akumulacija.

Uz vodozahvate površinskih voda obično treba izgraditi i uređaje za kondicioniranje vode. Naime, za površinske vode karakteristične su velike razlike u temperaturi, koje tijekom godine mogu iznositi i tridesetak stupnjeva, u površinskim vodama uvijek ima suspendiranih čestica praha ili gline, pa su one, osobito nakon većih kiša, često mutne. Uz to u površinskim vodama žive brojni mikroorganizmi, kao npr. amebe (protozoe) i različite bakterije. Zbog svega toga vodu iz vodozahvata površinske vode treba do određenog stupnja „preraditi“ prije upuštanja u vodoopskrbni sustav.

2.1.7. Vodozahvat izvora (kaptaza)

To je objekt kojim se izvorsku vodu privodi sustavnom korištenju. Obično se sastoji od zahvatne građevine, sabirne komore, komore raspodjele i zasunske komore. Zahvatna građevina najosjetljiviji je dio cijelog objekta jer se njome izvorište objedinjuje u jednu cjelinu koja mora davati potrebnu količinu vode. Sabirna komora je onaj dio vodozahvata u koji se prikuplja sva voda. U komori raspodjele voda se raspodjeljuje na dio koji je potreban za vodoopskrbu i koja se odvodi u vodoopskrbni sustav i višak vode koji se preko

preljeva u vodotok. Zasunska komora je dio vodozahvaza u koji se ugrađuju cijevi, ventili, zasuni, mjerni uređaji koji su nužni za funkcioniranje vodozahvata.

Kako izvorske vode redovito imaju stalniju kavalitetu od površinskih voda, obično se uz vodozahvate izvorske vode grade samo filtarski uređaji za uklanjanje eventualne mutnoće i uređaji za preventivnu dezinfekciju vode (klorinatori, ozonatori ili uređaji s UV zračenjem).

2.1.8. Vodozahvati podzemnih voda

Primjenjuju se za eksploataciju podzemnih voda koje prirodnim putem ne dolaze na površinu terena. To su dakle građevine kojima voda „prodire“ u podzemne vodonosnike koji se nalaze na određenoj dubini ispod površine tla.

Prva skupina su horizontalni vodozahvati koji služe za zahvaćanje plitkih podzemnih voda, a čine ih drenovi i galerije.

Drenovi su iskopani jarci u pješčanom ili šljunkovitom tlu. Kopaju se do nepropusnog sloja tla. Obično su duboki od 2 do 4 metra, a mogu biti dugački i više stotina metara.

Galerije su neka vrsta „rudarskih“ zahvata podzemne vode. Izvode se kao tuneli u raspucani dio stijenske mase saturiran podzemnom vodom.

Druga skupina su vertikalni vodozahvati podzemne vode, a čine ih kopani, zabijeni i bušeni bunari.

Kopani bunari služe za zahvat relativno plitkih podzemnih voda. Obično su duboki do 15 m, no ima i dubljih (Mayer, 2004).



Slika 2. Izgled kopanog zdenca na području Jastrebarskog (izvor: Martina Lacković)

Zbijani bunari služe za eksploataciju malih količina vode iz relativno plitkih pješčanih i šljunčanih vodonosnika. Izvode se zabijanjem zašiljene čelične cijevi promijera 25 do 75 milimetara u piješčano ili šljunkovito tlo, načešće do dubine od 10 metara. Cijev je u donjem dijelu perforirana rupicama promijera 2 do 5 mm.

Bušeni bunari koriste se za eksploataciju vode iz dubokih vodonosnika. Buše se strojno, a imaju obično promijer od 150 do 1500 mm, a mogu biti duboki i više stotina metara.

2.2. Pokazatelji kakvoće vode

Kakvoću vode određuje velik broj pokazatelja koji se mogu svrstati u sljedeće skupine:

- fizikalni pokazatelji
- kemijski pokazatelji
- biološki pokazatelji

2.2.1. Fizikalni pokazatelji

Najčešći fizikalni pokazatelji kakvoće vode su:

- raspršene tvari u vodi
- mutnoća vode
- boja vode
- miris vode
- okus vode
- temperatura vode

Raspršene ili suspendirane tvari u vodi predstavljaju čestice različitog promjera anorganskog i organskog podrijetla. Promjer čestica je veći od 1 mikrometar. Čestice veličine do 10 µm u vodi se ne talože nego lebde, dok se čestice većeg promjera talože. Prirodne vode sadrže anorganske tvari, kao što su pijesak, prah i glina, te živu i mrtvu organsku tvar. Velika količina raspršenih tvari i koloida uzrokuje mutnoću vode, koja može biti neupotrebljiva za vodoopskrbu bez dodatnih pročišćavanja, manje je pogodna za neke sustave navodnjavanja te često u prirodnom stanju nije pogodna za kupanje i rekreaciju. Raspršene tvari određuju se u laboratoriju, a vrijednost se izražava u mg/L.

Mutnoća vode je optičko svojstvo koje ukazuje na stupanj čistoće vode. Raspršene tvar, koloidi, mikroorganizmi i mjehurići plinova tvore mutnoću. Povećana mutnoća smanjuje prodor svjetlosti u stupcu vode, a time se usporava proces fotosinteze podvodnih biljaka, algi i nekih bakterija. Zbog smanjenje fotosinteze podvodnih biljaka, na većim dubinama smanjuje se količina kisika što također negativno utječe na rast i razvoj algi i podvodnih biljaka. Mutnoća vode mjeri se pomoću turbidimetra. Izražava se u jedinici NTU a u vodi za piće dopuštena vrijednost je do 1 NTU.

Boja vode je optičko svojstvo koje ukazuje na stupanj obojenosti. Boja vode može biti prava i prividna. Prava boja nastaje kao posljedica otopljenih tvari u vodi (željeza, mangana, industrijskih boja i razgrađene organske tvari) . Prividna boja nastaje od raspršenih tvari koje se mogu odstraniti filtriranjem. Obojene vode su uglavnom neupotrebljive za vodoopskrbu i neke druge namjene, a smanjena im je i providnost. Može se odrediti vizualno i spektrometrijski.

Miris i okus vode su važna obilježja vode, naročito u opskrbi za piće. Promjena mirisa i okusa može nastati razgradnjom organskih tvari, naročito algi, od industrijskih otpadnih voda, od otopljenih plinova i otopljenih soli. U prirodnim vodama najčešći su mirisi po zemlji i sumporovodiku. Vode s mirisom i okusom neupotrebljive su za piće.

Temperatura vode je stupanj toplinskog stanja vode, odnosno mjera za količinu energije koju voda posjeduje. Temperatura vode je u suodnosu s temperaturom okoliša i mijenja se tijekom godine. Zbog toga je temperatura površinskih voda vrlo promjenjiva , dok temperatura podzemnih voda može oscilirati za nekoliko stupnjeva. Maksimalna temperatura vode u konzumiranju za piće je 25 °C , dok je najbolja oko 15 °C. U navodnjavanju preporučljiva minimalna temperatura vode je 19 °C , a maksimalna 34 °C, dok je za većinu biljaka najpovoljnija oko 25°C (Šimunić, 2013).

2.2.2. Kemijski pokazatelji

Kemijski pokazatelji kakvoće dijele se na anorganske i organske. Najčešći kemijski pokazatelji kakvoće vode su: ukupne soli, reakcija vode, tvrdoća vode, organske tvari, hranjive tvari i metali (kovine) u vodi.

Ukupne soli u vodi predstavljaju ukupnu količinu soli otopljenje u određenom volumenu vode. Prirodne vode sadrže veću ili manju količinu otopljenih soli , a količine soli mogu se odrediti izravnim i neizravnim načinom. Izravni način obuhvaća sušenje uzoraka vode u sušioniku na temperaturi od 105 °C, a nakon ishlapljivanja vode ostatak čine ukupne

sol, koje se izražavaju u mg/l. Neizravan način određivanja ukupne soli je elektrokemijski pomoću konduktometra, a izražava se kao električna vodljivost koja je pokazatelj koncentracije soli u vodi, odnosno slanosti vode.

