

# MIKROBIOLOŠKA ANALIZA VODE IZ JAVNOG VODOVODA REPUBLIKE HRVATSKE

---

Žemlić, Lea

Undergraduate thesis / Završni rad

2018

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:112:936592>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-05**



**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



Lea Žemlič 1489/15

## MIKROBIOLOŠKA ANALIZA VODE IZ JAVNOG VODOVODA REPUBLIKE HRVATSKE

### *ZAVRŠNI RAD*

Požega, 2018. godina

VELEUČILIŠTE U POŽEGI  
POLJOPRIVREDNI ODJEL  
PREDDIPLOMSKI STRUČNI STUDIJ PREHRAMBENA TEHNOLOGIJA

**MIKROBIOLOŠKA ANALIZA VODE IZ JAVNOG  
VODOVODA REPUBLIKE HRVATSKE**

***ZAVRŠNI RAD***

IZ KOLEGIJA MIKROBIOLOGIJA HRANE

MENTOR: Helena Marčetić, dipl. ing.

STUDENT: Lea Žemlić

Matični broj studenta: 1489/15

Požega, 2018. godine

## SAŽETAK

Zadatak ovog završnog rada iz kolegija Mikrobiologija hrane bio je ispitati vodu iz javnog vodovoda sa područja cijele Hrvatske. Mikrobiološke analize provedene su u mikrobiološkom laboratoriju u Bioinstitutu d.o.o. U pedeset različitih uzoraka vode iz javnog vodovoda određivala se prisutnost aerobnih mezofilnih bakterija na 37 °C, aerobne mezofilne bakterije na 22 °C, *Escherichia coli* ukupni koliformi i *Enterococcus*. Analizom uzoraka vode iz javnog vodovoda, utvrđeno je da je većina ispitanih uzoraka mikrobiološki ispravna i odgovaraju maksimalno dopuštenim koncentracijama (MDK) prema zakonskoj regulativi.

Ključne riječi: voda iz javnog vodovoda, aerobne mezofilne bakterije

## SUMMARY

The main task of this final work in course Food Microbiology was to test water examples from public water system in whole Croatia. Microbiological analysis was carried out in laboratory of Bioinstitut d.o.o. In fifty different water samples from public water systems we had to determine presence of aerobic mesophile bacteria at 37 °C, aerobic mesophile bacteria at 22 °C, *Escherichia coli*, total coliforms and *Enterococcus*. It was determined that majority of tested samples are microbiologically correct and they correspond with maximum allowed limitations according to Legal regulations.

Key words: water from public system, aerobic mesophile bacteria

## Sadržaj

1. UVOD .....	1
2. PREGLED LITERATURE .....	2
2.1. Općenito o vodi .....	2
2.2. Voda za piće .....	3
2.3. Vrste voda za piće.....	5
2.4. Bakterije u vodi .....	6
2.4.1. Escherichia .....	6
2.4.2. Enterokoki .....	8
2.4.3. Ukupni koliformi.....	10
2.4.4. Aerobne mezofilne bakterije na 22 °C / 37 °C.....	10
3. MATERIJALI I METODE ISTRAŽIVANJA .....	12
3.1. Zadatak .....	12
3.2. Priprema hranjivih podloga .....	12
3.2.1. Priprema Yeast extract agar .....	13
3.2.2. Priprema Cromogenic coliform agar.....	14
3.2.3. Priprema Slanetz bartley agar .....	14
3.2.4. Priprema 0,1% peptonske otopine - Buffered peptone water.....	15
3.2.5. Priprema podloge Brilliant green bujona BG.....	15
3.2.6. Priprema laktoze s Durhmanovom cjevčicom .....	15
3.3. Određivanje aerobnih mezofilnih bakterija na 22 °C i 37 °C.....	16
3.4. Određivanje broja Escherichie coli.....	17
3.5. Određivanje ukupnih koliforma.....	18
3.6. Određivanje enterokoka.....	19
4. REZULTATI.....	21
5. RASPRAVA .....	25
6. ZAKLJUČAK .....	26
7. LITERATURA .....	27

## 1. UVOD

Voda je životni prostor za biljke i životinje, transportni medij, izvor i prenositelj energije, prijemnik i otpremnik nečistoća, sredstvo koje grije, hladi, pere, otapa, razrjeđuje, sredstvo za industrijsku i poljoprivrednu proizvodnju, prirodno i gospodarsko dobro i osnovni čimbenik gospodarskog i kulturnog razvoja. Voda je jedinstven i neprocjenjiv prirodni resurs, važno strateško i gospodarsko pitanje u svijetu.

Zalihe vode za piće smanjuju se zbog povećanja zagađenosti vode, rasta potrošnje vode, odnosno rasta populacije te, zbog neravnomjerne raspoređenosti na planeti. Problem se javlja i na mjestima gdje ima dovoljno količine pitke vode, ali nije prikladna za korištenje zbog sadržaja koji se nalazi u njoj. Zbog povećanja zagađenosti razvili su se različiti postupci za pročišćavanje otpadne vode u svrhu dobivanja vode koja je pogodna za ljudsku uporabu, za piće, pranje, navodnjavanje u poljoprivredi, industriji i za ostale potrebe (sport i rekreacija) (Voda i zdravlje, url).

Voda za piće zakonski je regulirana Zakonom o vodi za ljudsku potrošnju (NN 56/2013), Pravilnikom o parametrima sukladnosti i metodama analize vode za ljudsku potrošnju (NN 125/2013) i Pravilnikom o prirodnim mineralnim, prirodnim izvorskim i stolnim vodama (NN 81/2013).

U ovom radu opisane su analize koje su se vršile na pedesetak različitih uzoraka vode iz javnog vodovoda Republike Hrvatske. U pedeset uzoraka određivao se broj aerobnih mezofilnih bakterija na 22 °C i 37 °C, prisutnost *Escherichie coli*, ukupnih koliforma i enterokoka. Nakon završetka analize rezultati se uspoređuju sa propisanim vrijednostima MDK propisanim pravilnikom.

