

MIKROBIOLOŠKA ANALIZA VODE IZ PLITIKIH BUNARA

Matić, Elizabeta

Undergraduate thesis / Završni rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Polytechnic in Pozega / Veleučilište u Požegi**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:112:680218>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-08-27**



VELEUČILIŠTE U POŽEGI
STUDIA SUPERIORA POSEGANA

Repository / Repozitorij:

[Repository of Polytechnic in Pozega - Polytechnic in Pozega Graduate Thesis Repository](#)



zir.nsk.hr



DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

VELEUČILIŠTE U POŽEGI



Elizabeta Matić, 1510/15

MIKROBIOLOŠKA ANALIZA VODE IZ PLITKIH BUNARA

ZAVRŠNI RAD

Požega, 2019. godine

VELEUČILIŠTE U POŽEGI
POLJOPRIVREDNI ODJEL
PREDDIPLOMSKI STRUČNI STUDIJ PREHRAMBENA TEHNOLOGIJA

**MIKROBIOLOŠKA ANALIZA VODE IZ PLITKIH
BUNARA**

ZAVRŠNI RAD

IZ KOLEGIJA MIKROBIOLOGIJA HRANE

Mentor: Helena Marčetić dipl.ing

Student: Elizabeta Matic

Matični broj: 1510/15

Požega, 2019. godine

SAŽETAK

Analiza voda je temelj brige o ljudima i živim organizmima. U vodi žive brojni mikroorganizmi koji mogu biti opasni za zdravlje čovjeka. Kako je voda najvažnija tvar na planeti za život, važno ju je očuvati. Pitke vode na svijetu je vrlo malo, a i taj mali postotak je često zagađen i nije zdravstveno ispravan za korištenje. Voda se analizira na nekoliko načina, a jedan od najbitnijih je mikrobiološka analiza. Ona se provodila na uzorcima vode iz plitkih bunara na području Virovitičko-podravske županije. Voda se analizirala najpouzdanijom metodom mikrobiološke analize, a to je membranska filtracija kojom se bakterije nacjepljuju na hranjivu podlogu i uzgajaju. Time se uzgoje bakterije prisutne u vodi, a gdje neke od njih mogu biti veoma opasne za zdravlje ljudi. Analizom je pokazano kako većina voda iz plitkih bunara ne zadovoljava mikrobiološke uvjete te time može ugroziti zdravlje čovjeka. Većina bakterija u pitkoj vodi su koliformne bakterije, a čijom analizom su ustanovljene brojne kolonije tih vrsta bakterija.

Ključne riječi: voda, bakterije, analiza, mikrobiološka, uzgoj

ABSTRACT

Water analysis is the foundation of concern for people and living organisms. There are numerous microorganisms that can be dangerous to human health. As water is the most important substance on the planet for life, it is important to preserve it. Drinking water in the world is very small, and this small percentage is often polluted and is not healthy for use. Water is analyzed in several ways, and one of the most important is microbiological analysis. It was conducted on samples of water from shallow wells in the area of Virovitica-Podravina County. Water was analyzed by the most reliable method of microbiological analysis, which is the membrane filtration by which the bacteria are drawn to the nutrient base and grown. This raises the bacteria present in the water, and where some of them can be very dangerous to human health. The analysis shows that most of the water from shallow wells does not meet microbiological conditions and can thus endanger human health. Most bacteria in drinking water are coliform bacteria, and by this analysis numerous colonies of these bacterial species have been found.

Key words: water, bacteria, analysis, microbiological, breeding

SADRŽAJ:

1. UVOD	1
2. PREGLED LITERATURE	2
2.1. Voda.....	2
2.1.1. Vodozahvati podzemnih voda.....	3
2.2. Zakon o vodi za ljudsku potrošnju.....	4
2.3. Mikrobiologija voda.....	5
2.4. Metode određivanja bakteriološke kvalitete voda.....	8
2.5. Hranjive podloge.....	9
3. MATERIJALI I METODE.....	10
3.1. Materijali.....	10
3.2. Metode rada	10
3.2.1. Odabir mjesta i način uzorkovanja vode.....	10
3.2.2. Priprema boce za uzorkovanje	11
3.2.3. Membranska filtracija vode	11
3.2.4. Određivanje ukupnog broja kolonija na 22 °C i 37 °C	14
3.2.5. Određivanje <i>Escherichia coli</i> i koliformnih bakterija u vodi.....	15
3.2.6. Određivanje bakterija <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	16
3.2.7. Određivanje enterokoka	17
4. REZULTATI I RASPRAVA	18
5. ZAKLJUČAK	23
6. LITERATURA.....	24

1. UVOD

Voda predstavlja temelj života na Zemlji. Niti jedno živo biće ne bi moglo preživjeti bez nekog oblika vode. Voda prekriva 70 % našeg planeta i u istom postotku čini organizam čovjeka. Najviše vode je slana voda, a vrlo mali postotak čini pitka voda oko 1 %. Pitka voda, da bi se održala pitkom i zdravstveno ispravnom za ljudsku upotrebu, mora se analizirati. Postoje brojna ispitivanja ispravnosti vode. Mikrobiološka ispitivanja se temelje na analiziranju mikroorganizama koji se nalaze u vodi i koji možda mogu biti opasni za ljudsko zdravlje. Većina uzročnika bolesti u vodi potječe iz fekalija, a neki od njih uzrokuju i teške bolesti.

U radu se provodila mikrobiološka analiza vode iz plitkih bunara koji su još uvijek u upotrebi i koji se više ne koriste. Istraživanje je provedeno u Virovitičko-podravskoj županiji u nekoliko seoskih dvorišta. Nakon toga na uzorcima su se provodila laboratorijska ispitivanja, od kojih je najvažnija bila membranska filtracija. Ustanovljen je broj kolonija nekih vrsta bakterija od kojih su najčešće koliformne bakterije. Mikrobiološko ispitivanje se provodilo nekoliko dana kako bi kvalitetno se ispitali uzorci vode.

Istraživanjem se želi pokazati kako sva bunarska voda nije zdravstveno ispravna odnosno da većina bunara koja se ne koristi ima zdravstveno neispravnu vodu dok bunari koji su u upotrebi imaju većinom zdravstveno ispravniju vodu. Prema mikrobiološkim pokazateljima se želi pokazati kako voda u plitkim bunarima nije u potpunosti sigurna za piće te kako bi se analizama vode mogle spriječiti i neke bolesti i infekcije opasne za ljudsko zdravlje. Može se pretpostaviti kako uzorci vode neće zadovoljavati mikrobiološke uvjete iz Pravilnika o parametrima sukladnosti i metodama analize vode za ljudsku potrošnju. Posljedica lošeg održavanja bunara je visok postotak mikrobiološki neispravnih uzoraka.

Bunar predstavlja vertikalni hidrogeološki objekat u tlu, a namjena mu je eksploatacija podzemnih voda. Prema načinu gradnje postoji nekoliko vrsta bunara kao što su: kopani, bušeni i utisni bunari. Prema tipu bunari se mogu podijeliti na: obični, arteški i subarteški bunar. Voda u bunaru se akumulira tokom kišne sezone pa se u sušnom razdoblju koriste zalihe vode. Bunari se često nalaze blizu stambenih zgrada, poljoprivrednih zemljišta, industrijskih objekata i drugih izvora onečišćenja pa voda često nije zdravstveno ispravna. U njoj se mogu nalaziti povećane količine željeza, mangana, amonijaka, nitrata, sumporovodika, kamenca ili određenih vrsta bakterija. Kako bi bunarska voda bila zdravstveno ispravna ona se pročišćava.

2. PREGLED LITERATURE

2.1. Voda

Oko 71 % Zemljine površine prekriva voda, od čega je 97 % more, a manje od 1 % čini pitka voda. Količina slatke vode na Zemlji je oko 35 milijuna km³ što čini oko 2,5 % ukupnog volumena na Zemlji. U obliku podzemnih voda nalazi se oko 30 % svjetskih slatkih voda. Voda je najrasprostranjeniji kemijski spoj u prirodi, koji formira jezera, rijeke, mora i oceane na Zemlji. Voda je prozirna, bezbojna tekućina koja se sastoji od jednoga atoma kisika i dva atoma vodika, koji su spojeni kovalentnom vezom. Pitka voda je bez okusa i mirisa, a njena najčešća upotreba je kao otapalo (Geek.hr, url).