Reakcija vode (pH-vrijednost) je odnos koncentracije H^+ i OH^- iona u vodi. Dakle, ako u vodi prevladavaju vodikovi ioni, voda ima kiselu reakciju, i obrnuto, ako prevladavaju hidroksilni ioni, voda ima lužnatu reakciju. Ako je odnosa kationa i aniona jednak, voda ima neutralnu reakciju. Količina iona u vodi može se odrediti potencijometrijski pomoću pH metra, a dobivena vrijednost naziva se pH. Reakcija vode važan je pokazatelj o kakvoći vode. Utvrđeno je da je najbolja reakcija vode između pH 6 i 7,5, a u širim granicama između pH 4,5 i 8,5.

Tvrdoća vode određena je sadržajem kalcijevih i magnezijevih soli u vodi. Sadržaj ostalih soli, kao što su željezne i manganove, ima manji utjecaj na tvrdoću vode. Tvrdoću vode uzrokuju koncentracije polivalentnih kationa u otopini, koji u uvjetima zasićenosti reagiraju s anionima tvoreći soli. Može se izraziti na više načina, kao što su mg $CaCO_3$ /l ili stupnjevi. Postoje njemački, francuski i engleski stupnjevi. U nas se najviše koriste njemački stupnjevi.

Organske tvari u vodi predstavljaju ukupne tvari koje se u prirodnim vodama nalaze u otopljenom i raspršenom obliku. Ukupna organska tvar dijeli se na biološki razgradive i nerazgradive tvari, a prema podrijetlu, organska tvar u vodi može biti proizvod biokemijskih procesa u vodi ili proizvod djelovanja čovjeka.

Pod hranjivim tvarima u vodi najčešće se podrazumjevaju otopljeni spojevi dušika i fosfora. Hranjive tvari u vodu mogu dospjeti ispiranjem s poljoprivrednih zemljišta gdje se koriste kao mineralna gnojiva, otpadnim vodama kućanstva i industrije. Povećana koncentracija hranjivih tvari u vodi uzrokuje povećanu proizvodnju primarne organske tvari, odnosno eutofikaciju vode.

Metali (kovine) u vodi su posljedica ispiranja zemljišta i otapanja minerala. Povećane količine metala u vodu mogu dospjeti ispuštanjem otpadnih voda različitih grana industrije, kućanstva i poljoprivrede. Veće koncentracije metala u prirodnim vodama su nepoželjne jer su onečišćivači vodnih sustava i opasni su za žive organizme (Šimunić, 2013).

2.2.3. Biološki pokazatelji

U vodi žive mnogobrojne vrste biljaka, životinja i mikroorganizama koje utječu na biološka svojstva vode. Njihova međusobna povezanost, brojnost i aktivnosti u životnoj

zajednici ovise o životnim uvjetima i kvaliteti njihova staništa. Promjenom abiotičkih čimbenika narušava se prirodna ravnoteža unutar staništa kao dijela ekološkog sustava, što utječe na kakvoću vode. Najčešći biološki pokazatelji kakvoće vode su:

- stupanj saprobnosti
- stupanj biološke proizvodnje
- mikrobiološki pokazatelji
- stupanj (toksičnosti) otrovnosti.

Stupanj saprobnosti je pokazatelj razgradnje organske tvari u vodi koju razgrađuju organizmi saprofazi, najčešće bakterije, gljive i plijesni. Oni se hrane složenim organskim spojevima, razgrađuju ih i pritom u vodu ispuštaju organske tvari. Pri razgradnji organske tvari troši se otopljeni kisik u vodi, čime se mijenjaju procesi u vodi od aerobnog do anaerobnog, a s tim u vezi nastaju i promjene kemijskog sastava vode.

Stupanj biološke proizvodnje nekog vodnog sustava ovisi o raspoloživoj hrani, odnosno trofikaciji. Stupanj trofije je intenzitet primarne proizvodnje u kopnenim vodama. Kao pokazatelji stupnja biološke proizvodnje najčešće se koriste: ukupan fosfor, klorofil, ukupan broj stanica i prozirnost.

Mikrobiološki pokazatelji upućuju na brojnost i aktivnost mikroorganizama u vodi. Budući da je voda vrlo povoljan životni okoliš za mikroorganizme, u njoj stalno egzistiraju dvije skupine mikroorganizama i to: razlagači organske tvari i proizvođači nove organske tvari. Mikroorganizmi u vodu mogu dospjeti iz probavnog sustava životinja i ljudi, ispiranjem tla te s otpadnim vodama. U vodi se mogu naći i fekalni mikroorganizmi, od koji su neki i patogeni. Mnogi od patogenih mikroorganizama preživljavaju dovoljno dugo u vodnim sustavima, tako da mogu biti uzročnici bolesti. Vode u kojima ima patogenih mikroorganizama predstavljaju izravnu i neizravnu opasnost za ljudsko zdravlje.

Stupanj toksičnosti (otrovnosti) podrazumijeva toksičnost neke tvari koja u živom organizmu izaziva bolest, nenormalno ponašanje, kancerogene i genetičke promjene, fiziološke smetnje, fizičke deformacije i smrt. S razvojem kemijske industrije povećava se broj kemijskih spojeva, a neki od tih spojeva, ovisno o njihovoj koncentraciji, opasni su za živi svijet u vodi (Šimunić, 2013).

2.3. Kondicioniranje vode

Ovaj izraz podrazumijeva uklanjanje nepoželjnih stranih tvari iz vode te dodavanje drugih tvari za poboljšanje njene kakvoće. Pojedini postupci čišćenja se tako mogu raščlaniti na sljedeći način: mehanički postupci (obuhvaćaju metode koje služe uklanjanju neotopljenih tvari) kemijski postupci (primjenjuju se za uklanjanje pravih i koloidnih otopina neke tvari) i biološki (mikrobiološko kondicioniranje koje služi za uklanjanje nepoželjnih bioloških onečišćenja) (Valić i sur., 2001).

2.3.1. Mehanički i kemijski postupci kondicioniranja

Pojavljaju se obično u kombiniranom obliku i danas postaje sve važnije, jer se samo na taj način mogu kondicionirati vode koje se teško čiste. Pojedini postupci čišćenja sastoje se u pravilu od više djelomičnih postupaka ili faza. Standardni postupci kondicioniranja usmjerni su uklanjanju mutnoće i mikroorganizama sadržanih u sirovoj vodi. To se postiže: taloženjem, filtracijom i dezinfekcijom.

Taloženje je mehaničko izdvajanje suspendiranih tvari organskog i anorganskog podrijetla. Taloženje nastaje ako voda miruje ili se polagano kreće. Objekti u kojima se vrši taloženje nazivaju se taložnice. Učinak taloženja se može ubrzati dodatkom kemijskih sredstava za koagulaciju, kao što su $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$, FeSO_4 , $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, FeCl_3 , koji otopljeni u vodi reagiraju na taj način da stvaraju pahuljice ili flokule koje se brže talože. Te pahuljice imaju veliku sposobnost adsorpcije tako da sa sobom povlače i uklanjanju fine suspenzije, koloidalna onečišćenja i mikroorganizme. Dodatkom koagulansa smanjuje se vrijeme taloženja i dimenzije taložnice.

Postupak filtracije: nakon što se u taložnici oslobodila jednog dijela suspenzija, voda se propušta kroz filtere od pijeska radi uklanjanja preostalog dijela suspendiranih tvari i jednoga dijela mikroorganizama. Prema brzini kretanja vode kroz filtere i učinku kondicioniranja razlikujemo brze i spore filtere.

Sporim filterima predhodi mehaničko taloženje bez dodavanja koagulansa. Oni imaju uz mehaničko i kemijsko, vrlo jako biološko djelovanje, tako da mogu ukloniti najveći dio mikroorganizama sadržanih u vodi. Suspenzije i mikroorganizmi koji se zadržavaju u filtru, postupno ispunjavaju slobodne pore filtra pa taj sloj treba povremeno uklanjati. Zbog male brzine filtracije spori filteri su prikladni samo za vodovode manjih naselja.

Brzi filteri se u novije vrijeme sve više upotrebljavaju čija je brzina filtracije oko 25 puta veća. Djelovanje ovog filtra je uglavnom mehaničko. S obzirom na smanjen učinak

filtriranja, brzim filtrima obično prethodi kemijsko taloženje. Navedenim postupcima čišćenja dobiva se potpuno bistra voda. (Valić i sur., 2001).