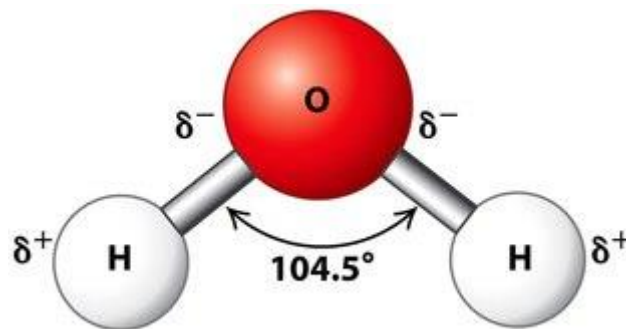
## 2. PREGLED LITERATURE

### 2.1. Općenito o vodi

Voda ( $H_2O$ ) je najvažniji kemijski spoj bez kojeg život na zemlji nije moguć. Voda je bitan sastojak živih organizama, te zauzima dvije trećine Zemljine površine. Voda se sastoji od dva atoma vodika i jednog atoma kisika (Slika 1) koji su međusobno povezani kovalentnom vezom. Molekula vode je polarna zbog razlike u elektronegativnosti između atoma kisika i vodika. Na Zemlji se nalazi oko 1,4 milijarde  $km^3$  vode, od kojih je tek oko 0,8 % od ukupne količine dostupno za ljudsku uporabu. Od ukupnih zaliha vode na zemlji 97,5 % otpada na slanu vodu, a 2,5 % na slatke vode u koje spadaju rijeke i jezera < 1 %, podzemne vode 30 %, te 69,9 % je zamrznuto na polovima (Hrvatska enciklopedija, url i Pejić, 2014: 2).

Voda se javlja u tri agregatna stanja:

- krutom (kao led)
- tekućem (kao voda)
- plinovitom (kao para)



Slika 1. Molekula vode (Polarnost, url)

Voda je esencijalni čimbenik života, sačinjava gotovo 70 % površine našeg planeta i oko 60 % našeg tijela, zbog čega je njezinu ravnotežu, kako oko nas, tako i u nama, iznimno važno održavati. Glavna je sastavnica našeg tijela i neophodan medij biokemijskih reakcija

našeg organizma. Direktno utječe na probavu, imunološki sustav, ispire toksine iz tijela, te održava ljudsko zdravlje (Internetska nutricionistička enciklopedija, url).

Voda je potrebna živim bićima jer donosi hranjive tvari iz organizma uklanja metaboličke otpade. Također sudjeluje u regulaciji temperature i procesu disanja, prenosi hranjive tvari (proteine, ugljikohidrate, vitamine i minerale) i kisik do svih stanica u tijelu, te održava kiselost organizma i tlak. Voda se dijeli na oborinske, površinske i podzemne vode (Voda, url).

Voda je izvanredno otapalo za niz biokemijskih spojeva i soli. Jedna od osobina vode je da otopljene tvari nosi za sobom. Prisutnost tih tvari ponekad je dobro za zdravlje čovjeka, a ponekad štetno pa ih je potrebno ukloniti. U vodi je otopljen veliki broj različitih tvari u usporedbi s bilo kojim drugim otapalom. Voda u prirodi nije kemijski čista jer otapa mineralne tvari iz tla. Mineralne tvari u tlu su; kalcijevi, magnezijevi i natrijevi kationi te hidrogenkarbonati. Mineralne tvari prirodnu vodu čine tvrdom vodom. Tvrda voda pri vrenju stvara netopljive produkte ( $\text{CaCO}_3$ ) koji slabo prenosi toplinu te oštećuje aparate koji koriste takvu vodu. Zbog tih produkata tvrda voda prije tehničkog korištenja mora se omekšati (Duraković, 2001: 334 i Voda, url).

## **2.2. Voda za piće**

Zdravstveno ispravnom vodom za piće smatra se voda koja nema okus, miris i boju što znači da ne sadrži mikroorganizme, parazite i njihove razvojne oblike u broju koji predstavlja opasnost za zdravlje ljudi, ne sadrži tvari u koncentracijama koje same ili zajedno s drugim tvarima predstavljaju opasnost za zdravlje ljudi. Voda ne smije sadržavati štetne tvari za zdravlje čovjeka te ne smije prelaziti parametre zdravstvene ispravnosti propisane pravilnikom (Pravilnik o parametrima sukladnosti i metodama analize vode za ljudsku potrošnju, NN 2013; 2015).

Voda za piće jest sva voda koja je u svojem izvornom stanju ili nakon obrade namijenjena za piće, kuhanje, pripremu hranu ili druge kućanske namjene, neovisno o njenom porijeklu te neovisno o tome da li se isporučuje razvodnim mrežama, cisternama ili bocama ili spremnicima kao i sva voda koju subjekti u poslovanju s hranom upotrebljavaju za proizvodnju, preradu, konzerviranje ili prodaju proizvoda ili tvari namijenjenih za konzumaciju ljudi (Pravilnik o zdravstvenoj ispravnosti vode za piće, NN 47/2008).



Ispitivanje zdravstvene ispravnosti vode za piće na temelju monitoringa i reprezentativnog broja uzoraka obuhvaća:

- vodu na izvorištu prije procesa obrade i ako se direktno koristi kao voda za piće
- vodu nakon procesa obrade, odnosno dezinfekcije
- vodu u spremniku vode za piće
- vodu u razvodnoj mreži
- vodu na mjestu potrošnje
- vodu u ambalaži.

Nova epidemiološka i mikrobiološka saznanja pokazala su da se do sada premalo značaja pridavalo važnosti izvedbe sanitarnog razvoda. Važno je da se kvaliteta vode zadrži do glavnog vodomjernog priključka na predmetnu građevinu, te da se naknadnim sanitarnim razvodom njena kvaliteta ne umanjuje. Obično je način priključka definiran od strane vodoopskrbne tvrtke. Kvalitetu vode do vodomjera provjerava vodoopskrbna tvrtka, a nakon vodomjera kvaliteta je u nadležnosti korisnika instalacije.

Temperatura vode s gledišta higijenskih zahtjeva kritičan je parametar, budući da ona značajno utječe na rast i razvoj patogenih mikroorganizama u vodi. Iz toga razloga je izoliranje cijevnog razvoda neophodno, kako ne bi došlo do međusobne izmjene topline, odnosno do „klizanja“ temperature vode u nepovoljni režim. Prema normama, temperatura hladne sanitarne vode određena je s 25 °C uz općenitu preporuku su da bi se temperatura vode trebala držati što je moguće niže kako bi se izbjegla svaka opasnost od razmnožavanja patogenih mikroorganizama (Tehničke mjere za sprječavanje razmnožavanja bakterija u sustavima s toplom vodom, url).