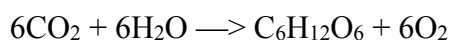
Voda u sebi ovisno o porijeklu i nalazištu, sadrži otopljene soli u različitim koncentracijama, a najčešći ioni su: Na⁺, K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, HCO₃⁻, NO₃⁻, SO₄²⁻ i Cl⁻. U manjim koncentracijama može sadržavati: Fe, Mn, Al, Ni, Zn, Cu i Cr, a za otpadne vode je karakteristično da sadrže povećanu koncentraciju NH₄⁺ iona. Pitka voda ima karakterističan okus koji potječe od otopljenog kisika, ugljikovog dioksida i topljivih soli (NaCl, NaHCO₃). Tvrda voda je ona koja sadrži kalcijev bikarbonat (Ca(HCO₃)₂), kalcijev klorid (CaCl₂) i kalcijev sulfat (CaSO₄).

Tlo sadržava vodu koja je tamo došla putem procjeđivanja ili upijanja, a ona može biti:

- Adehijska voda - voda gornjeg sloja tla,
- Kapilarna voda - voda koja ispunjava najuže pore tla zbog djelovanja površinske napetosti, pojavljuje se zbog povećanja vlažnosti tla,
- Podzemna voda - vode u šuplinama tla,
- Arteška voda - podzemna voda koja se pod određenim tlakom nalazi u vodopropusnom sloju između vodonepropusnih slojeva.

Postoji i posebna vrsta voda, a to su otpadne vode koje su produkt ljudskog djelovanja, a u sebi sadrže suspendirane i otopljene otpadne tvari iz domaćinstava, industrije i poljoprivrede. Takva voda se ne smije ispuštati u vodne tokove jer je onečišćena i mora se pročititi kako bi se održala biološka ravnoteža u rijekama, jezerima i morima (Kraševac, 2016).

Voda ima jako veliku i biološku ulogu, jer je neophodna za sva živa bića na Zemlji. Biljkama voda služi za rast i razvoj te za brojne procese, a kao najbitniji se ističe fotosinteza. To je proces u kojem se uz pomoć sunčeve energije ugljikov dioksid i voda pretvaraju u šećer i kisik, a može se prikazati sljedećom jednačinom:



Kako za biljke, voda je bitna za životinje i ljude, jer se najvećim dijelom svi živi organizmi sastoje od vode. Ljudski organizam sastoji se od oko 60 % vode, koja u našem organizmu ima mnogo uloga. Jedno od najvažnijih svojstava je da otapa tvari u stanicama koje su potrebne za metaboličke reakcije kojima se održava rast i razvoj.

Voda na Zemlji stalno kruži, isparava iz mora, kopnenih voda, tla i biljaka te odlazi u atmosferu gdje se hladi i pada ponovno na Zemlju u obliku kiše, snijega, magle i rose. Voda koja izvire iz zemlje je dobrim dijelom zaštićena od zagađivanja, obično je čista i ljekovita. Voda koja služi za piće iz gradskog vodovoda, izvorno ne mora biti čista, ali se postupcima obrade i pročišćavanja dovodi u stanje pitke vode.

2.1.1. 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.
 - Zbijani bunari služe za eksploataciju malih količina vode iz relativno plitkih pješćanih i šljunčanih vodonosnika. Izvode se zabijanjem zašiljene čelične cijevi promjera 25 do 75 milimetara u pješćano ili šljunkovito tlo, najčešće do dubine od 10 metara. Cijev je u donjem dijelu perforirana rupicama promjera 2 do 5 mm.

- Bušeni bunari koriste se za eksploataciju vode iz dubokih vodonosnika. Buše se strojno, a imaju obično promjer od 150 do 1500 mm, a mogu biti duboki i više stotina metara (Mayer, 2004).

2.2. Zakon o vodi za ljudsku potrošnju

Prema Zakonu o vodi za ljudsku potrošnju (NN 56/13, 64/15, 104/17, 115/18, na snazi od 01.01.2019.) „voda namijenjena za ljudsku potrošnju je:

- a) sva voda koja je u svojem izvornom stanju ili nakon obrade namijenjena za piće, kuhanje, pripremu hrane ili za druge potrebe kućanstava, neovisno o njezinom porijeklu te neovisno o tome potječe li iz javne vodoopskrbe, cisterne ili iz boca odnosno posuda za vodu,
- b) sva voda koja se rabi u industrijama za proizvodnju hrane u svrhu proizvodnje, obrade, očuvanja ili stavljanja na tržište proizvoda ili tvari namijenjenih za ljudsku potrošnju, osim ako nadležno tijelo ne utvrdi da kakvoća vode ne može utjecati na zdravstvenu ispravnost hrane u njezinom konačnom obliku.“

Prema istom tom Zakonu:

- „Uzorak vode je količina vode uzeta jednokratno na jednom mjestu na propisani način u svrhu laboratorijske analize.
- Analiza vode je određivanje senzorskih, fizikalno-kemijskih, kemijskih, mikrobioloških i drugih svojstava vode radi utvrđivanja njezine zdravstvene ispravnosti.
- Higijensko-epidemiološke indikacije su indikacije koje ukazuju na mogućnost onečišćenja vode mikrobiološkim, fizikalnim, kemijskim i radioaktivnim tvarima, zbog tehničkog stanja vodoopskrbnih objekata, stanja okoliša, elementarnih nepogoda, akcidentalnog i drugog iznenadnog onečišćenja i epidemiološke situacije.
- MDK je kratica za „maksimalno dopuštena koncentracija“
- Sukladnost je usklađenost dobivenih rezultata s MDK vrijednostima.
- Monitoring vode za ljudsku potrošnju podrazumijeva sustavno praćenje zdravstvene ispravnosti vode provođenjem niza planiranih mjerenja i analiza pojedinih parametara vode za ljudsku potrošnju, kako bi se utvrdila njezina sukladnost s propisanim vrijednostima, a obuhvaća monitoring (praćenje)

parametara skupine A i parametara skupine B te monitoring parametara radioaktivnih tvari u vodi za ljudsku potrošnju.“

Zdravstveno ispravna voda za ljudsku potrošnju je voda koja:

- Ne sadrži mikroorganizme, parazite i njihove razvojne oblike u broju koji predstavlja opasnost za zdravlje ljudi,
- Ne sadrži štetne tvari u koncentracijama koje same ili zajedno s drugim tvarima predstavljaju opasnost za zdravlje ljudi,
- Ne prelazi vrijednost parametara zdravstvene ispravnosti vode, propisane pravilnikom iz članka 10. stavka 1. podstava 1. ovoga Zakona.

U svrhu zdravstvene ispravnosti vode rade se redovite analize i monitoring vode za ljudsku potrošnju, koje obavlja Hrvatski zavod za javno zdravstvo, odnosno Zavodi za javno zdravstvo županija.

U cilju zaštite ljudskog zdravlja prate se određeni parametri zdravstvene ispravnosti vode za ljudsku potrošnju sa pripadajućim maksimalno dopuštenim koncentracijama (MDK) koji štite od nepovoljnih utjecaja mikrobiološkog onečišćenja vode za ljudsku potrošnju i osiguravaju zdravstvenu ispravnost vode za ljudsku potrošnju.

2.3. Mikrobiologija voda

Početak 19. stoljeća zbog industrijske revolucije i parnih strojeva, brojni seljaci dolaze u europske gradove. Kako bi se svi oni smjestili, sagrađene su kuće i zgrade, a time je došlo do porasta brojnih smrtonosnih bolesti. Loše uvjete življenja s bolesti povezo je engleski novinar i odvjetnik Edwin Chadwick. Nakon toga je započeo zdravstveni razvoj i reforme koje su promijenile svijet. Velike epidemije kolere 1849. i 1853. godine su odnijele brojne živote u Londonu. Pokazalo se kako je za prijenos bolesti bila zadužena voda. Nakon toga započinje gradnja kanalizacijskih sustava i pročišćavanje voda (Duraković, Duraković i Delaš, 2002).