Tablica 1. Postupci dezinfekcije vode (Valić i sur., 2001).

| Postupak | Prednost | Nedostaci | Primjena |
|-----------------------|---|--|---|
| Klor | čist preparat, razvija u vodi SRK | mogućnost stvaranja klororganskih spojeva | vodovodi, bazeni za plivanje |
| Ca-hipoklorit | povoljan je za transport jer je krutog stanja, daje SRK | klororganski spojevi, ne otapa se kvantitativno | mali vodoopskrbni objekti, bazeni, rjeđe vodovodi |
| Na-hipoklorit | otopina, nema netopivog balasta, daje SRK | klororganski spojevi, stajanjem gubi aktivnu komponentu | mali vodoopskrbni objekti, bazeni, rjeđe vodovodi |
| Kloramini | nastaje manje klororganski spojeva nego kod klora. Iz vode se gube sporije od ostalih klornih preparata | vezani rezidualni klor | bazeni za plivanje, ručna dezinfekcija |
| Na-diklorizocijanurat | praškast ili u tabletama, daje SRK, nema balasta, praktičan za doziranje | razmjerno skup, potreban dodatak izocijanurne kiseline da se smanji razgradnja SRK u otvorenim bazenima | bazeni, zdenci, cisterne |
| klor dioksid | ne stvara klororganske spojeve | nabava uređaja za sintezu ClO ₂ , nusprodukt: kloriti mogu izazivati metemoglobinemiju | vodovodi i bazeni za plivanje |
| Bromiranje | | stvaranje bromorganskih spojeva | bazeni za plivanje |
| Jodiranje | dobra dezinfekcija i u jako onečišćenoj vodi, ne nastaju jodorganski spojevi | miris, boja, preosjetljivost na jod, skupo | ručna dezinfekcija, bazeni za plivanje |
| UV-zrake | ne stvara organoleptičke smetnje | ovisnost o električnoj energiji; UV-zrake ne prodiru duboko pa vodu treba dovoditi uređaj u tankom sloju; smeta mutnoća i željezo u vodi | manji vodovod, npr. na brodovima |
| gama zrake | ne stvara organoleptičke smetnje | cijena | vodovodi |
| Ultrazvuk | ne stvara organoleptičke smetnje | cijena | vodovodi |
| Ozonizacija | virucid i baktericid, popravlja okus i miris vode, uklanja boju vode, oksidira mnoge organske spojeve | nema rezidualnog djelovanja, mogućnost nastajanja toksičnih raspadnih produkata oksidacije | vodovodi, bazeni za plivanje |

2.3.2. Dezinfekcija vode

Svrha dezinfekcije vode je eliminacija mikroorganizama iz vode. Postupci za dezinfekciju vode prikazani su tablicom 1.

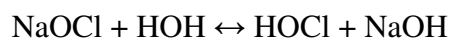
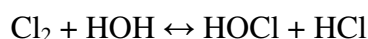
UV, gama-zrake i ultrazvuk se rijetko primjenjuju jer su uređaji za njihovu upotrebu skupi. Ozonizacija je najbolji postupak dezinfekcije. Uređaji za dobivanje ozona moraju se postaviti na mjestu gdje treba vodu dezinficirati, pa u obzir dolaze samo za veće vodovode ili za bazene za plivanje cirkulacijom vode i ne primjenjuju se za individualne objekte.

Bromiranje vode se provodi samo za dezinfekciju vode u bazenima za plivanje. Jodiranje vode se vrši uglavnom u izvanrednim prilikama za dezinfekciju malih količina vode za piće. U pojedinačne svrhe može se primijeniti tinktura joda (oko 8 kapi/L vode) ili tablete. Također se može jodirati i voda u bazenima za plivanje. Velika je prednost jodnih preparata što ne reagiraju s organskom tvari u vodi. Zbog toga je doziranje jednostavnije nego li s klornim preparatima, jer nema gubitka za oksidaciju i ne nastaju jodoorganski spojevi.

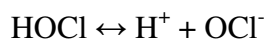
2.3.3. Kloriranje vode

Mehanizam kloriranja vode

Klor i hipokloriti otapaju se u vodi i nastaje hipoklorasta kiselina:



Najjače baktericidno i virucidno djelovanje imaju nedisocirana hipoklorasta kiselina, a znato slabije hipoklorit ion:



Disocijacija hipokloraste kiseline najmanja je uz pH 5 i tu je dezinfekcijsko djelovanje najjače. Povećanjem pH vode raste disocijacija hipokloraste kiseline i smanjuje se dezinfekcijsko djelovanje preparata do pH , gdje je praktično sva HOCl u obliku OCl⁻. Moć dezinfekcije pada i sniženjem temperature vode. Prema tome, baktericidni i virucidni učinak klornog preparata ovisit će o pH i o temperaturi vode.

Sav klor u obliku HOCl i OCl⁻ naziva se slobodnim rezidualnim klorom (SRK). Međutim, navedena kemijska reakcija nastaje samo u tzv. čistoj vodi. U vodi kojoj ima

otopljene i suspendirane organske tvari te amonija, nitrata, željeza, mangana i sl., hipokloriti reagiraju s tim tvarima procesima oksidacije, supstitucije i adicije te nastaje fenomen tzv. lomne točke.

I. faza - faza oksidacije u kojoj je dio hipoklorita reagirao s lako oksidabilnom tvari u vodi. Taj dio hipoklorita koji se na taj način reducirao i tako izgubio za dezinfekciju naziva se **klornom potrebom vode**.

II. faza - faza u kojoj se uz dodatak većih koncentracija hipoklorita pojavljuje vezani rezidualni klor (VRK) koji nastaje kemijskim procesima adicije i suspstitucije između hipoklorita i amonija i organskih tvari u vodi.

III. faza - faza u kojoj uz još veće koncentracije hipoklorita dolazi do oksidacije spojeva iz faze II i zbog toga do novog gubitka klornog preparata.

Lomna točka predstavlja koncentraciju rezidualnog klora (RK), gdje je završena oksidacija spojeva iz faza I., II. i III. i gdje se javlja SRK. SRK i VRK zajedno čine ukupni RK.

SRK i VRK razlikuju se po dezinfekcijskom djelovanju. SRK djeluje na bakterije i viruse u vodi brzo i u malim koncentracijama, a VRK slabo i sporo i uz povećane koncentracije. Razlike postoje i u otpornosti mikroorganizama prema RK. Najmanje otporna na SRK je *Escherichia coli*, zatim patogene enterobakterije, pa virusi i konačno *Entamoeba histolytica* i *Bacillus anthraci*, koje su najotpornije na SRK (Valić i sur., 2001).

Postupci dezinfekcije klorom

Postoje dva načina kloriranja vode za piće:

1. dezinfekcija SRK-om- dovoljna je mala koncentracija rezidualnog klora i kratko vrijeme kontakta prije potrošnje. SRK u vodi se može postići primjenom elementarnog klora, natrijeva i kalcijeva hipoklorita te izocijanurata. Uz ova četiri preparata u onečišćenoj vodi može nastati i VRK kojega se i u takvim prilikama pažljivim kloriranjem može smanjiti na minimum.
2. dezinfekcija VRK-om- dugotrajni kontakt i velika koncentracija. Dezinfekcija vode uz postojanje VRK u vodi nije dobra alternativa, jer uz potrebne visoke koncentracije nastaju organoleptičke smetnje, jer je djelovanje na viruse slabo ili nikakvo i jer su iz skupine klororganskih spojeva, koji nastaju u onečišćenoj vodi, izolirane tvari koje se smatraju potencijalno karcinogenima.

Preparati klora

1. ELEMENTARNI KLOR nabavlja se komprimiran u čeličnim bocama. Dotok klora u vodu i koncentracija rezidualnog klora regulira se s pomoću plinskog klorinatora.
2. KLORNO VAPNO upotrebljava se za ručnu dezinfekciju. Za dezinfekciju vodovodne vode pripremi se obično 1%-tna otopina i dodaje u vodu kontinuirano s pomoću otopinskog klorinatora.
3. NATRIJEV HIPOKLORIT- dolazi u trgovine kao 3-4%-tna otopina pod imenom Varikina i kao 10-15%-tna otopina pod imenom otopina natrijeva hipoklorita.
4. IZOCIJANURATI su natrijeve soli izocijanurne kiseline (Izosan) koji otapanjem u vodi daju hipoklorastu i izocijanurnu kiselinu. Zbog prisutne izocijanurne kiseline stabilniji su u vodenoj otopini od ostalih klorinih preparata i znatno se sporije gube iz vode.
5. KLOROV DIOKSID je klorini preparat koji se proizvodi na crpilištu vode i dolazi u obzir samo za dezinfekciju vodovodne vode. U onečišćenju vodi ne razvija klororganske spojeve što mu je prednost.