Za određivanje količina pojedinih mikrobioloških pokazatelja potrebno je koristiti akreditirane analize; za *Escherichiu coli* i koliformne bakterije (HRN EN ISO 9308-1), Enterokoke (HRN EN ISO 7899-2), Brojenje uzgojenih mikroorganizama – Broj kolonija na 22 °C (HRN EN ISO 6222), Brojenje uzgojenih mikroorganizama – Broj kolonija na 37 °C (HRN EN ISO 6222).

### 2.3. Vrste voda za piće

Voda za piće dijeli se na:

- Prirodna izvorska
- Prirodna mineralna
- Stolna voda
- Voda iz javnih vodoopskrbnih sustava

Prirodna izvorska voda namijenjena je konzumaciji u prirodnom stanju iz vodonosnika zaštićenog od onečišćenja. Prirodna izvorska voda mora udovoljavati mikrobiološkim zahtjevima, zahtjevima a nije podvrgnuta nijednom postupku obrade osim filtracije. Voda mora imati stalne konstante.

Prirodna mineralna voda je voda koja odgovara mikrobiološkim kriterijima, potječe iz vodonosnika, a zahvaća se iz izvora. Prirodna mineralna voda razlikuje se od vode za piće po svojstvima, sadržaju, količini mineralnih tvari, elementima u tragovima te po izvornoj čistoći. Svojstva prirodne mineralne vode očuvana su jer je zaštićena od onečišćenja.

U prirodnim mineralnim vodama vrše se geološka i hidrogeološka, fizikalna, kemijska, fizikalno-kemijska, mikrobiološka ispitivanja, a po potrebi farmakološka, fiziološkog i kliničkog ispitivanja, u ljekovite svrhe u termalnim i hidrotermalnim objektima. U prirodnim mineralnim vodama najčešće se javljaju ionske komponente kationa kalcija ( $\text{Ca}^{2+}$ ), magnezija ( $\text{Mg}^{2+}$ ), natrija ( $\text{Na}^+$ ) i kalija ( $\text{K}^+$ ), te anioni hidrogenkarbonati, bikarbonati ( $\text{HCO}_3^-$ ), sulfati ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) i kloridi ( $\text{Cl}^-$ ) (in Pharma, url).

Stolna voda je voda za ljudsku potrošnju prirodne mineralne i/ili prirodne izvorske vode. Stolna voda mora udovoljavati mikrobiološkoj i zdravstvenoj ispravnosti, kemijskim i indikatorskim parametrima vode u ambalaži. Stolnoj vodi dozvoljeno je dodavati natrijev klorid ( $\text{NaCl}$ ), kalcijev klorid ( $\text{CaCl}_2$ ), natrijev karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), natrijev hidrogenkarbonat ( $\text{NaHCO}_3$ ), magnezijev karbonat ( $\text{MgCO}_3$ ), natrijev sulfat ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), natrijev fluorid ( $\text{NaF}$ ) i ugljikov dioksid ( $\text{CO}_2$ ).

Voda iz javnog vodovoda namijenjena je ljudskoj potrošnji iz podzemnih i površinskih voda. Kod korištenja vode za javnu vodoopskrbu prednost ima voda kojoj nije potrebna dodatna obrada. Sva vodocrpilišta vode koja su namijenjena ljudskoj potrošnji, kao i vodoopskrbni objekti, moraju biti zaštićeni od slučajnog ili namjernog onečišćenja i drugih utjecaja koji mogu

ugroziti zdravstvenu ispravnost vode za ljudsku potrošnju. Vodi se ne smiju dodavati nikakve tvari osim onih koje zahtijeva postupak obrade ili dezinfekcije.

Voda za piće iz javnih vodoopskrbnih sustava ima promjenjiva fizikalno-kemijska svojstva koja ovise o raznim faktorima kao što su temperatura, količina oborina itd. Takve vode sadrže razne saprofitne mikroorganizme (rjeđe i one patogene) pa je potrebno vodu dezinficirati kemijskim sredstvima (klor i klorni preparati) da se uklone mikroorganizmi (Pravilnik o prirodnim mineralnim, prirodno izvorskim i stolnim vodama, NN 48/2015).

## 2.4. Bakterije u vodi

### 2.4.1. Escherichia

Rod *Escherichia* ima pet vrsta od kojih je *Escherichia coli* najznačajnija i najčešća. *Escherichia* je dio normalne crijevne flore, ali može biti povezana s infekcijama tkiva ili svakog organa. *Escherichia coli* je od svih enterobakterija najčešći uzročnik infekcija u čovjeka. *Escherichia coli* su kratki gram negativni štapići duljine 2 do 6  $\mu\text{m}$ , a širine 1 do 1,5  $\mu\text{m}$ . Većina *E. coli* su pokretne, mnogi sojevi imaju fimbrije (Kalenić, 2013: 186).



Slika 2. *Escherichia coli* (Pliva zdravlje, url)

*Escherichia coli* može preživjeti u vodi, zemlji i na različitom biološkom materijalu. Lako se i brzo razmnožava u hrani, osjetljiva je na uobičajene dezinficijense. Neki sojevi *E. coli* posjeduju čimbenike patogenosti, a neki sojevi imaju specifične čimbenike virulencije. Sojevi koji posjeduju specifične čimbenike virulencije nazivaju se patotipovima (Tablica 1) (Kalenić, S., 2013: 187)

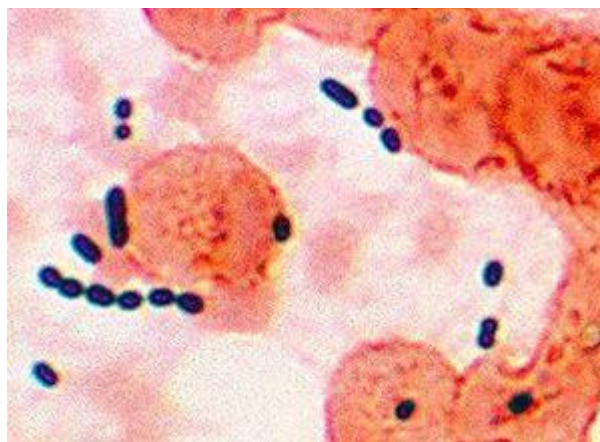
Tablica 1. Čimbenici virulencije pojedinih patotipova *Escherichia coli* (Kučišec et.al., 1994: 187)