Mikrobiologija voda istražuje mikroorganizme i njihova djelovanja u vodama kao što su jezera, bazeni, rijeke, morski rukavi, mora i oceani. Velik broj bakterija se nalazi u vodi koja je kontaminirana otpadnim vodama ili industrijskim biorazgradivim organskim produktima. Mnoge bakterije u vodama imaju nastavke i spone kojima se pričvršćuju na različite površine, a kao primjer se može uzeti *Caulobacter crescentus*. U slatkim vodama mikrobi teže što boljem iskorištavanju kisika i svjetlosti. U dubokom sedimentu na dnu neke močvare ili bare nalaze se vrste iz roda *Clostridium* koje uključuju vrste koje uzrokuju botulizam u vodenih ptica.

Bakterije koje žive u oceanu, koriste uginuli fitoplankton, a također mogu nastanjivati i žive organizme. Mikrobi u površinsku vodu dospijevaju na različite načine: iz zraka kada pada kiša, iz otpadnih produkata različitih industrija ili iz postrojenja za obradu otpadnih voda koja su smještena u blizini riječnih nasipa. Mikroorganizmi u normalnim uvjetima imaju veoma važnu ulogu u životnim ciklusima u vodi.

Nekontaminirane vode kao što je planinska voda jezera ili rijeka sadrže male količine organskih nutrijenata i time i ograničen broj živih bakterija. Primjer su mikroorganizmi iz roda *Streptomyces*, neki kvasci i spore plijesni, poput spore bakterija iz rodova *Bacillus* i *Clostridium* koje su podrijetlom iz zraka.

Kontaminirane vode sadrže veliku količinu organske tvari podrijetlom iz otpadne vode, fecesa i industrijskih izvora, a mikrobi su uglavnom heterotrofi. Oni troše organsku tvar, a zbog njihovog metabolizma, zbog pomanjkanja kisika izostaje razgradnja proteina, masti i ugljikohidrata, pa u vodi nastaju velike količine kiselina, lužina, alkohola i različitih plinova. U kontaminiranoj vodi najviše se nalaze koliformne bakterije, koje ulaze u skupinu gram negativnih nesporogenih štapića, podrijetlom iz probavnog sustava čovjeka, a to su: *Escherichia coli* i iz roda *Enterobacter*. Koliformi su mikroorganizmi koji se nalaze u probavnom sustavu ljudi i životinja, a koji služe kao indikatori fekalne kontaminacije. Njihova nazočnost u pitkim vodama je u brojevima koji prelaze dopuštenu razinu i time signalizira kontaminaciju fekalnog podrijetla.

Tipovi kontaminacija voda:

- I. Fizička – pojavljuje se kada se pijesak i zemlja u vodi suspendiraju i time ju zamućuju. U takvu kontaminaciju je uključena i živa tvar, poput cvjetanja algi i cijanobakterija, kada voda postane konzistentna, a zbog povišene temperature i nutrijenata raste i broj mikroorganizama.
- II. Kemijska – ona je rezultat ulaska anorganskih i organskih kontaminanata u vodu, primjer je ulaz vode koja je prolazila preko rude koja sadrži velike količine željeza i bakra. U detergentima fosfati i nitrati također u vodi dovode do kemijske kontaminacije, a velik problem su i kiseline. Količine organskih i anorganskih tvari u otpadnim vodama su velik problem u obradi voda. Bakterije u vodi iscrpljuju količine kisika otopljenog u vodi jer ga troše u procesu oksidacije organske tvari.
- III. Ekološka – najbitnija kontaminacija, a ona nastaje od mikroorganizama koji u vodu dospijevaju iz ljudskog fecesa, prerade hrane, mesne industrije, medicinskih institucija i slično. U normalnim uvjetima voda može razgraditi biološki materijal, no kada voda

miruje ili prelazi preko otpadnih tvari, biološki materijal se ne može razgraditi i pretvara takvu vodu u kontaminiranu. Stupanj kontaminacije vode je određivanje biokemijske potrošnje kisika ili BPK, a on označava količinu kisika koja je nužna mikroorganizmima za razgradnju organske tvari u vodi. Potrošnja kisika proporcionalno raste sa povećanjem broja živih mikroorganizama. Na osnovi BPK vrijednosti se određuje razina kontaminacije nutrijentima vode i djelotvornost postupka primijenjenog u obradi vode.

Mikrobna kontaminacija voda osobito onim patogenim mikroorganizmima je veoma bitna za analizu pitke vode. U nekim dijelovima svijeta do 80 % svih oboljenja i oko trećine svih smrti vezano je upravo uz uporabu zdravstveno neispravne vode zagađene mikrobiološkim kontaminantima. Najopasniji oblik kontaminacije se pojavljuje kada u vodotokove ulaze ljudske fekalije, jer se mnoge bolesti prenose fekalno-oralnim putem. Patogen izbačen iz ljudskog fecesa kontaminira vodu ili hranu koju kasnije ljudi konzumiraju i na taj način se zaraze (slika 1). Bolesti koje se ovako prenose su tifus i kolera koje uzrokuju bakterije i hepatitis A kojeg uzrokuje virus. Danas su veliki problem bakterije iz roda *Shigella* koje uzrokuju bacilarnu dizenteriju, *Legionella* koja uzrokuje pneumoniju, *Mycobacterium spp.*, *Pseudomonas spp.* i ostali uvjetni patogeni koji su opasni za imunološki sustav čovjeka (Duraković, Duraković i Delaš, 2002).

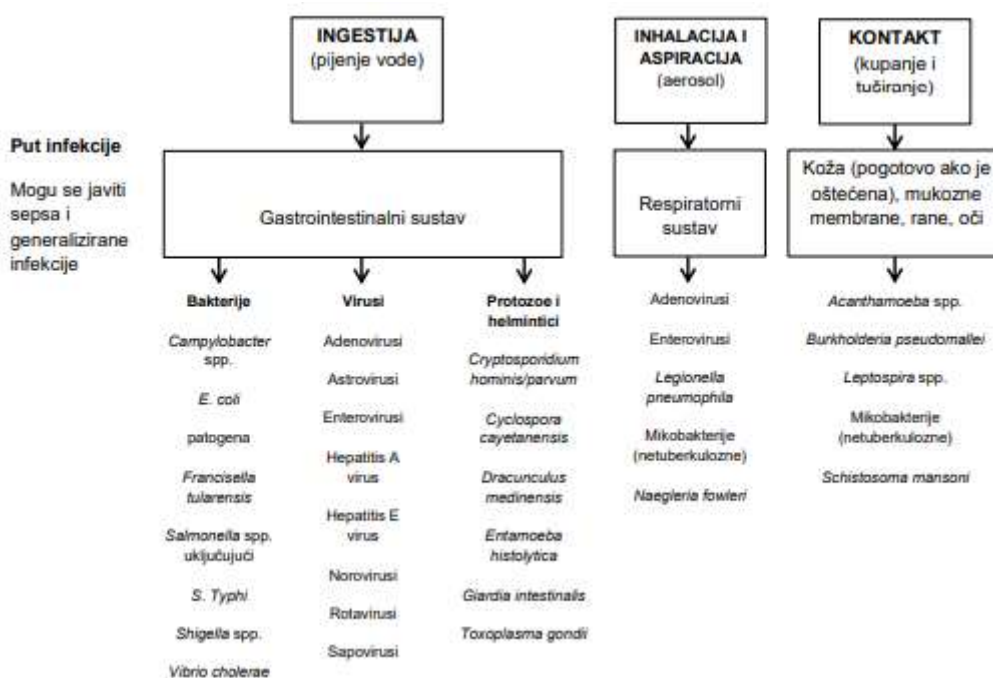
Koliformne bakterije su uvjetni patogeni koji uzrokuju infekcije u slučaju oslabljenog imuniteta. Prisustvo ovih bakterija u vodi za piće je posljedica neadekvatnog sustava pročišćavanja voda ili problema sa cijevima u kojima se voda distribuira. Mnoge patogene uzročnike je teško detektirati jer se nalaze u niskim koncentracijama u vodi, pa se koriste indikatorske bakterije za detekciju vjerojatne prisutnosti patogenih uzročnika. Koliformne bakterije su veoma pogodna skupina indikatorskih bakterija za procjenu higijenske ispravnosti vode (Gjirlić, 2016). Prema Pravilniku o parametrima sukladnosti i metodama analize vode za ljudsku potrošnju u RH (NN 125/17), prisutnost koliformnih bakterija u vodi za piće nije prihvatljiva ni u kojoj mjeri.