Primjena dezinfekcije vode u praksi

Voda svih javnih objekata treba biti stalno dezinficirana. Međutim, postoje okolnosti kad na određenom terenu treba dezinficirati vodu svih a ne samo javnih objekata. To je naprimjer slučaj kod izbijanja epidemija, poplava i potresa te privremeni boravci skupine ljudi na nekom terenu.

Kontrola rezidualnog klora u vodi

U vodu koju se klorira treba kontrolirati koncentraciju slobodnog i koncentraciju vezanog rezidualnog klora. Za njihovo dokazivanje postoje tri testa: amperometrijska titracija, kolorimetrijsko i titrimetrijsko dokazivanje dietil para fenilen diaminom (DPD), te kolorimetrijsko dokazivanje siringaldazinom. Svim tim metodama mogu se posebno kvantitativno odrediti SRK i VRK.

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Materijali

Za istraživanje korišteni su sljedeći materijali:

- Endo agar (Biokar diagnostics, Francuska)
- Kvasni ekstrakt agar (Biokar diagnostics, Francuska)
- *Pseudomons* selectiv agar (Biokar diagnostics, Francuska)
- Azid hranjiva podloga (Sartorius, Njemačka)
- Azid maltoza agar (Biolife, Italija)

3.2. Metode rada

3.2.1. Odabir mjesta i način uzorkovanja vode

Na području grada Jastrebarskog odabrano je 15 mjesta uzorkovanja. Uzorci vode uzeti su iz bunara, hidrofora i vodopskrbne mreže. Plan uzorkovanja prikazan je tablicama 2, 3 i 4. Voda za mikrobiološku analizu uzeta je aseptično u sterilnu bocu. Boca nije ispunjena u potpunosti, već je ostavljen prostor ispunjen zrakom što omogućava mješanje uzorka prije analize i sprečava naknadnu kontaminaciju. Izuzeti uzorak je označen i na boci su upisani slijedeći podatci: naziv vodnog objekta, mjesto, datum, sat uzorkovanja (HRN ISO 5667-3, 1999).

Tablica 2. Mjesto uzorkovanja i oznaka uzorka bunarske vode na području Jastrebarskog.

| Oznaka uzorka | Mjesto uzorkovanja |
|---------------|--|
| B1 | Balaban Stjepan, Josipa Torbara 32, Jastrebarsko |
| B2 | Andrijević Mato, Domagović 69, Jastrebarsko |
| B3 | Žužak Marija, Petrovina 20, Jastrebarsko |
| B4 | Matešić Mato, Hrašće 3, Jastrebarsko |
| B5 | Jurković Ivana, Volavje 8, Jastrebarsko |

Tablica 3. Mjesto uzorkovanja i oznaka uzorka vode iz hidrofora na području Jastrebarskog.

| Oznaka uzorka | Mjesto uzorkovanja |
|----------------------|--------------------------------|
| H1 | Ciban Zdenko, Vlatka Mačeka 21 |
| H2 | Popović Zlatko, Domagović 111 |
| H3 | Spretnjak Nikola, Petrovina 38 |
| H4 | Samarin Zvonko, Hrašće 33 |
| H5 | Kovačić Josip, Volavje 15 |

Tablica 4. Mjesto uzorkovanja i oznaka uzorka vode iz vodoopskrbne mreže na području Jastrebarskog.

| Oznaka uzorka | Mjesto uzorkovanja |
|----------------------|---|
| V1 | Bartaković Krunoslav, Trg Ljube Babića 18, Jastrebarsko |
| V2 | Fabijanić Vlasta, Domagović 110A, Jastrebarsko |
| V3 | Štetner Barica, Petrovina 15, Jastrebarsko |
| V4 | Katovčić Franjo, Hrašće 20, Jastrebarsko |
| V5 | Ban Josip, Volavje 40, Jastrebarsko |

3.2.2. Priprema boce za uzorkovanje vode

Boca za uzorkovanje vode treba sačuvati sastav uzorka od gubitaka, onečišćenja stranim tvarima i naknadne kontaminacije mikroorganizmima. Osim toga, boca treba biti otporna na visoke temperature radi sterilizacije.

Uzorkovanje vode provodi se u staklene boce zapremine od 300 mL. Boca ima odgovarajući čep od brušenog stakla ili zatvarač s navojem. Sterilizacija boca provodi se u autoklavu na 121°C/20 min.

3.2.3. Membranska filtracija vode

Metoda membranske filtracije je najpovoljnija metoda za mikrobiološku analizu voda, jer je praktična, jednostavna i ekonomična, ponovljiva, omogućava kvantitativno određivanje mikroorganizama. Temelji se na koncentraciji mikroorganizama iz većeg uzorka na površini membranskog filtera, te nacjepljivanje ovih mikroorganizama na hranjivu podlogu. Podloge za određivanje različitih mikroorganizama pri mikrobiološkoj analizi voda obuhvaćaju podloge za: ukupan broj mikroorganizama, ukupne koliforme, fekalne koliforme, fekalne streptokoke. Na držač filtera (poroznu ploču metalnog filtarskog lijevka) se stavi membranski filter sa odgovarajućim promjerom pora, i uzorak se profiltrira. Mikroorganizmi iz uzorka zaostaju na membranskom filteru. Tada se membranski filter skine sa držača, stavi na hranjivu podlogu i inkubira. Hranjive tvari i metaboliti se izmjenjuju kroz sustav pora membranskog filtera. Kolonije, koje se razvijaju na površini membranskog filtera tijekom inkubacije, se broje i preračunavaju s obzirom na volumen uzorka. Metoda membranske filtracije je visoko reproducibilna, može se koristiti za ispitivanje relativno velikih volumena uzorka. Optimalnim rezultatom smatra se rast od 20 do 60 bakterija na filteru. Ukoliko je broj izraslih bakterija veći uzorak je potrebno razrijediti i postupak ponoviti.

Postupak:

Pripremi se vakuum pumpa i sterilizira porozna matalna ploča i lijevak membranskog filtra (obradi se 96%-tnim etanolom i spali). Na rešetkastu ploču postavi se pincetom sterilna membrana i potom filter zatvori s lijevkom. Poznata količina uzorka vode propusti se preko sterilnog bakteriološkog membranskog filtra. Bakterije iz uzorka se na taj način skupljaju na membrani filtra, koja se aseptično prenese sterilnom pincetom iz filtarskog lijevka na diferencijalnu hranjivu podlogu za uzgoj bakterija i inkubira pri odgovarajućoj temperaturi tijekom 24 h.



Slika 3. Sterilizacija metalnih dijelova membranskog filtra (Sartorius, 2015).



Slika 4. Postavljanje membrane na poroznu rešetku membranskog filtra (Sartorius, 2015).



Slika 5. Aseptično prenošenje uzorka vode na membranski filter (Sartorius, 2015).



Slika 6. Nacjepljivanje membranskog filtra na petrijevu zdjelicu (Sartorius, 2015).

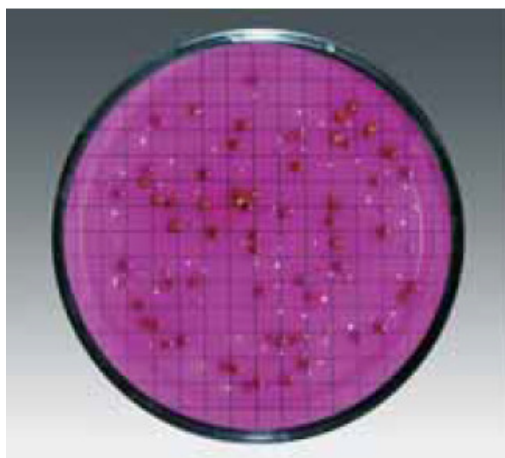
3.2.4. Određivanje koliformnih bakterija u vodi

Koliformne bakterije su primarno nepatogene i normalno obitavaju u donjem intestinalnom traktu (debelom crijevu) čovjeka i toplokrvnih životinja, gdje su odgovorne za pravilnu probavu hrane. Koliformne bakterije se izlučuju fekalijama, te dopijevaju u otpadne vode, a preko njih u prirodne vode - recipijente otpadnih voda. Ukoliko su u fekalijama prisutne i patogene bakterije, one će također dospjeti zajedno s koliformnim bakterijama u otpadne i/ili prirodne vode. Mnoge patogene bakterije prisutne su u okolišu u niskim koncentracijama, te je njihova detekcija otežana. Stoga se koriste tzv. indikatorske bakterije

za detekciju vjerojatne prisutnosti patogenih bakterija. Indikatorske bakterije su primarno nepatogene i prirodno se izlučuju u velikom broju iz ljudskog i životinjskog intestinalnog trakta. Koliformne bakterije su najpodobnija skupina indikatorskih bakterija za ocjenu higijenske kvalitete vode. One su gram-negativne, štapićaste, nesporogene, aerobne ili fakultativno anaerobne, koje imaju sposobnost cijepanja laktoze.