PATOTIP	ČIMBENICI VIRULENCIJE	MJESTO DJELOVANJA I DOMAĆIN	BOLEST I DOMAĆIN
Eterotoksična <i>E. coli</i> (EPEC)	Kolonizacijski antigeni; termolabilni toksini (LT) i termolabilni toksin (ST) kodiran plazmidom	Tanko crijevo; čovjek, svinja, ovca, koza, govedo, konj, pas	Vodenasti proljev bez povišene temperature dojenčadi i male djece u zemljama u razvoju „proljeva putnika“
Enteropatogena <i>E. coli</i> (EPEC)	Specifični pili kodirani plazmidom; intimin	Tanko crijevo; čovjek, kunić, pas, mačka, konj	Vodenast proljev i povraćanje dojenčadi i male djece u zemljama u razvoju
Enteroagregativna <i>E. coli</i> (EAEC)	Fimbrije koje potječu bakterija. Na epitelu; plazmidni toksin	Tanko crijevo; čovjek	Vodenasti proljev bez povišene temperature dojenčadi i male djece u zemljama u razvoju „proljeva putnika“; može se razviti perzistentni proljev s povišenom temperaturom
Enteroinvazivna <i>E. coli</i> (EIEC)	Invazivni antigen kodiran plazmidom	Debelo crijevo; čovjek	Febrilnost, vodenast proljev koji može prijeći u dizenterični sindrom (krv u stolici), u zemljama u razvoju

Enterohemorrhagična <i>E. coli</i> (EHEC, STEC)	Pili u snopovima; intimin; Shiga-toksin 1 i 2 kodirani bakteriofagom	Debelo crijevo; čovjek, govedo, koza	Vodenasti proljev koji ubrzo prelazi u dizenterični sindrom (krv i sluz u stolici, grčevi); može se razviti hemolitičko-uremijski sindrom
Uropatogena <i>E. coli</i> (UPEC)	P-fimbrije, fimbrije tipa AAFI, AAFIII, Dr hemolizin	Mokraćni sustav; čovjek	Nekomplicirane infekcije mokraćnog sustava
K-1-pozitivna <i>E. coli</i> (MNEC)	Kapsula od polisijalične kiseline	Moždane ovojnice, čovjek	Neonatalni meningitis

#### 2.4.2. Enterokoki

*Enterococcus* su gram-pozitivni izduženi koki, na katalazu-negativni koki javljaju se pojedinačno u parovima ili u kratkim lancima. Svi članovi *Enterococcus* rastu na temperaturi 10 - 45 °C, tolerantni su na 6,5 % NaCl, rastu uz prisustvo visokih koncentracija žučnih soli razgrađuju glukozu, a ne stvaraju plin. Uglavnom su izduženog ili ovalnog oblika. Predstavnici roda su *E. faecalis*, *E. faecium* i nekoliko drugih koji se razlikuju po biokemijskim (Tablica 2) i drugim osobinama i najčešće se nalaze u čovjeku. Postoji najmanje 37 vrsta enterokoka (Kalenić, 2013: 140 i Kučišec et. al., 1994: 26).



Slika 3. *Enterococcus* (*Enterococcus*, url)

Enterokoki su sposobni za rast i preživljavanje u nepovoljnim uvjetima. Rasprostranjeni su u prirodi i mogu se naći u biljkama, tlu, vodi, hrani, životinjama. Dio su normalne crijevne flore čovjeka, rjeđe su u drugim mjestima kao što su genitourinarni sustav, usna šupljina i koža. Otporni su na mnogobrojne antibiotike. Enterokoki se smatraju najbrojnijim gram-pozitivnim kokcima koji se nastanjuju u čovjeku, najčešće izolirane bakterijske vrste podijeljene su u tri grupe temeljem njihovih svojstva (Kalenić, 2013: 141 i Kučišec et. al., 1994: 27).

Grupa I: *E. avium*, *E. malodoratus*, *E. raffinosus* i *E. pseudoavium*.

- Svojstva: stvaranje kiseline iz manitola, sorbitola i sorboze, te hidroliza arginina.

Grupa II: *E. faecalis*, *E. solitarius*, *E. faaecium*, *E. gallinarum*, *E. mundtii*, *E. caselifavus*

- Svojstva: stvaranje kiseline iz manitola i hidroliza arginina

Grupa III: *E. durans*, *E. hirae*

- Svojstva: hidroliziraju arginin, ne razgrađuju ugljikohidrate

Tablica 2 Biokemijska svojstva *Enterococcus* (Kučišec et. al., 1994: 27)

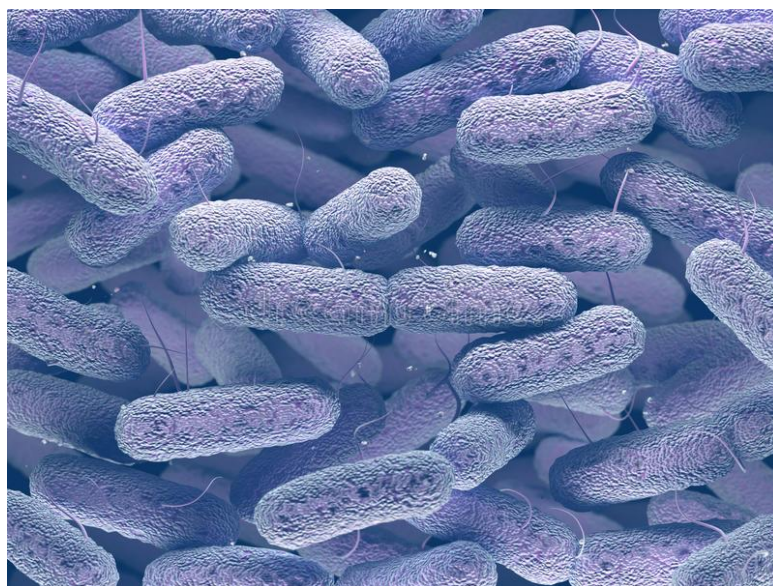
TEST	REAKCIJA
Rast u 6,5 % NaCl	+
Rast kod pH 9,6	+
Rast na 10 °C	+
Hidroliza arginina	+
Hidroliza hipurata	+
Hidroliza eskulina	+
Rast uz prisustvu žučnih soli	+
Test termorezistencije	+
Stvaranje kiseline iz manitola	+
Stvaranje kiseline iz sorbitola	-
Stvaranje kiseline iz sorboze	-

Legenda: + = 90 % i više sojeva daje pozitivnu reakciju

- = 0-10 % sojeva daje pozitivnu reakciju

### 2.4.3. Ukupni koliformi

Ukupni koliformi pripadaju rodu *Enterobacteriaceae* koji su gram-negativni (duljine 2-4  $\mu\text{m}$ , a širine 0,4 - 0,6  $\mu\text{m}$ ) štapići rašireni u prirodi, u probavnom sustavu ljudi i životinja, a mnogi od njih i u tlu i vodi. Ukupni koliformi su fakultativno anaerobi, vrlo brzo prilagode se različitim izvorima prehrane kao i na prisustvo ili odsustvo kisika. Optimalna temperatura za rast i razmnožavanje je 37 °C (Kalenić et. al., 2013: 183).