Koliformne bakterije se mogu podijeliti u tri skupine: ukupne koliformne bakterije, fekalne koliformne bakterije te *Escherichia coli* kao podgrupa fekalnih koliformnih bakterija. Ukupne koliformne bakterije sadrže 15 vrsta bakterija iz porodice *Enterobacteriaceae*, a najznačajniji predstavnici fekalne skupine koliformnih bakterija su:

- *Escherichia coli* – pripada podgrupi fekalnih koliformnih bakterija, koje su gram negativni bacili, a postoji preko stotinu sojeva. Većina sojeva *E. coli* su bezopasne i

njihovo stanište je u crijevima ljudi i toplokrvnih životinja, no neki sojevi mogu izazivati bolesti. Najčešći soj koji je odgovoran za nastanak bolesti je *E. coli* O157:H7. Infekcija ovim sojem često se javlja u obliku epidemija i uzrokuje enterokolitis sa krvavim proljevima uz bolove u truhu ili mučninom.

- Fekalni streptokoki (enterokoki) - gram pozitivni, jajoliko izduženi koki, roda *Enterococcus* koji su široko rasprostranjeni u okolišu, a nalaze se i u fekalijama svih kralježnjaka. Fekalni streptokoki su najpogodnija grupa bakterija za procjenu higijenske ispravnosti vode jer njihov broj visoko korelira s prisutnošću brojnih patogenih bakterija (npr. *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter*...), ukupnih koliformnih bakterija i enterovirusa (Gjirlić, 2016).



Slika 1. Način prenošenja patogena na čovjeka putem vode (Gjirlić, 2016)

2.4. Metode određivanja bakteriološke kvalitete voda

Američki ured za zaštitu okoliša utemeljio je vodiče za procjenu bakteriološke kakvoće vode za piće, kao i za kakvoću slatke i morske vode za rekreaciju. Mjerila uključuju najmanji broj uzoraka vode za istraživanje u svakom mjesecu i maksimalan dopušten broj koliformnih bakterija u 100 mL vode.

Koliformne bakterije mogu se dokazati na dva načina:

- I. MPN (*most probable number*) – određuje se najvjerojatniji broj u uzorku vode od 100 mL. Postupak teče tako da se vidi koliko se serija testova upotrebljava za određivanje značajki koliforma: tvorba plina nastalog fermentacijom laktoze i morfologije gram-negativnih štapića. Na osnovi broja pozitivnih epruveta s laktoza bujonom koje su bile inkulirane i inkubirane, procjenjuje se broj koliforma.
- II. Postupak membranske filtracije – on se upotrebljava u brojnim laboratorijima za testiranje uzoraka na koliforme, a kolonije koliformnih bakterija su specifičnog izgleda (tamna središta ili metalni sjaj) (Duraković, Duraković i Delaš, 2002).

2.5. Hranjive podloge

Hranjiva podloga je prirodni ili umjetni medij za uzgoj mikroorganizama ili njihovih dijelova (tkiva, stanice). U njima oni rastu na način da troše tvari koje su potrebne za sintezu staničnih sastojaka i za proizvodnju energije. Hranjive podloge po sastavu mogu biti: jednostavne i složene. Prema sastavu podloge, može se selektivno olakšati ili otežati, pa i spriječiti rast određenih mikrobni skupina, čime se olakšavaju njihova selekcija, identifikacija i klasifikacija, ocjenjivanje njihove patogenosti, neškodljivosti, uporabljivosti i ostalo.

Razlikuju se tekuća i čvrsta podloga. Tekuća hranjiva podloga sadrži različite hranjive sastojke, a primjer je mlijeko ili bujon (priređen ekstrakcijom mesa). Čvrsta hranjiva podloga hladetinaste je konzistencije, jer osim hranjivih sastojaka sadrži i neke bjelančevine (želatina) ili polisaharide (agar, agaroz) koji kuhanjem hidratiziraju i nabubre, a nakon hlađenja očvrstnu i poprime oblik posude (www.enciklopedija.hr, url).

Glavni sastojak hranjivih podloga je voda, koja je ujedn i glavni preduvje za održavanje života živih bića. Zatim važan hranjivi sastojak podloga je ugljik koji služi za biosintezu staničnih sastojaka, a kao najbolji su se pokazali ugljikohidrati (glukoza, saharoza, škrob, celuloza). Mora sadržavati i dušika koji mogu biti: anorganski (amonijeve soli, nitrati) i organski spojevi (urea, amini, aminokiseline, polipeptidi, bjelančevine) te fosfora koji se najbolje može dobiti iz anorganskih fosfata (kalijevi, natrijevi, amonijevi). Osim ova četiri sastojka, živim organizmima su potrebni i sljedeći sastojci u hranjivim podlogama kao što su: mineralne soli makrohranjivih (S, K, Mg, Ca, Zn, Cl) i mikrohranjivih elemenata (Co, B, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni) (www.enciklopedija.hr, url).

3. MATERIJALI I METODE

3.1. Materijali

Za istraživanje koristili su se sljedeći materijali:

- Endo agar
- Kvasni ekstrakt agar
- Pseudomons selectiv agar
- Azid hranjiva podloga
- Azid maltoza agar

3.2. Metode rada

3.2.1. Odabir mjesta i način uzorkovanja vode

Uzorci su se prikupljali na području Virovitičko-podravske županije, u mjestima: Levinovac, Gradina, Rušani, Lipovac, Brezik i Gornje Bazije. Uzorci vode su uzeti iz plitkih bunara (1 - 6 metara dubine), od kojih se neki još uvijek koriste za pitku vodu, dok neki više ne (slika 2). Voda za analizu je uzorkovana aseptično u sterilnu bocu (boca za infuziju) u kojoj je ostavljen prostor koji je ispunjen zrakom čime se omogućava miješanje uzorka prije analize i sprečava naknadna kontaminacija.



Slika 2. Plitki bunar koji se koristi i drugi koji se ne koristi (Izvor: autor)

3.2.2. Priprema boce za uzorkovanje

Boca za uzorkovanje vode treba sačuvati sastav uzorka od gubitaka, onečišćenja stranim tvarima i naknadne kontaminacije mikroorganizmima te mora biti otporna na visoke temperature radi sterilizacije. Uzorkovanje vode provodi se u bocama za infuziju s odgovarajućim čepom. Sterilizacija boca provodi se u autoklavu.

3.2.3. Membranska filtracija vode

Membranska filtracija se pokazala kao najbolja metoda za mikrobiološku analizu voda jer je jednostavna, praktična, ekonomična, ponovljiva i omogućava kvantitativno određivanje mikroorganizama. Temelji se na koncentraciji mikroorganizama iz većeg uzorka na površini

membranskog filtera, te naciepljivanje ovih mikroorganizama na hranjivu podlogu, a one obuhvaćaju podloge za: ukupan broj mikroorganizama, ukupne koliforme, fekalne koliforme, fekalne streptokoke. Na površini membranskog filtera se razvijaju kolonije koje tijekom inkubacije, se broje i preračunavaju s obzirom na volumen uzorka. Optimalnim rezultatom smatra se rast od 20 do 60 bakterija na filteru, a ako je broj izraslih bakterija veći, uzorak je potrebno razrijediti i postupak ponoviti.

Uređaj za membransku filtraciju prije upotrebe je potrebno dezinficirati što se radi 96 % alkoholom, a nakon toga se sterilizira uz pomoć plamenika. Uređaj se može vidjeti prikazan na slici 3.