Postupak:

Uzorak vode se prethodno obradi preko membranskog filtra. On služi za brojanje koliformnih bakterija u vodi, a podijeljen je tankim crtama u kvadrate površine 1 cm². Kroz filter se propusti 100 mL ili više ispitivane vode. Filter se oprezno izvadi iz aparata i prostre na površinu Endo agara u Petrijevoj zdjelici. Nakon toga uzorak se inkubira 48 sati na 37°C. Kolonije prisutnih koliforma porastu na filteru za 24-48 sati. Porasle kolonije se broje na uobičajen način pomoću ručne lupe poslije inkubacije. Kolonije za koje se sumnja da su fekalni koliformi naciepljuju se na Endo agar i inkubiraju na 44°C/ 24h (HRN EN ISO 9308-1, 2001).



Slika 7. Porasle kolonije *E. coli* i koliformnih bakterija na endo agaru (Sartorius, 2015).

3.2.5. Određivanje ukupnog broja bakterija u vodi

Utvrđivanje broja svih živih bakterija u 1 mL. vode za piće, smatra se osnovnom analizom za ocjenjivanje higijenske ispravnosti vode. Međutim, danas se smatra da ovo utvrđivanje ima svoju pravu vrijednost samo ako se češće ponavlja u kratkim vremenskim razmacima u redovnoj kontroli. Ovo brojanje može imati izvjestan higijenski značaj naročito prije i poslije okolnosti koje mogu da ugroze vodonosni sloj (izvorište), npr. prije i poslije

naglih meteoroloških promjena (suša ili padavina), prije i poslije terenskih poremećaja i sl. Ova analiza je dragocjena u ocjenjivanju stupnja propustljivosti raznih geoloških slojeva koji pokrivaju (zaštićuju) izvorište. Značaj brojanja svih živih bakterija u vodi je znatno veći u ocjeni kakvoće efikasnosti tehnološkog procesa prečišćavanja voda (filtracija, kloriranje, ozonizacija i dr.).

Postupak:

Uzorak vode se prethodno obradi preko membranskog filtra. U lijevak za membransku filtraciju ulije se 50 mL sterilne fiziološke otopine i doda 1 mL uzorka vode te ponovno 50 mL sterilne fiziološke otopine. Nakon završene filtracije filter se aseptično prenese na Petrijevu zdjelicu s kvasnim agarom. Petrijeve zdjelice s podlogom se inkubiraju na 37°C/48 sata. Ako se želi odrediti točan odnos između mezofilnih i psihrofilnih bakterija u cilju prosuđivanja stupnja bakterijske kontaminacije vode provodi se usporedno inkubacija pri 37°C/24 sata i 20-22°C/48 sati, duplo inokulirana podloga Petrijevkama sa jednakim količinama ispitivane vode. Ako je ovaj odnos veći od 3:10 to je voda zagađenija (HRN EN ISO 6222, 2005).

3.2.6. Određivanje bakterija *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa je jedan od najvažnijih uzročnika koji se prenose pitkom vodom - osobito kod infekcija u bolnici. Njezina optimalna temperatura razmnožavanja je između 25 i 30 °C. U uzorku vode od 100 mL ne smije biti uzročnika. Ova bakterija kod ljudi može prouzročiti teške upala organa, čak i sa smrtnim posljedicama. Takve infekcije instalacija pitke vode imale su za posljedicu isključenje iz uporabe te detaljnu sanaciju.

Postupak:

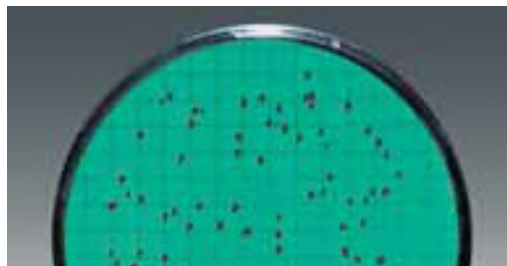
Uzorak vode se prethodno obradi preko membranskog filtra. Kroz filter se propusti 100 mL ili više ispitivane vode. Filter se oprezno izvadi iz aparata i prostre na površinu *Pseudomonas aeruginosa* agara u Petrijevoj zdjelici. Nakon toga uzorak se inkubira 48 sati na 37°C. Tipične kolonije *Pseudomonas aeruginosa* u podlozi s cetrimidom izlučuju plavi do plavo-zeleni pigment. Netipične kolonije porasle na selektivnoj podlozi sa cetrimidom, koje su daju pozitivnu reakciju s citokrom oksidazom. Tipična pozitivna reakcija je pojava tamnoplavog do tamnoljubičastog obojenja unutar 20-60 sekundi, fluoresciraju pod UV svjetlom valne duljine od 360 ± 20 nm (HRN EN ISO 16266, 2008).

3.2.7. Određivanje fekalnih streptokoka

Fekalni streptokoki i koliformne bakterije pripadaju skupini bakterija koje se koriste kao pokazatelj mogućeg onečišćenja vode. Ove bakterije se obično nalaze u probavnom sustavu ljudi i životinja. Iako nisu štetne na ljudsko zdravlje, one pokazuju na moguću prisutnost patogenih bakterija, virusa i protozoa koji također žive u ljudskom i životinjskom probavnom sustavu. Njihova prisutnost u vodi ukazuje na postojanje rizika prisutnosti patogenih mikroorganizama, odnosno rizika za zdravlje ljudi. Testiranje vode na veliki broj patogena bilo bi teško, dugotrajno i skupo, te se obično provodi testiranje na koliformne bakterije i fekalne streptokoke. Osim mogućeg rizika na zdravlje prisutnost i povećan broj fekalnih bakterija može uzrokovati mutnoću vode, neugodne mirise i povećanu potražnju kisika. Fekalni streptokoki se obično promatraju zajedno s fekalnim koliformnim bakterijama i izračunava se njihov omjer. Ovaj odnos se koristi za utvrđivanje izvora onečišćenja.

Postupak:

Uzorak vode se prethodno obradi preko membranskog filtra. Kroz filter se propusti 100 mL ili više ispitivane vode. Filter se oprezno izvadi iz aparata i prostre na površinu azid hranjivom agaru u Petrijevoj zdjelici. Nakon toga uzorak se inkubira 48 sati na 37°C. Sumnjive kolonije fekalnih streptokoka na azid hranjivom agaru su roza do crvene boje (HR EN ISO 7899-2, 1998).