Slika 4. Koliformne bakterije (Enterobakterije, url)

Enterbakterije su otporne prema vanjskim čimbenicima, temperatura od 55 °C ubije ih za sat vremena, a temperatura od 60 °C ubije ih za 15 do 20 minuta. Dobro podnose niske temperature, osjetljive su na dezinficijense. Vrste enterobakterija identificiraju se nizom biokemijskih testova. To uključuje sposobnost fermentacije različitih ugljikohidrata, razgradnja aminokiselina, proizvodnja indola iz triptofana te iskorištavanje citrata kao izvor ugljika ili energije (Kalenić et. al. 2013: 184).

### 2.4.4. Aerobne mezofilne bakterije na 22 °C / 37 °C

Aerobne mezofilne bakterije su bakterije koje rastu i razmnožavaju se na 22 - 45 °C koje rastu uz prisustvo kisika, a optimalna temperatura rasta im se kreće u rasponu od 20 - 45 °C. optimalna temperatura većine ovih bakterija je 37 °C, što je i čovjekova tjelesna

temperatura. To znači da skupini aerobnih mezofilnih bakterija pripada većina patogenih vrsta bakterija (Maczulak, A. 2011: 494).



### 3. MATERIJALI I METODE ISTRAŽIVANJA

#### 3.1. Zadatak

Zadatak ovoga rada bio je:

- Odrediti broj aerobnih mezofilnih bakterija na 22 °C u vodi iz javnog vodovoda
- Odrediti broj aerobnih mezofilnih bakterija na 37 °C u vodi iz javnog vodovoda
- Odrediti *Escherichiu coli* u vodi iz javnog vodovoda
- Odrediti enterobakterije u vodi iz javnog vodovoda
- Odrediti ukupne koliforme u vodi iz javnog vodovoda

Nakon završetka analize dobiveni podatci usporedit će se sa propisanim vrijednostima iz tablice 3.

Tablica 3. Mikrobiološki pokazatelji preuzeti iz Pravilnika o zdravstvenoj ispravnosti vode za piće (Pravilnik o zdravstvenoj ispravnosti vode za piće, NN 47/2008)

Pokazatelj	Jedinice voda za piće	MDK	Jedinice voda u ambalaži
<i>Escherichia coli</i>	broj/100 ml	0	broj/250 ml
Enterokoki	broj/100 ml	0	broj/250 ml
Ukupni koliformi	broj/100 ml	0	broj/250 ml
Broj kolonija 22 °C	broj/1 ml	100	broj/1 ml
Broj kolonija 37 °C	broj/1 ml	20	broj/1 ml

#### 3.2. Priprema hranjivih podloga

Hranjive podloge pripremaju se u sterilnim prostorima gdje prevladavaju sterilni uvjeti. Prostorije u kojima se pripremaju hranjive podloge redovito se dezinficiraju alkoholom i raznim kemijskim sredstvima koja su propisana pravilnicima, a jednom mjesečno uključuju se UV lampe za sterilizaciju. Tijekom pripreme hranjivih podloga koristi se sterilni pribor i sterilna zaštitna odjeća.

Hranjive podloge stavljaju se u autoklav koji je izrađen od specijalnog čelika čiji je prostor ispunjen vodom koja pri visokim temperaturama i visokom tlaku prelazi u paru. Vrata autoklava zatvaraju se hermetički. Prilikom autoklaviranja potrebno je pratiti vrijeme, temperaturu i tlak da bi sterilizacija bila uspješna. Da li je sterilizacija bila uspješna pokazuje traka koja se stavlja na bočice hranjivih podloga, koja na visokoj temperaturi promijeni boju u crno što pokazuje da je sterilizacija uspješna.

Hranjive podloge potrebne za ispitivanje:

- *Yeast extract agar (YEA)*
- *Cromogenic Coliform agar (CCA)*
- *Slanetz Bartley agar (SA)*
- *0,1 % peptonska otopina (za razrjeđenje)*
- *Brilliant gree bile broth 2 %*
- *Laktoza s Durhmanovom cjevčicom*

### **3.2.1. Priprema Yeast extract agara**

U sterilnu staklenu bočicu od 500 ml ulije se malo destilirane vode u koju se doda 12 g praškaste dehidrirane podloge. Bočica sa vodom i praškom polukružno se okreće tako dugo dok se sav prašak ne otopi. Nakon što se prašak otopi bočica se napuni do odmjerne crte sa destiliranom vodom. Bočica se zatvori i stavi se autoklavirati na 121 °C 15 minuta. Nakon završetka autoklaviranja otopina se ohladi na 45 - 50 °C. pH podloge je  $7,2 \pm 0,2$ . Da bi se održala temperatura od 45 - 50 °C bočica sa otopinom drži se u vodenoj kupelji (YEA, url).



Slika 5. Dehidrirana podloga YEA (Izvor: autor)

### 3.2.2. Priprema Cromogenic coliform agara

U bočicu od 500 ml ulije se malo vode te se odvagne 37,9 g praškaste dehidrirane podloge. Sadržaj u bočici miješa se kružno tako dugo dok se prašak ne otopi. Kada se prašak otopi bočica se nadopuni do 500 ml zatvori se čepom i stavi se autoklavirati na 121 °C na 15 minuta. Nakon završetka autoklavliranja otopina se ohladi i toči se u petrijeve zdjelice. pH podloge je  $7,0 \pm 0,2$ . Nakon što se podloga stisne u petrijevim zdjelicama, one se pakiraju pomoću vakuum stroja i skladište se u hladnjaku na tamnom mjestu (CCA, url).