Slika 3. Uređaj za membransku filtraciju (Izvor: autor)

Postupak

Pripremi se vakuum pumpa i sterilizira porozna metalna ploča. Lijevak membranskog filtra pošprica se sa 96 % alkoholom (slika 4) i spali (slika 5). Uz pomoć pincete koja se sterilizira plamenom, na rešetkasto ploču postavi se sterilna membrana, aseptički se prihvati ispitani filter i zatvori s lijevkom (slika 6). Ljevak filtera se postavi na uređaj za filtriranje i učvrsti držačem te se u lijevak ulijeva 100 mL uzorka ispitivane vode, uključi vakum i filtrira cijeli sadržaj. Nakon filtracije vakum se isključi, ukloni se lijevak filtera i sterilnom pincetom makne membranski filter s osnovice držača filtera. Na taj način se skupljaju bakterije na membrani filtra. Membranski filter se stavi na selektivnu podlogu u Petrijevoj zdjelici pazeći pri tome da ne zaostanu mjehurići zraka, između membrane i površine agara (slika 7). Ako

zaostanu mjehurići zraka, membranu treba podići i ponovo staviti na hranjivu podlogu (Interni priručnik zavoda za javno zdravstvo Sv.Rok Virovitica).



Slika 4. Sterilizacija pomoću 96 % alkohola (Izvor: autor)



Slika 5. Spaljivanje alkohola
(Izvor: autor)



Slika 6. Postavljanje sterilnog
membranskog filtera (Izvor: autor)



Slika 7. Nacjepljivanje membranskog filtra na petrijevu zdjelicu (Izvor: autor)

3.2.4. Određivanje ukupnog broja kolonija na 22 °C i 37 °C

Utvrđivanje broja svih živih bakterija u 1 mL vode za piće, smatra se osnovnom analizom za ocjenjivanje higijenske ispravnosti vode. Danas se smatra da ovo utvrđivanje ima svoju pravu vrijednost samo ako se češće ponavlja u kratkim vremenskim razmacima u redovnoj kontroli. Metoda se temelji na miješanju određenog volumena uzorka vode (1 ml ili 0,1 ml) sa hranjivim agarom u Petrijevoj zdjelici. Inkubacija je 44 ± 4 sata pri temperaturi 37 ± 2 °C i 68 ± 4 sati pri temperaturi 22 ± 2 °C. Nakon toga se procjenjuje broj kolonija po mL uzorka.

Postupak

Preko membranskog filtra obradi se uzorak vode. Sterilnom Pasteur pipetom odpipetira se po 1 ml uzorka u dvije Petrijeve zdjelice te se zalije po 15 - 20 ml Yeast ekstrakt agara otopljenog i ohlađenog na 45 °C. Ostavi se da se podloga skrutne, zatim preokrene zdjelica i inkubira 44 sata, pri temperaturi od 37 °C i 68 sati pri temperaturi na 22 °C. Nakon inkubacije pobroje se sve kolonije prisutne na svakoj ploči te se procjeni broj kolonija u 1 mL. Procijenjen broj kolonija izražava se kao cfu/1 ml, a izračunava se prema formuli:

$$C_s = Z / V_{tot} * V_s \quad (1)$$

C_s - procjenjen broj kolonija u cfu/1 ml
 Z - suma kolonija izbrojani na svim pločama
 V_{tot} - je ukupni naciepljeni volumen uzorka
 V_s - referentni volumen (1 ml)

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

$$CFU = \sum 0 * \sum 0 / (n_1 * 0,1 * n_2) * d \quad (2)$$

$\Sigma 0$ - 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 (Privatni praktikum zavoda za javno zdravstvo Sv. Rok Virovitica)

3.2.5. Određivanje *Escherichia coli* i koliformnih bakterija u vodi

Postupak

Preko membranskog filtra obradi se uzorak vode koji zatim služi za brojanje *Escherichia coli* i koliformnih bakterija u vodi, a podijeljen je tankim crtama u kvadrate površine 1 cm². Kroz filter se propusti 100 mL ili više ispitivane vode e se filter oprezno izvadi iz aparata i prostre na površinu Endo agara u Petrijevoj zdjelici. Nakon toga uzorak se inkubira 48 sati na 37 °C te na filteru za 24 - 48 sati porastu kolonije prisutnih *Escherichia coli* i koliforma (slika 8). 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/24 h (HRN EN ISO 9308-1, 2001).



Slika 8. Porasle kolonije *Escherichia coli* i koliformnih bakterija na endo agaru (Izvor: autor)

3.2.6. Određivanje bakterija *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa je jedan od najvažnijih uzročnika koji se prenose pitkom vodom, a ističe se kod infekcija u bolnici. Pri temperaturi 25 - 30 °C se ova bakterija najbolje razmnožava, a u uzorku vode od 100 mL ne smije biti uzročnika. Bakterija je veoma opasna za ljude jer uzrokuje teške upale organa, ponekad i sa smrtnim posljedicama. Ako dođe do infekcije, dolazi do isključenja pitke vode i detaljne sanacije.

Postupak

Preko membranskog filtra obradi se uzorak vode. Kroz filter se propusti 100 mL ili više ispitivane vode te se filter 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, daju pozitivnu reakciju s citokrom oksidazom. Ako je reakcija pozitivna, dolazi do pojave tamnoplavog do tamnoljubičastog obojenja unutar 20 - 60 sekundi, koji fluoresciraju pod UV svjetlom, valne duljine od 360 ± 20 nm (HRN EN ISO 16266, 2008).

3.2.7. Određivanje enterokoka

Postupak

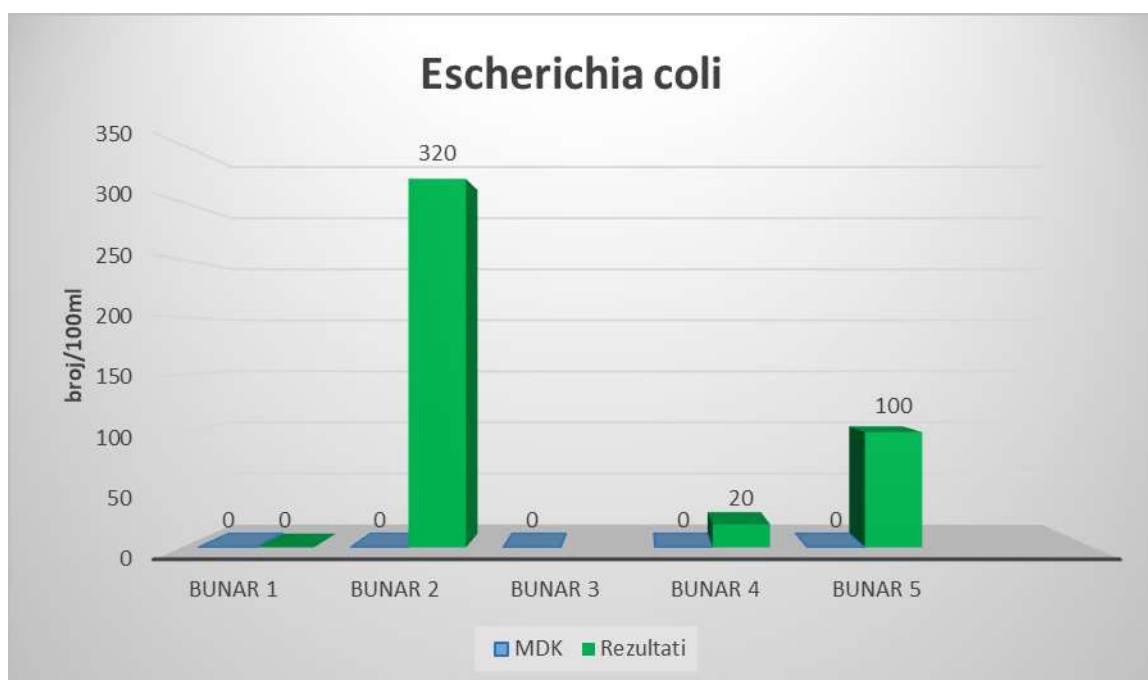
Prije početka membranske filtracije potrebno je upaliti plamenik da se stvori sterilan prostor te se dezinficira uređaj za membransku filtraciju. Zatim na filter pore stavljamo filter papir veličine 47 – 50 mm i veličine pora 0,45 µm. Prije usipanja uzorka u uređaj potrebno je uzorak promiješati laganim okretanjem (25 puta).

U lijevak se ulije 100 ml uzorka te se uključi vakuum i vrši se filtracija. Nakon završetka filtracije filter papir se pomoću sterilne pincete prenosi na hranjivu podlogu te se stavlja inkubirati 48 sati na 37 °C. Nakon završetka inkubacije broje se kolonije od svijetlo crveno ljubičastih do crvenih te do smeđih. Nacijepi se količina uzorka s očekivanim brojem kolonija između 100 i 10, a očitava se filter papir sa najviše 200 kolonija. Tri do pet kolonija ispita se potvrdnim testom (HRN EN ISO 7899-2).