Slika 8. Izgled bakterije *Enterococcus fecalis* na azid agaru (Sartorius, 2015)

3.2.8. Određivanje broja poraslih kolonija

Na osnovu broja poraslih kolonija odredi se CFU vrijednost prema formuli:

$$CFU = \sum 0 \frac{\sum 0}{(n_1 + 0,1 \times n_2) \times d}$$

$\Sigma 0$ - broj svih bakterija na odabranim inokuliranim Petrijevim zdjelicama

n_1 – broj Petrijevih zdjelica prvog decimalnog razrjeđenja, odabranih za određivanje broja (N);

n_2 - broj Petrijevih zdjelica drugog decimalnog razrjeđenja, odabranih za određivanje broja (N)

d – faktor razrjeđenja

3.2.9. Obrada rezultata

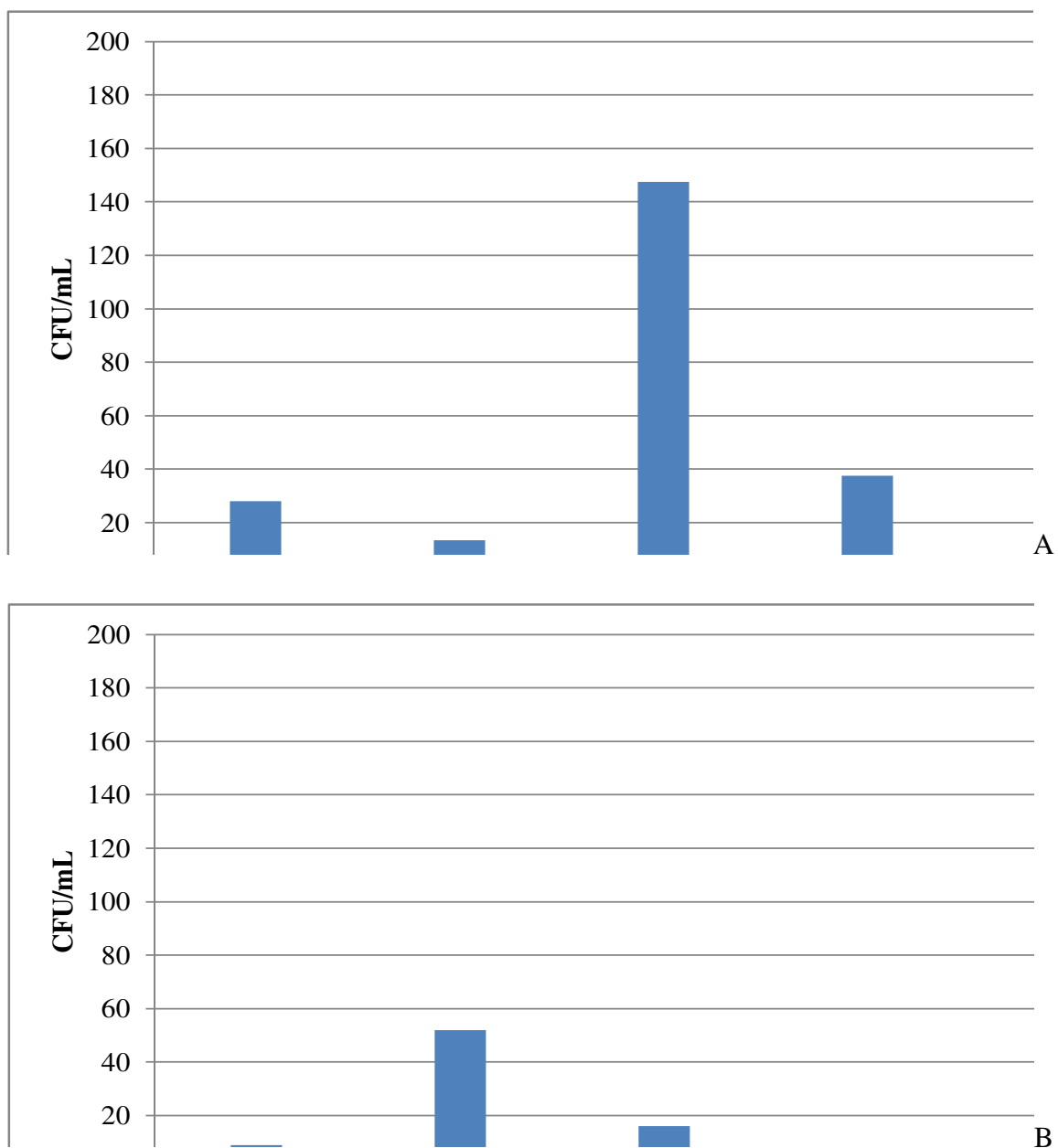
Svi su rezultati statistički obrađeni u programu Microsoft Office Excel 2007. i prikazani kao srednja vrijednost.

4. REZULTATI

4.1. Rezultati mikrobiološke analize vode

Tablica 5. Rezultati mikrobiološke analize bunarske vode s područja Jastrebarskog.

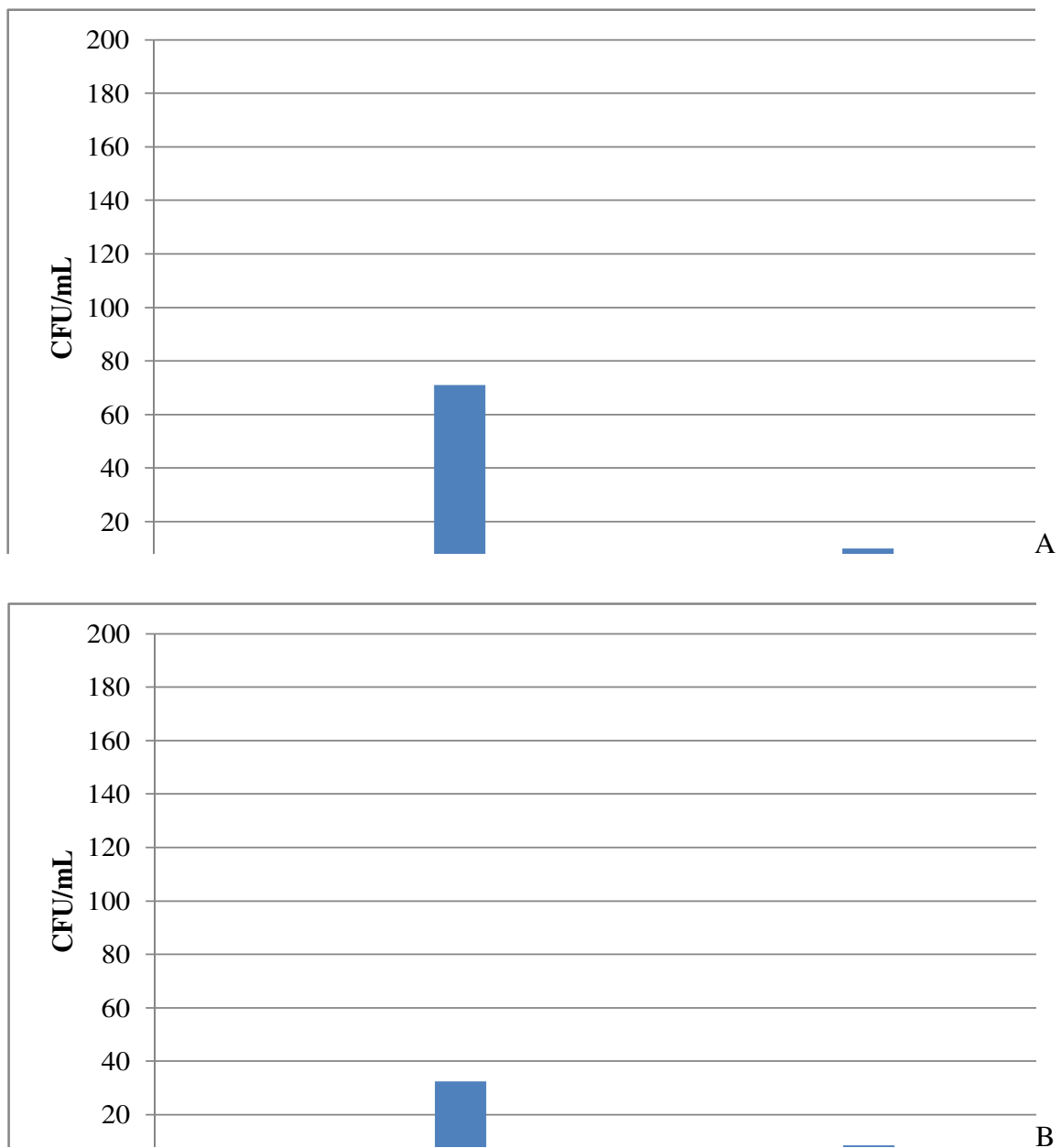
| | | Oznaka uzorka | | | | |
|-------------------------------|----------------------|---------------|--------------|---------------|-------------|--------------|
| | | B1 | B2 | B3 | B4 | B5 |
| Ukupan broj bakterija (20°C) | Min | 26,0 | 12,0 | 140,0 | 33,0 | 23,0 |
| | Max | 30,0 | 15,0 | 155,0 | 42,0 | 54,0 |
| | $\bar{X} \pm \sigma$ | 28,0±2,8284 | 13,5±2,1213 | 147,5±10,6066 | 37,5±6,3640 | 38,5±21,9203 |
| Ukupan broj bakterija (37°C) | Min | 8,0 | 44,0 | 12,0 | 3,0 | 0,0 |
| | Max | 10,0 | 60,0 | 20,0 | 5,0 | 0,0 |
| | $\bar{X} \pm \sigma$ | 9,0±1,4142 | 52,0±11,3137 | 16,0±5,6569 | 4,0±1,4142 | 0,0±0,0000 |
| Koliformne bakterije | Min | 0,0 | 15,0 | 65,0 | 0,0 | 0,0 |
| | Max | 0,0 | 25,0 | 80,0 | 0,0 | 5,0 |
| | $\bar{X} \pm \sigma$ | 0,0±0,0000 | 20,0±7,0711 | 72,5±10,6066 | 0,0±0,0000 | 2,5±3,5355 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | Min | 0,0 | 1,0 | 0,0 | 0,0 | 1,0 |
| | Max | 0,0 | 1,0 | 1,0 | 0,0 | 1,0 |
| | $\bar{X} \pm \sigma$ | 0,0±0,0000 | 1,0±0,0000 | 0,5±0,7071 | 0,0±0,0000 | 1,0±0,0000 |
| Fekalni streptokoki | Min | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 |
| | Max | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 |
| | $\bar{X} \pm \sigma$ | 0,0±0,0000 | 0,0±0,0000 | 0,0±0,0000 | 0,0±0,0000 | 0,0±0,0000 |