### 3.2.3. Priprema Slanetz bartley agara

U 1000 ml destilirane vode doda se 41,5 g praška dehidrirane podloge. Otopina se ne autoklavira, već se stavlja u masterklav gdje se kuha u Kohovom loncu. Nakon što se otopina skuha ona se ohladi i razlijeva se u petrijeve zdjelice. Potrebno je paziti na vrijeme kuhanja jer predugo kuhanje utječe na promjenu boje. pH podloge je  $7,2 \pm 0,1$ . Podloga je blago roze boje (SA, url).



Slika 6. Dehidrirana podloga SA (Izvor: autor)

#### **3.2.4. Priprema 0,1 % peptonske otopine - Buffered peptone water**

U 500 ml destilirane hladne vode otopi se 10 g dehidrirane podloge. Smjesa se miješa tako dugo dok se prašak ne otopi. Izmjeri se pH otopine, ukoliko pH ne odgovara propisanom onda je potrebno korigirati. Nakon korigiranja pH otopina ide na sterilizaciju. pH otopine je  $7,0 \pm 0,1$ . Otopina je prozirna do žućkasto obojena, skladišti se na sobnoj temperaturi (BPW, url).

#### **3.2.5. Priprema podloge Brilliant green bujona BG**

U 1000 ml destilirane vode otopi se 40 g dehidrirane podloge. Otopina se polukružno miješa tako dugo dok se prašak ne otopi. Nakon toga otopina se autoklavira na  $121\text{ }^{\circ}\text{C}$  15 minuta. Nakon završetka autoklavliranja otopina se ohladi izmjeri se pH i rastoči se u sterilne epruvete od 10 ml. Otopina je zeleno plave boje. Prilikom autoklavliranja potrebno je paziti na temperaturu ukoliko je temperatura viša od  $121\text{ }^{\circ}\text{C}$  podloga mijenja boju (BG, url).

#### **3.2.6. Priprema laktoze s Durhmanovom cjevčicom**

13 g dehidrirane otopine otopimo u 1000 ml hladne destilirane vode. Bočica sa otopinom zagrijava se tako dugo dok se prašak ne otopi. Nakon što se prašak otopi, u epruvetu

s Durhmanovom cjevčicom pomoću pipetora, odpipetira se 9 ml otopine i stavi se autoklavirati na 121 °C, 15 minuta. pH otopine je  $6,8 \pm 0,2$  (Lactose, url).

### **3.3. Određivanje aerobnih mezofilnih bakterija na 22 °C i 37 °C**

Potrebna hranjiva podloga: - Yeast extract agar ( YEA)

Potrebni pribor i materijal:

- Sterilizator
- Mikroskop
- Termostat 22 °C
- Termostat 37 °C
- Vodena kupelj
- Petrijeve ploče
- Sterilni štapić za razmazivanje
- Pipetori i nastavci od 0,1 ml i 1 ml
- Epruvete
- Boce od 500 ml
- Brojač kolonija
- Ultravioletna lampa (valne duljine 254 nm)

Postupak:

Ukoliko se uzorak za naciepljivanje odmah ne naciepi mora se pravilno skladištiti. Ispitivanje uzorka koji je uskladišten na temperaturi od 25 °C se mora izvršiti najkasnije 6 sati nakon uzorkovanja, a ako je uzorak uskladišten na temperaturi od 5 °C ispitivanje se mora izvršiti najkasnije 24 sata nakon uzorkovanja.

Prije naciepljivanja boce s uzorkom potrebno je promiješati laganim okretanjem (25 puta). Nakon što se uzorak promiješao, odpipetira se odgovarajuća količina uzorka (1 ml ili 0,1 ml) u petrijevu zdjelicu. Na uzorak se ulije 15 ml hranjive podloge koja se temperirala u vodenoj kupelji na 45 – 50 °C. Naciepljene ploče idu na inkubaciju na 37 °C na 48 sati i na 22 °C na 68 sati.

Nakon završetka inkubacije broje se kolonije. Broj mikroorganizama izračuna se po broju kolonija na pločama po ml uzorka. Za razmazivanje i zalijevanje potrebno je prilagoditi razrjeđenje s očekivanim brojem bakterija između 10 i 150 kolonija. Ukoliko ploča sadrži 4 -

10 kolonija potrebno je koristiti formulu za izračun. Kada je broj kolonija 1 - 3 rezultat se izražava < 4 / ml, kod brojeva sa više znamenki kada je zadnja znamenka < 5 broj se zaokružuje na nižu vrijednost, a ako je zadnja znamenka > 5 broj se zaokružuje na veću vrijednost (HRN EN ISO 6222).

### 3.4. Određivanje broja Escherichie coli

Potrebna hranjiva podloga: CCA

Potreban pribor i materijal:

- Uređaj za membransku filtraciju
- Membranski filteri veličine 47 - 50 mm, pore 0,45 µm
- Sterilizator
- Mikroskop
- Termostat 37 °C
- Termostat 45 °C
- Petrijeve zdjelice
- Brojač kolonija
- Ultravioletna lampa
- Pinceta
- 70 % alkohol

Postupak:

Prije filtriranja potrebno je promiješati uzorak u boci laganim okretanjem (25 puta). Uređaj za filtraciju sastoji se od lijevaka (volumen 500 ml) izrađenih od nehrđajućeg čelika, poroznog filtra i stativa. Prije početka filtracije potrebno je sa svake strane upaliti plamenik da se stvori sterilni prostor. Uređaj za filtraciju potrebno je dezinficirati tako da se popraska alkoholom i zapali plamenom. Nakon što se uređaj dezinficira na porozni filter stavi se filter papir veličine 47 - 50 µm, filter papir s jedne strane je bijeli, a s druge strane je rešetkast da se lakše izbroje kolonije.



Slika 7. Uređaj za membransku filtraciju (Oprema za filtriranje, url)

Na filter papir stavlja se lijevak i zatvara se. U lijevak se ulije 100 ml uzorka vode i filtrira se. Nakon završetka filtracije filter papir se pomoću sterilne pincete stavlja na hranjivu podlogu pri tome pazeći da ne nastane mjehurić zraka ispod filter papira. Petrijeve zdjelice se zatvaraju i okrenute naopako se stavljaju u termostat na 37 °C na 24 sata. Ukoliko nakon 24 sata nema pojave kolonija, petrijeve zdjelice se ostavljaju još 24 sata u termostatu.