4. REZULTATI I RASPRAVA

Na području Virovitičko-podravske županije analizirana je voda iz plitkih bunara. Voda se analizirala na osnovu mikrobioloških parametara: broj kolonija bakterija na 22 i 37 °C, ukupni koliformi, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*. Ispitani uzorci voda su se klasificirali kao mikrobiološki ispravni ili mikrobiološki neispravni. U ispitivanju su rađene analize iz 5 bunara od kojih se 2 ne koriste (bunar 2 i 5) i 3 se koriste (bunar 1, 3 i 4).

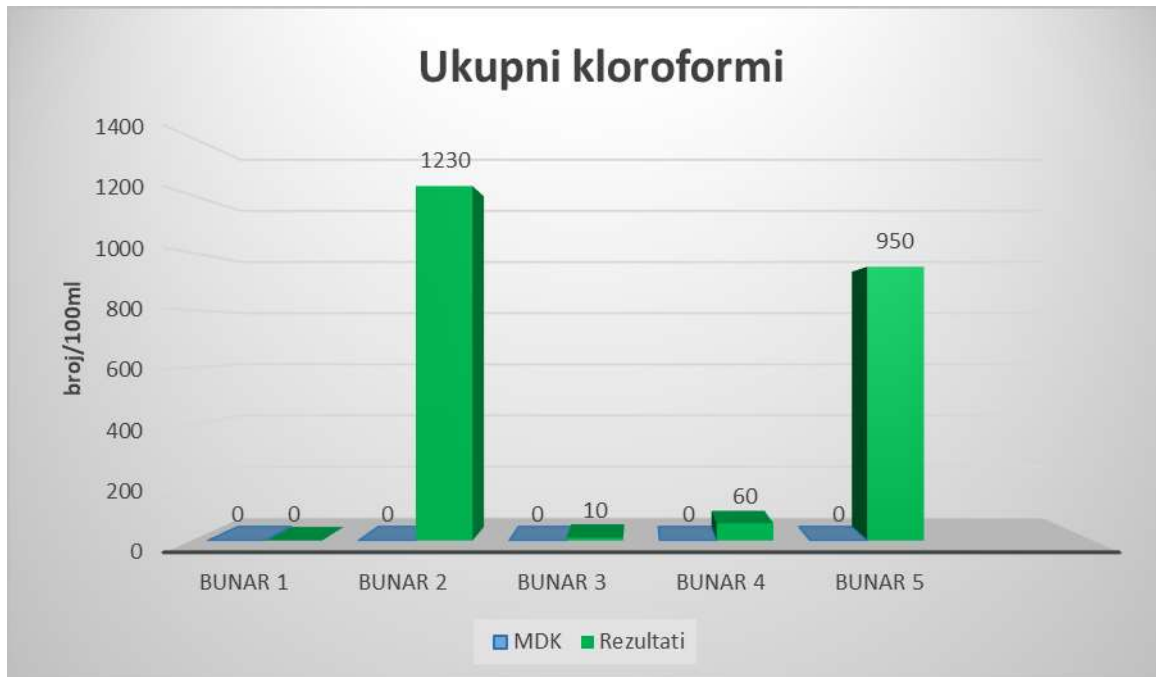
Ukupan broj bakterija u 1 mL uzgajan na 22 i 37 °C povećan je u 3 uzorka bunarske vode, dok su kloroformne bakterije prisutne u 4 uzoraka bunarske vode. Bakterija *Pseudomonas aeruginosa* pronađena je u 3 uzorka bunarske vode, dok je *Escherichia coli* pronađena u 3 uzorka. Od ukupno analiziranih voda mikrobiološki neispravno je oko 90 % bunarske vode, a takav postotak je velik zbog neadekvatnog održavanja bunara te neposredna blizina staja i septičkih jama koji time predstavljaju zdravstveni rizik.



Slika 9. Rezultati određivanja bakterije *Escherichia coli*

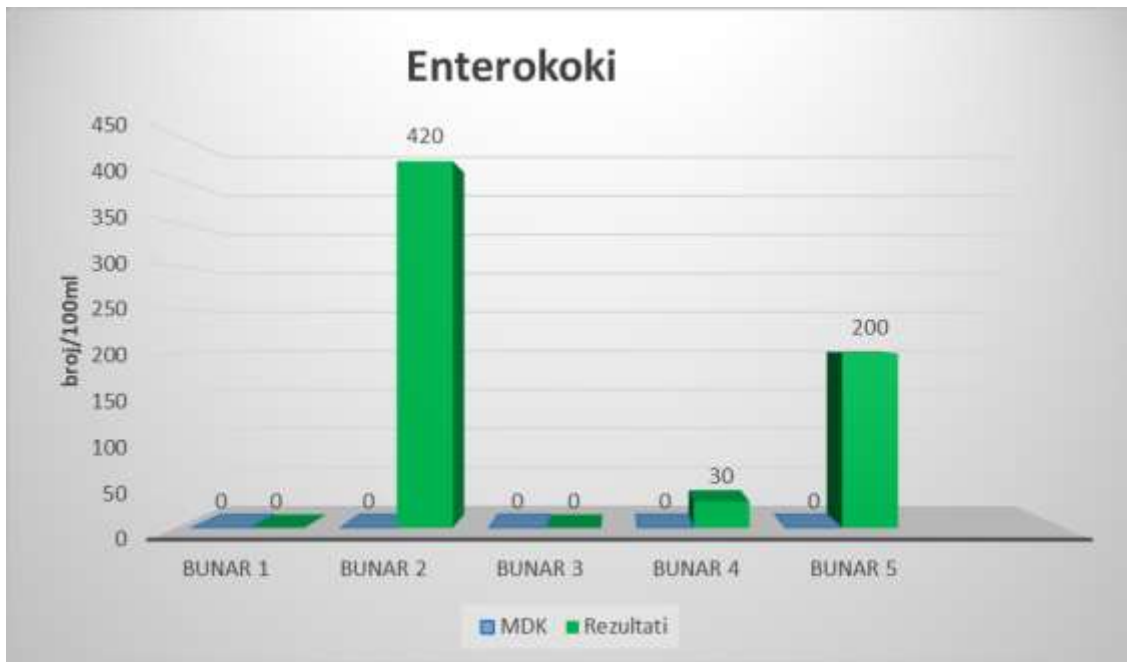
Na slici 9 su prikazani rezultati određivanja bakterije *Escherichia coli* u plitkim bunarima (5 uzoraka). Mikrobiološka analiza koja je prikazana grafički je pokazala kako se najveći broj bakterija nalazi u bunaru 2, te nešto manji u bunaru 5, te se može vidjeti kako oni prelaze MDK vrijednosti čime je i potvrđeno kako su bunari 2 i 5 oni koji se ne koriste u

potrošnji vode. Bunar 4 koji se koristi također ima povišenu količinu bakterije u vodi, najvjerojatniji uzrok povišenja je neposredna blizina staje i septičke jame. U bunaru 1 i 3 nisu pronađene bakterije one ne prelaze MDK.