Slika 9. Prosječan broj mikroorganizama na 20 (A) i 37°C (B) u bunarskoj vodi s područja Jastrebarskog.

Tablica 6. Rezultati mikrobiološke analize vode iz hidrofora s područja Jastrebarskog.

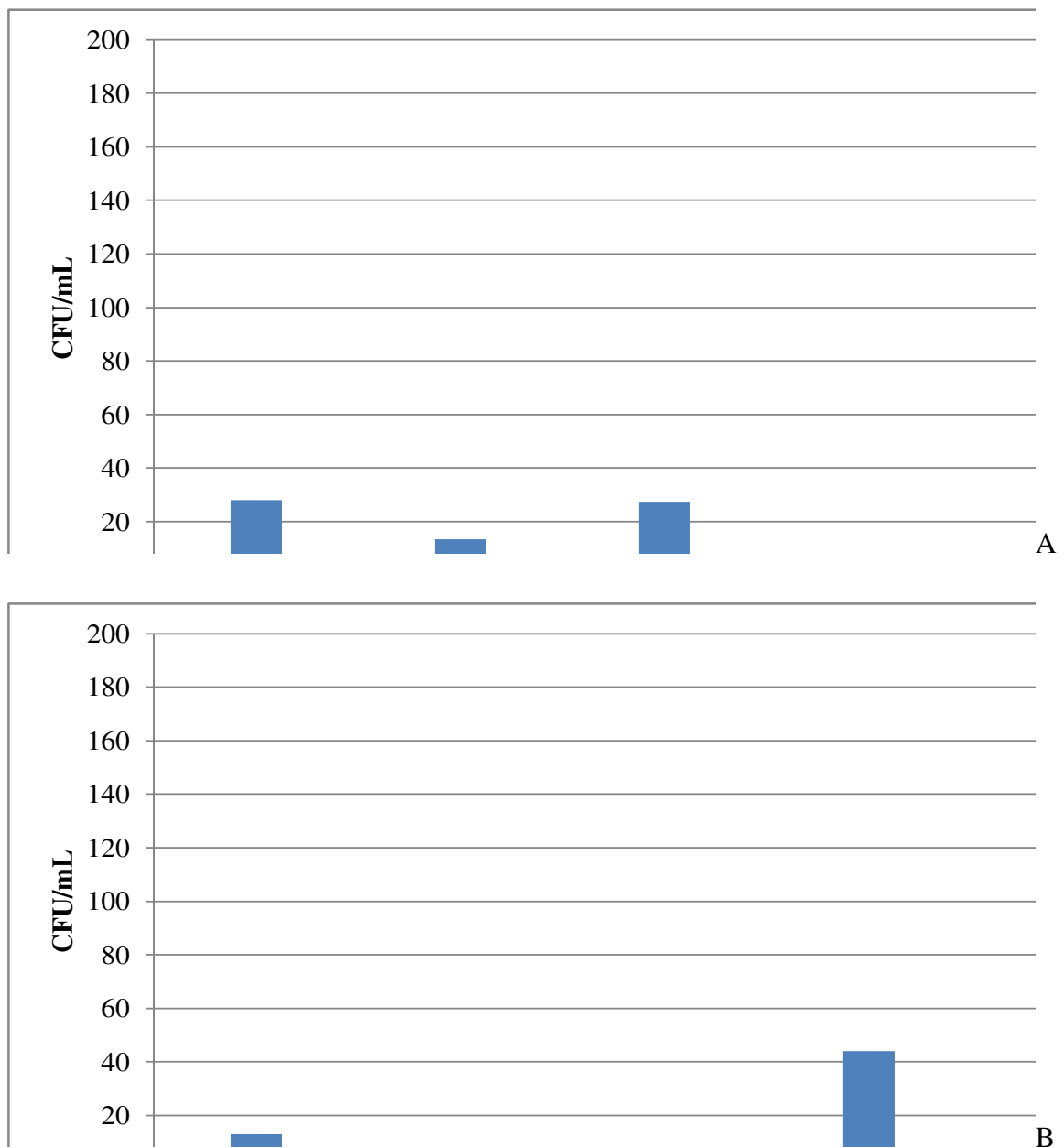
| | | Oznaka uzorka | | | | |
|-------------------------------|----------------------|---------------|--------------|--------------|--------------|-------------|
| | | H1 | H2 | H3 | H4 | H5 |
| Ukupan broj bakterija (20°C) | Min | 0,0 | 22,0 | 0,0 | 2,0 | 30,0 |
| | Max | 0,0 | 120,0 | 0,0 | 18,0 | 38,0 |
| | $\bar{X} \pm \sigma$ | 0,00±0,0000 | 71,0±69,2965 | 0,0±0,0000 | 10,0±11,3137 | 34,0±5,6569 |
| Ukupan broj bakterija (37°C) | Min | 2,00 | 25,0 | 0,0 | 4,0 | 0,0 |
| | Max | 4,00 | 40,0 | 0,0 | 13,0 | 0,0 |
| | $\bar{X} \pm \sigma$ | 3,0±1,4142 | 32,5±10,6066 | 0,0±0,0000 | 8,5±6,3640 | 0,0±0,0000 |
| Koliformne bakterije | Min | 0,0 | 10,0 | 12,0 | 0,0 | 0,0 |
| | Max | 0,0 | 15,0 | 32,0 | 0,0 | 0,0 |
| | $\bar{X} \pm \sigma$ | 0,0±0,0000 | 12,5±3,5355 | 22,0±14,1421 | 0,0±0,0000 | 0,0±0,0000 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | Min | 0,0 | 1,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 |
| | Max | 0,0 | 1,0 | 1,0 | 0,0 | 1,0 |
| | $\bar{X} \pm \sigma$ | 0,0±0,0000 | 1,0±0,0000 | 0,5±0,7071 | 0,0±0,0000 | 0,5±0,7071 |
| Fekalni streptokoki | Min | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 |
| | Max | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 |
| | $\bar{X} \pm \sigma$ | 0,0±0,0000 | 0,0±0,0000 | 0,0±0,0000 | 0,0±0,0000 | 0,0±0,0000 |



Slika 10. Prosječan broj mikroorganizama na 20 (A) i 37°C (B) u vodi iz hidrofora s područja Jastrebarskog.