Ukoliko se nakon drugih 24 sata pojave kolonije na CCA agaru, onda slijedi brojanje kolonija. Brojanje kolonija vrši se pomoću flomastera tako da se na poklopcu iznad kolonije stavi točkica ili pomoću žice za ezu tako da se kraj svake kolonije napravi ubod. Na CCA agaru broje se tamno plave boje do ljubičaste boje (*E. coli*, pozitivna b-D galaktozidaza i b-D blukorunozidaza) (HRN EN ISO 9308-1).

### 3.5. Određivanje ukupnih koliforma

Potrebna podloga: CCA

Potrebni pribor i materijal:

- Uređaj za membransku filtraciju
- Membranski filter papir veličine 47 – 50 mm, pora 0,45 µm
- Sterilizator
- Mikroskop
- Termostat

- Petrijeve ploče sa hranjivom podlogom
- Ultravioletna lampa
- Pinceta
- 70 % alkohol

Postupak:

Prije početka membranske filtracije potrebno je sa svake strane uređaja za membransku filtraciju upaliti plamenike da se stvore sterilni uvjeti. Nakon što se stvore sterilni uvjeti potrebno je alkoholom pošpricati lijevke za filtraciju i plamenikom spaliti da se dezinficira uređaj. Na filter pore stavlja se filter papir veličine 47 - 50  $\mu\text{m}$  i veličine pora 0,45  $\mu\text{m}$ . na filter papir stavi se lijevak i zatvori se. U lijevke se ulije 100 ml uzorka vode uključujući vakuum i vrši se filtracija.

Nakon završetka filtracije skidaju se lijevci i sa sterilnom pincetom uzima se filter papir i stavlja na hranjivu podlogu. Prilikom stavljanja papira na hranjivu podlogu potrebno je paziti da između filter papira i podloge ne nastane mjehurić zraka. Petrijeva zdjelica se zatvori, okrene naopako i stavi se na inkubiranje na 37 °C 24 sata. Ukoliko nakon 24 sata nema rasta bakterija inkubacija se produžuje na još 24 sata.

Na CCA agaru broje se kolonije roza do crvene boje. Oksidaza testom potvrđuju se koliformne bakterije (najmanje 10 kolonija roze do crvene boje). Na BG podlozi potvrđuje se oksidaza negativne bakterije (zamućenje s plinom u Durhmanovoj cjevčici prikazuje pozitivnu reakciju). Ukupne koliformne bakterije dobiju se tako da se zbrajaju koliformne bakterije i *E. coli* (HRN EN ISO 9308-1).

### 3.6. Određivanje enterokoka

Potrebna hranjiva podloga:

- SA
- Aesculin – azide agar
- 0,1 % peptonska otopina

Potreban pribor i materijal:

- Uređaj za membransku filtraciju
- Membranski filteri
- Sterilizator



- Mikroskop
- Termostat 37 °C
- Petrijeve ploče s hranjivom podlogom
- Sterilni štapić
- Pipetori
- Sterilne epruvete
- Pinceta
- 70 % alkohol

#### Postupak:

Prije membranske filtracije potrebno je upaliti plamenike da se stvori sterilni prostor, a zatim je potrebno dezinficirati uređaj za membransku filtraciju. Nakon dezinficiranja na filter pore stavlja se filter papir veličine 47 - 50 mm i veličine pora 0,45 µm. Prije filtracije uzorak vode potrebno je pomiješati laganim okretanjem (25 puta).

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

#### 4. REZULTATI

U tablici 4 prikazani su rezultati dobiveni ispitivanjem aerobnih mezofilnih bakterija na 22 ° i 37 ° C, a u tablici 5 prikazani su rezultati dobiveni za *Escherichiu coli*, ukupne koliforme i enterokoke.

Tablica 4. Rezultati dobiveni za aerobne mezofilne bakterije na 22 °C i 37 °C

BROJ UZORKA	DATUM UČITAVANJA	AEROBNE MEZOFILNE BAKTERIJE 37° C/ 1 ml	AEROBNE MEZOFILNE BAKTERIJE 22° C/ 1 ml
1.	04.04.2018.	Ø	Ø
2.	04.04.2018.	Ø	Ø
3.	04.04.2018.	5	Ø
4.	04.04.2018.	Ø	Ø
5.	04.04.2018.	3	Ø
6.	04.04.2018.	Ø	Ø
7.	04.04.2018.	Ø	Ø
8.	04.04.2018.	Ø	Ø
9.	04.04.2018.	Ø	6
10.	06.04.2018.	80	Ø
11.	06.04.2018.	Ø	Ø
12.	11.04.2018.	Ø	Ø
13.	11.04.2018.	2	Ø
14.	11.04.2018.	1	Ø
15.	11.04.2018.	1	Ø
16.	11.04.2018.	2	Ø
17.	11.04.2018.	Ø	1
18.	11.04.2018.	Ø	80
19.	11.04.2018.	3	Ø
20.	11.04.2018.	120	80
21.	11.04.2018.	Ø	1
22.	11.04.2018.	Ø	Ø

23.	11.04.2018.	15	10
24.	11.04.2018.	Ø	Ø
25.	11.04.2018.	Ø	Ø
26.	11.04.2018.	7	40
27.	11.04.2018.	Ø	Ø
28.	11.04.2018.	1	1
29.	11.04.2018.	Ø	Ø
30.	11.04.2018.	Ø	Ø
31.	11.04.2018.	8	Ø
32.	11.04.2018.	Ø	Ø
33.	11.04.2018.	2	Ø
34.	11.04.2018.	Ø	Ø
35.	11.04.2018.	6	Ø
36.	11.04.2018.	Ø	Ø
37.	11.04.2018.	Ø	Ø
38.	11.04.2018.	Ø	Ø
39.	11.04.2018.	300	Ø
40.	11.04.2018.	10	Ø
41.	11.04.2018.	1	6
42.	11.04.2018.	Ø	Ø
43.	17.04.2018.	Ø	Ø
44.	17.04.2018.	Ø	Ø
45.	19.04.2018.	55	100
46.	19.04.2018.	1	140
47.	25.04.2018.	Ø	Ø
48.	25.04.2018.	1	60
49.	25.04.2018.	Ø	Ø
50.	25.04.2018.	Ø	Ø

Tablica 5. Rezultati dobiveni za *Escherichiu coli*, ukupne koliforme i enterokoke.