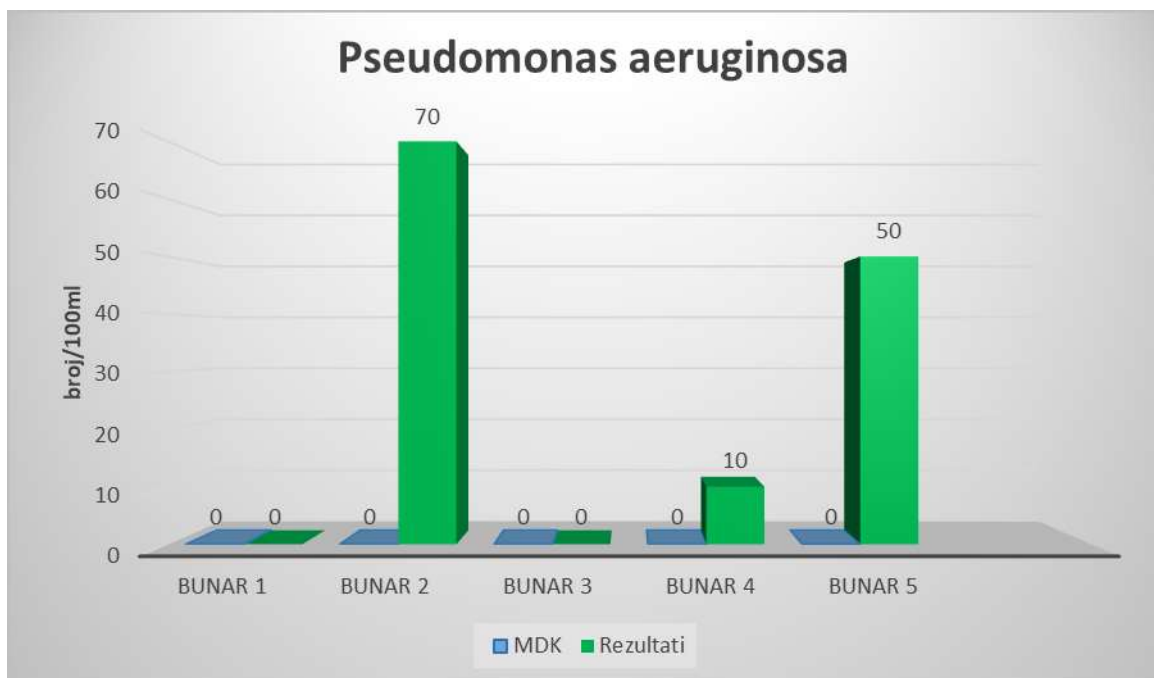
Slika 10. Rezultati određivanja ukupnih koliforma.

Na slici 10 su prikazani rezultati analize određivanja ukupnih koliforma (5 uzoraka). Mikrobiološka analiza koja je prikazana grafički je pokazala kako se najveći broj koliforma nalazi u bunaru 2, te nešto manji u bunaru 5, te oni prelaze MDK, čime je i potvrđeno kako su bunari 2 i 5 oni koji se ne koriste u potrošnji vode. U bunaru 1 nije pronađena niti jedna bakterija što odgovara MDK. U bunaru 3 i 4 je pronađena povišena količina bakterija koja prelazi MDK. Bunari 3 i 4 se koriste a najvjerojatniji uzrok povišenja je blizina septičkih jama.



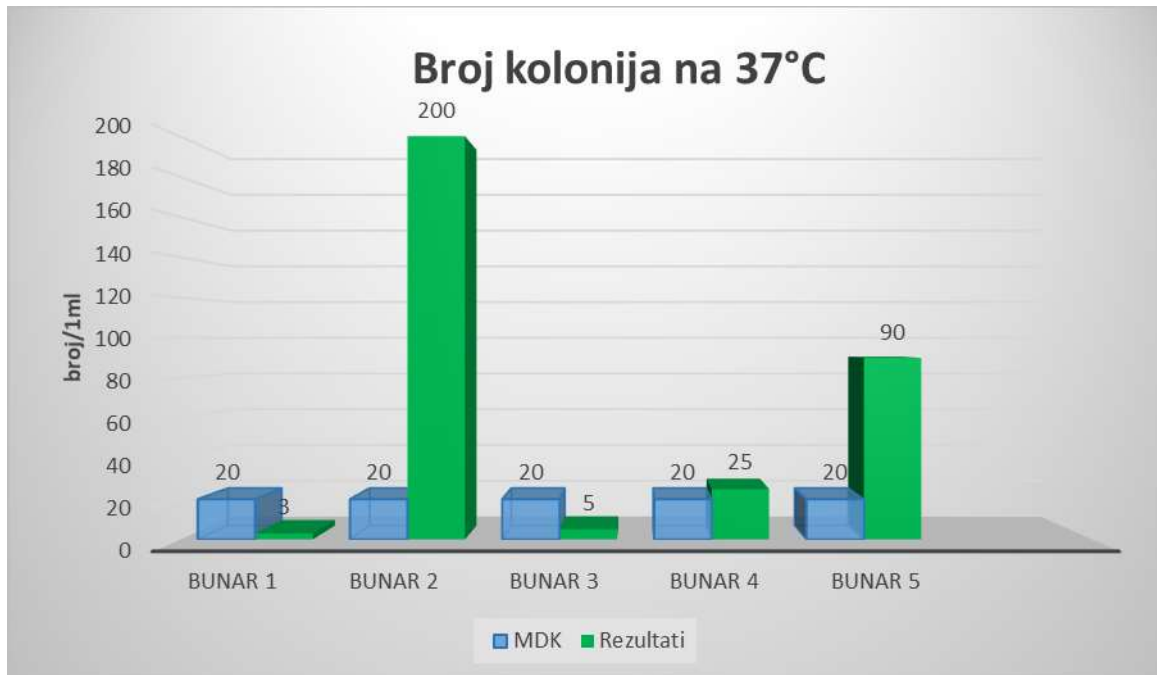
Slika 11. Rezultati određivanja enterokoka

Na slici 11 su prikazani rezultati analize određivanja enterokoka. Ovdje se vidi kako je najveći broj Enterokoka također pronađen u bunaru 2 i nešto manji u bunaru 5, oba bunara prelaze maksimalnu dopuštenu koncentraciju te se i iz ovog grafičkog prikaza vidi da ti bunari nisu u upotrebi. U bunaru 1 i 3 nisu pronađene bakterije što odgovara MDK.

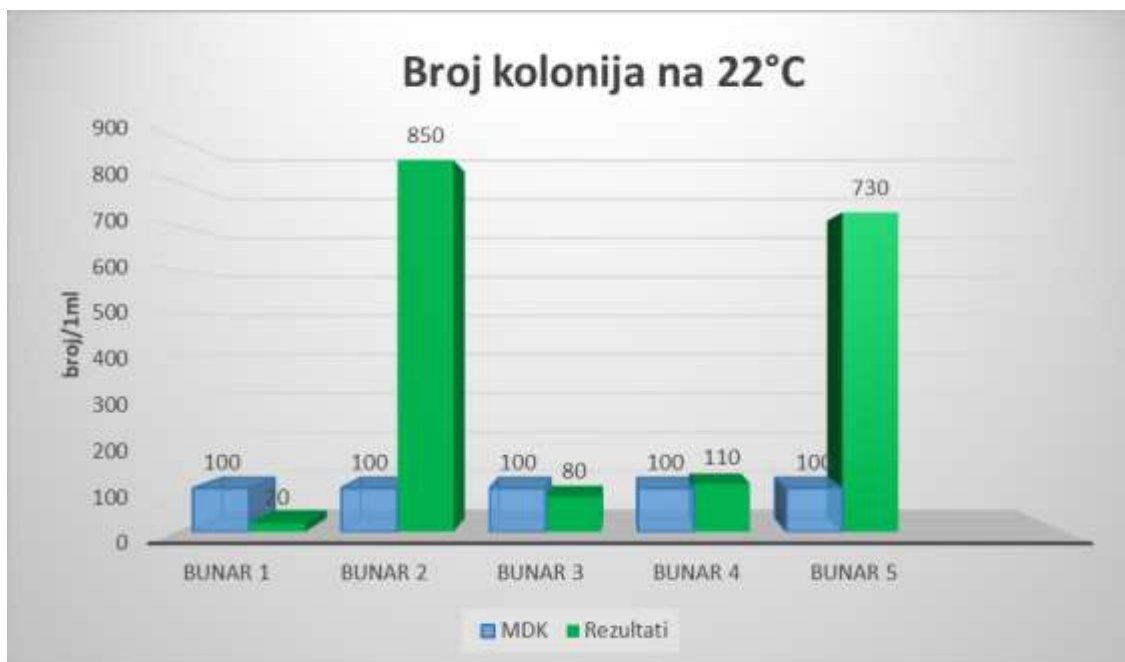


Slika 12. Rezultati određivanja bakterije *Pseudomonas aeruginosa*.