Tablica 7. Rezultati mikrobiološke analize vodovodne vode s područja Jastrebarskog.

| | | Oznaka uzorka | | | | |
|-------------------------------|----------------------|---------------|-------------|--------------|--------------|-------------|
| | | V1 | V2 | V3 | V4 | V5 |
| Ukupan broj bakterija (20°C) | Min | 26,0 | 12,0 | 20,0 | 1,0 | 12,0 |
| | Max | 30,0 | 15,0 | 35,0 | 1,0 | 22,0 |
| | $\bar{X} \pm \sigma$ | 28,0±2,8284 | 13,5±2,1213 | 27,5±10,6066 | 1,0±0,0000 | 17,0±7,0711 |
| Ukupan broj bakterija (37°C) | Min | 11,0 | 2,0 | 0,0 | 28,0 | 0,0 |
| | Max | 15,0 | 5,0 | 0,0 | 60,0 | 0,0 |
| | $\bar{X} \pm \sigma$ | 13,0±2,8284 | 3,5±2,1213 | 0,0±0,0000 | 44,0±22,6274 | 0,0±0,0000 |
| Koliformne bakterije | Min | 3,0 | 0,0 | 0,0 | 46,0 | 0,0 |
| | Max | 10,0 | 0,0 | 0,0 | 53,0 | 0,0 |
| | $\bar{X} \pm \sigma$ | 6,5±4,9497 | 0,0±0,0000 | 0,0±0,0000 | 49,5±4,9497 | 0,0±0,0000 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | Min | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 1,0 | 0,0 |
| | Max | 1,0 | 0,0 | 0,0 | 1,0 | 1,0 |
| | $\bar{X} \pm \sigma$ | 0,5±0,7071 | 0,0±0,0000 | 0,0±0,0000 | 1,0±0,0000 | 0,5±0,7071 |
| Fekalni streptokoki | Min | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 |
| | Max | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 |
| | $\bar{X} \pm \sigma$ | 0,0±0,0000 | 0,0±0,0000 | 0,0±0,0000 | 0,0±0,0000 | 0,0±0,0000 |



Slika 11. Prosječan broj mikroorganizama na 20 (A) i 37°C (B) u vodovodnoj vodi s područja Jastrebarskog.

5. RASPRAVA

Voda je temeljna namirnica koja je neophodna za život ljudi, životinja i biljaka. Ona ne služi samo za piće već i za druge svrhe, na primjer, za pripremanje hrane, za održavanje osobne higijene, za pranje rublja, prostorijska i ulica, za zalijevanje parkova i zelenih površina, za javna kupališta, za pogon klimatizacijskih uređaja, za zaštitu od požara, kao i za različite tehnološke procese u industriji (Zavod za javno zdravstvo grada Zagreba, 2003).

Bolesti koje se prenose vodom mogu biti izazvane biološkim agensom (mikroorganizmi) i kemijskim agensom (kemijske tvari i spojevi). Vodom se prenose bacilarna i amebna dizenterija, trbušni tifus, paratifus, kolera, infektivni hepatitis, tularemija, poliomielitis (dječja paraliza) i crijevni paraziti. Bolesti koje se šire kontaminiranom vodom imaju drugačiju etiologiju od bolesti prouzrokovanih kontaminiranom hranom.

Sprječavanje tih bolesti može se postići pravilnom izgradnjom i održavanjem javnih vodoopskrbnih objekata, uklanjanjem ljudskih i životinjskih otpadnih tvari, osobnom higijenom bolesnika i kliconoša, a sam uzročnik može se uništiti dezinfekcijom vode (Zavod za javno zdravstvo grada Zagreba, 2003).

Kontrola zdravstvene ispravnosti vode za ljudsku potrošnju definirana je Zakonom o vodi za ljudsku potrošnju (NN 56/13), Pravilnikom o parametrima sukladnosti i metodama analize vode za ljudsku potrošnju (NN 125/13) i Pravilnika o izmjenama Pravilnika o parametrima sukladnosti i metodama analize vode za ljudsku potrošnju (NN 141/13).

Temeljem navedenih zakonskih akata provedena je procjena uzoraka pitke vode na području grada Jastrebarskog. Analizirano je 30 uzoraka pitke vode. Kao izvorišta takove vode najviše se koriste vodovodne vode, ali u upotrebi su bunari i hidrofori. Uzorci voda analizirani su na osnovnu mikrobioloških parametara: broj kolonija bakterija na 22 i 37°C, ukupni koliformi, *Pseudomonas aeruginosa* i fekalni streptokoki. Ispitani uzorci voda su se klasificirali kao mikrobiološki ispravni ili mikrobiološki neispravni.

Ukupan broj bakterija u 1mL uzgajan na 22 i 37°C povećan je u 2 uzorka bunarske vode, 2 uzorka vode iz hidrofora i 2 uzorka vodovodne vode. Ukupne koliformne bakterije pronađene su u 5 uzoraka bunarske vode, 2 uzorka vode iz hidrofora i 4 uzorka vodovodne vode. Bakterija *Pseudomonas aeruginosa* pronađena je u 5 uzoraka bunarske vode, 4 uzorka vode iz hidrofora i 4 uzorka vodovodne vode. U niti jednom ispitivanom uzorku vode nisu pronađeni fekalni streptokoki. Od ukupno analiziranih voda mikrobiološki neispravno je 50%

uzoraka bunarske vode, 40% uzoraka vode iz hidrofora i 40% uzoraka vodovodne vode. Visok postotak mikrobiološki neispravnih uzoraka vjerojatno je posljedica neadekvatnog održavanja bunara i hidroforai za vodu, koje na taj način predstavljaju potencijalni zdravstveni rizik. Osim toga visok postotak neispravnih uzoraka vodovodne vode upuću na potrebu za utvrđivanjem adekvatne količine rezidualnog klora. Slično istraživanje je provedeno i za grad Rijeku te je i tamo utvrđen visok postotak mikrobiološki neispravnih uzoraka za hidrofore i bunare (Linić, 2005).

6. ZAKLJUČCI

Na osnovu dobivenih rezultata mikrobiološke analize vode za piće na području grada Jastrebarskog mogu se donjeti sljedeći zaključci:

1. Visok postotak ispitivanih uzoraka voda je mikrobiološki neispravan.
2. Najviše mikrobiološki neispravnih uzoraka vode je pronađeno kod bunarske vode i vode iz hidrofora.
3. Visok postotak mikrobiološki neispravnih uzoraka vjerojatno je posljedica neadekvatnog održavanja bunara i hidrofora za vodu.
4. Neispravni uzorci vodovodne vode upuću na potrebu za utvrđivanjem adekvatne količine rezidualnog klora.
5. Ovo istraživanje ukazuje na potrebu za redovitim praćenjem mikrobiološke kvalitete vode radi sigurne opskrbe stanovništva pitkom vodom.

7. LITERATURA

1. HR EN ISO 7899-2 (1998): Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th Edition.
2. HRN EN ISO 16266 (2008): *Pseudomonas aeruginosa*
3. HRN EN ISO 6222 (2005): Brojenje uzgojenih mikroorganizama – Broj kolonija 22 °C
4. HRN EN ISO 6222 (2005): Brojenje uzgojenih mikroorganizama – Broj kolonija 37 °C
5. HRN EN ISO 9308-1 (2001): *Escherichia coli* (E. coli) i koliformne bakterije
6. HRN ISO 5667-3 (1999): Smjernice za tehnike uzorkovanja
7. Kaštelan-Macan, M., Petrović, M. (2013): *Analitika okolišta*, HINUS i Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Zagreb.
8. Linić, A. (2005): Vodoopskrba Rijeke i okolice, *Zbornik radova stručno poslovnog skupa Prošlost, sadašnjost i budućnost vodoopskrbe i odvodnje*, Rijeka 1-88.
9. Mayer, D. (2004): *Voda, od nastanka do upotrebe*, Prosvejeta, Zagreb.
10. Narodne novine (2013) Pravilnika o izmjenama Pravilnika o parametrima sukladnosti i metodama analize vode za ljudsku potrošnju, Zagreb: Narodne novine d.d., 141 (1)
11. Narodne novine (2013) Pravilnikom o parametrima sukladnosti i metodama analize vode za ljudsku potrošnju, Zagreb: Narodne novine d.d., 125 (1)
12. Narodne novine (2013) Zakonom o vodi za ljudsku potrošnju, Zagreb: Narodne novine d.d., 56 (1)
13. Sartorius (2015): *Microbiological Testing of Foods, Beverages and Pharmaceuticals*, Sartorius AG, Germany.
14. Šimunić, I. (2013) : *Uređenje voda*, Hrvatska sveučilišna naklada, Zagreb.
15. Valić, F. (2001): *Zdravstvena ekologija*, Medicinska naklada d.o.o., Zagreb.
16. Zavod za javno zdravstvo grada Zagreba (2003): *Priručnik prema proširenom programu za osobe koje rade na preradi i distribuciji vode za piće*, Čulig, J. (ur), Zavod za javno zdravstvo grada Zagreba, Zagreb.