Na slici 12 su prikazani rezultati analize bakterije *Pseudomonas aeruginosa* (5 uzoraka). Mikrobiološka analiza prikazana grafički je pokazala kako se najveći broj *Pseudomonas aeruginosa* nalazi u bunaru 2 i 5 gdje on premašuje maksimalnu dopuštenu koncentraciju . U bunaru 4 je pronađeno 10 bakterija / 100 ml vode, a MDK je 0. Dok u bunaru 1 i 3 nije pronađena niti jedna bakterija što odgovara MDK.



Slika 13. Rezultati analize broja kolonija na 37 °C



Slika 14. Rezultati analize broja kolonija na 22 °C.

Na slici 13 i 14 su prikazani rezultati određivanja ukupnog broja kolonija na 37 °C i 22 °C. Vidi se kako je najveći broj kolonija pronađen u bunaru 2 i 5 (bunari koji se ne koriste) i u oba slučaja on premašuje MDK koja je 100. U bunaru 4 je pronađeno nešto malo više bakterija od maksimalne dopuštene količine (MDK), dok je u bunarima 1 i 3 voda odgovara MDK vrijednostima iz Pravilnika o parametrima sukladnosti, metodama analize, monitoringu i planovima sigurnosti vode za ljudsku potrošnju te načinu vođenja registra pravnih osoba koje obavljaju djelatnost javne vodoopskrbe (NN broj 125/17).

5. ZAKLJUČAK

- U svim uzorcima je pronađen porast broja kolonija na 37 °C i 22 °C, ali samo u 3 uzorka ono prelazi MDK vrijednosti (bunar 2, 4 i 5).
- U 4 od 5 uzoraka (bunar 3, 2, 4 i 5) je pronađena povišena količina ispitivanih bakterija. Od toga se 2 ne koriste (bunar 2 i 5), i 2 koriste (bunar 3).
- Pošto se bunar 4 koristi a voda nije mikrobiološki zdravstveno ispravna, preporuka je dezinfekcija vode u tom bunaru.
- Bunar 4 se nalazi u neposrednoj blizini staja i septičkih jama te nije dovoljno zaštićen od vanjskih onečišćenja što je utjecalo na onečišćenje vode u njemu.
- Bunar 3 ima povišenu razinu kloroformnih bakterija (dopuštena MDK 0 rezultati 10) što znači da voda nije mikrobiološki ispravna te se preporuča prestanak korištenja vode za piće dok se ne obavi dezinfekcija.
- U bunaru 1 voda je mikrobiološki zdravstveno ispravna te se ta voda može nastaviti koristiti.

6. LITERATURA

- 1) Delaš, F., Duraković, L. i Duraković, S. (2002) *Moderna mikrobiologija namirnica*, knjiga druga. Zagreb: Kugler.
- 2) Duraković, S., Duraković, L. (1997) *Priručnik za rad u mikrobiološkom laboratoriju*, I.dio-knjiga prva. Zagreb: Biblioteka udžbenici i priručnici Sveučilišta u Zagrebu
- 3) Duraković, S. (1996) *Primijenjena mikrobiologija*. Zagreb: Prehrambeno tehnološki inženjering.
- 4) Duraković, S. (1996) *Opća mikrobiologija*. Zagreb: Prehrambeno tehnološki inženjering.
- 5) Geek.hr, URL: <https://geek.hr/znanost/clanak/statistika-rezerva-vode-na-zemlji/>, [pristup: 6.6.2019.]
- 6) Gjirlić, T. (2016) *Antropogena onečišćenja u vodi za piće i njihov utjecaj na zdravlje*, Diplomski rad, Zagreb, Sveučilište u Zagrebu
- 7) Hrvatska enciklopedija, URL: <http://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?id=26314>, [pristup: 10.6.2019.]
- 8) Interni priručnik zavoda za javno zdravstvo Sv.Rok Virovitica.
- 9) Kraševac, M. (2016) *Određivanje kationa u prirodnim vodama elektroforezom na mikročipu sa C 4D detektorom*. Diplomski rad. Osijek: Sveučilište J.J. Strossmayera.
- 10) Mayer, D. (2004) *Voda, od nastanka do upotrebe*. Zagreb: Prosvjeta.
- 11) Ministarstvo zdravlja, Pravilnik o parametrima sukladnosti i metodama analize vode za ljudsku potrošnju (NN 56/2013, 2013), URL: http://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2013_10_125_2694.html, [pristup: 08.09.2019.]
- 12) Norma: HRN EN ISO 7899-2
- 13) Norma: HRN EN ISO 16266, 2008
- 14) Norma: HRN EN ISO 9308-1, 2001
- 15) ODV CIS Vodič br.15 (2007) Zajednička strategija provedbe okvirne directive o vodama (2000/60/EC) Europske zajednice.
- 16) Pravilnik o zdravstvenoj ispravnosti vode za piće (NN 46/94).
- 17) Pravilnik o parametrima sukladnosti, metodama analize, monitoringu i planovima sigurnosti vode za ljudsku potrošnju te načinu vođenja registra pravnih osoba koje obavljaju djelatnost javne vodoopskrbe (NN broj 125/17).
- 18) Privatni praktikum zavoda za javno zdravstvo Sv. Rok Virovitica.

- 19) Skole.hr, URL: http://www.skole.hr/dobro-je-znati/osnovnoskolci?news_id=14511
[pristup: 06.06.2019.]
- 20) Šobot, S. (1996) *Osiguranje kvalitete rada kod mikrobiološkog ispitivanja voda*.
XXIII, Stručni sastanak (zbornik radova), Hrvatsko farmaceutsko društvo, Stubičke
Toplice.
- 21) Zakon o vodi za ljudsku potrošnju (NN 56/13, 64/15, 104/17, 115/18).

POPIS SLIKA:

- Slika 1. Način prenošenja patogena na čovjeka putem vode
- Slika 2. Plitki bunari koji se danas koriste (lijevo) i ne koriste (desno)
- Slika 3. Uređaj za membransku filtraciju
- Slika 4. Sterilizacija pomoću 96 % alkohola
- Slika 5. Spaljivanje alkohola
- Slika 6. Postavljanje sterilnog membranskog filtera
- Slika 7. Nacjepeljivanje membranskog filtra na petrijevu zdjelicu
- Slika 8. Porasle kolonije *Escherichia coli* i koliformnih bakterija na endo agaru
- Slika 9. Rezultati određivanja bakterije *Escherichia coli*
- Slika 10. Rezultati određivanja ukupnih koliforma
- Slika 11. Rezultati određivanja bakterije enterokoka
- Slika 12. Rezultati određivanja bakterije *Pseudomonas aeruginosa*
- Slika 13. Rezultati određivanja broja kolonija na 37 °C
- Slika 14. Rezultati određivanja broja kolonija na 22 °C

POPIS FORMULA:

1. Formula za izražavanje procjenjenog broja kolonija
2. Formula za određivanje CFU vrijednosti na osnovu broja poraslih kolonija

POPIS KRATICA I SIMBOLA:

Postotak - %

Kubični metar - km³

Kvadratni centimetar - cm²

Metar – m

Milimetar – mm

Nanometar – nm

Mililitar – ml

Sat – h

Stupanj Celzijus - °C

Ion natrija - Na⁺

Ion kalija - K⁺

Ion kalcija - Ca⁺

Ion magnezija - Mg⁺

Bikarbonatni ion - HCO₃⁻

Nitratni ion - NO₃⁻

Sulfatni ion - SO₄²⁻

Ion klora - Cl⁻

Ion amonijaka - NH₄⁺

Željezo - Fe

Mangan - Mn

Aluminij - Al

Nikal - Ni

Cink - Zn

Bakar - Cu

Krom - Cr

Sumpor - S

Klor - Cl

Kobalt - Co

Bor - B

Kadmij- Cd

Molibden - Mo

Maksimalno dopuštena koncentracija - MDK

Biokemijska potrošnja kisika - BPK

Most probable number (Određivanje najvjerojatnijeg broja) - MPN

Ultraljubičasto (eng. Ultraviolet) - UV

IZJAVA O AUTORSTVU RADA

Ja, **Elizabeta Matic**, pod punom moralnom, materijalnom i kaznenom odgovornošću, izjavljujem da sam isključivi autor završnog rada pod naslovom **Mikrobiološka analiza vode iz plitkih bunara** te da u navedenom radu nisu na nedozvoljen način korišteni dijelovi tuđih radova.

U Požegi, 03.09.2019.

Elizabeta Matic