BROJ UZORKA	DATUM UČITAVANJA	<i>E. COLI</i> 100 ml	UKUPNI KOLIFORMI 100 ml	ENTEROKOKI 100 ml
1.	04.04.2018.	Ø	Ø	Ø
2.	04.04.2018.	Ø	Ø	Ø
3.	04.04.2018.	Ø	Ø	Ø
4.	04.04.2018.	Ø	Ø	Ø
5.	04.04.2018.	Ø	Ø	Ø
6.	04.04.2018.	Ø	Ø	Ø
7.	04.04.2018.	Ø	Ø	Ø
8.	04.04.2018.	Ø	Ø	Ø
9.	04.04.2018.	Ø	Ø	Ø
10.	06.04.2018.	Ø	Ø	Ø
11.	06.04.2018.	Ø	Ø	Ø
12.	11.04.2018.	Ø	Ø	Ø
13.	11.04.2018.	Ø	Ø	Ø
14.	11.04.2018.	Ø	Ø	Ø
15.	11.04.2018.	Ø	Ø	Ø
16.	11.04.2018.	Ø	Ø	Ø
17.	11.04.2018.	Ø	Ø	Ø
18.	11.04.2018.	Ø	Ø	Ø
19.	11.04.2018.	Ø	Ø	Ø
20.	11.04.2018.	Ø	Ø	Ø
21.	11.04.2018.	Ø	Ø	Ø
22.	11.04.2018.	Ø	Ø	Ø
23.	11.04.2018.	Ø	Ø	Ø
24.	11.04.2018.	Ø	Ø	Ø
25.	11.04.2018.	Ø	Ø	Ø
26.	11.04.2018.	Ø	7	Ø
27.	11.04.2018.	Ø	Ø	Ø
28.	11.04.2018.	Ø	Ø	Ø
29.	11.04.2018.	Ø	Ø	Ø

30.	11.04.2018.	Ø	Ø	Ø
31.	11.04.2018.	Ø	Ø	Ø
32.	11.04.2018.	Ø	Ø	Ø
33.	11.04.2018.	Ø	Ø	Ø
34.	11.04.2018.	Ø	Ø	Ø
35.	11.04.2018.	Ø	Ø	Ø
36.	11.04.2018.	Ø	Ø	Ø
37.	11.04.2018.	Ø	Ø	Ø
38.	11.04.2018.	Ø	Ø	Ø
39.	11.04.2018.	-	-	-
40.	11.04.2018.	-	-	-
41.	11.04.2018.	Ø	Ø	Ø
42.	11.04.2018.	Ø	Ø	Ø
43.	17.04.2018.	Ø	Ø	Ø
44.	17.04.2018.	Ø	Ø	Ø
45.	19.04.2018.	Ø	36	36
46.	19.04.2018.	Ø	Ø	Ø
47.	25.04.2018.	-	-	-
48.	25.04.2018.	Ø	Ø	Ø
49.	25.04.2018.	-	-	-
50.	25.04.2018.	Ø	Ø	Ø

## 5. RASPRAVA

Zadatak ovog rada bio je napraviti mikrobiološku analizu vode iz javnog vodovoda. Analiza se radila na pedeset uzoraka iz cijele Hrvatske. U tablici broj 3 prikazani su mikrobiološki pokazatelji koji su propisani Pravilnikom o zdravstvenoj ispravnosti vode za piće (NN 47/2008), a u tablici 4 i 5 prikazani su rezultati dobiveni analizom. Mikrobiološka analiza radila se u mikrobiološkom laboratoriju u Bioinstitutu.

Prema pravilniku o zdravstvenoj ispravnosti vode za piće MDK za aerobne mezofilne bakterije na 37 °C iznosi 20. U dvadeset i jednom uzorku narasle su aerobne mezofilne bakterije. U četiri uzorka narasle su bakterije iznad MDK u rasponu od 20 do 300 bakterija, a u sedamnaest uzorka narasle su bakterije u granicama MDK.

Prema Pravilniku o zdravstvenoj ispravnosti vode za piće MDK za aerobne mezofilne bakterije na 22 °C iznosi 100. U dvanaest uzoraka pojavile su se kolonije. U jedanaest uzoraka broj kolonija je u granicama MDK, a u uzorku broj 46 naraslo je 140 kolonija što prelazi propisanu MDK.

Prema Pravilniku o zdravstvenoj ispravnosti vode za piće MDK za broj *Escherichie coli* je 0. U pedeset uzoraka ni u jednom nije narasla ni jedna kolonija. MDK za ukupne koliforme iznosi 0. U dva uzorka narasle su kolonije. U uzorku broj 26 naraslo je 7 kolonija, a u uzorku broj 45 naraslo je 36 kolonija. MDK za enterokoke iznosi 0. U uzorku broj 45 naraslo je 36 kolonija.

## 6. ZAKLJUČAK

Mikrobiološkom analizom dostavljenih uzoraka vode iz javnog vodovoda Republike Hrvatske ispitanim prema određenim parametrima može se zaključiti:

- Od pedeset uzoraka vode iz javnog vodovoda kod određivanja aerobnih mezofilnih bakterija na 37 °C većina uzoraka bila je u skladu sa MDK, dok je dvadeset i jedan uzorak prelazi MDK te su zdravstveno neispravni.
- Kod određivanja aerobnih mezofilnih bakterija na 22 °C od pedeset uzoraka vode iz javnog vodovoda u dvanaest uzoraka prelazilo je granicu MDK te se ti uzorci smatraju zdravstveno neispravni.
- Kod određivanja broja *Escherichie coli* u svih pedeset uzoraka nije porasla ni jedna kolonija što je u skladu s MDK.
- Kod određivanja ukupnih koliforma od pedeset uzoraka samo dva uzorka narasle su kolonije i njihov broj odstupao je od MDK i smatra se zdravstveno neispravnim.
- Kod određivanja enterokoka u pedeset uzoraka u samo jednom uzorku narasla je jedna kolonija te je time odstupila od MDK i smatra se zdravstveno neispravnim.

Prilikom odstupanja od MDK i zdravstvenim neispravnim i neprikladnim za potrošnju nadležno tijelo dužno je ograničiti isporuku vode, obavijestiti potrošače i dati im odgovarajuće preporuke, istražiti odstupanje parametara i provesti hitne mjere radi uklanjanja uzroka neispravnosti vode.

## 7. LITERATURA

1. Duraković, S. i Duraković, L. (2001) *Mikrobiologija namirnica i osnove dostignuća. Knjiga prva.* Zagreb: Kugler.
2. Kalenić, S. et. al. (2013) *Medicinska mikrobiologija.* Zagreb: Medicinska naklada.
3. Kemer, N. F. (2005) *Priručnik za vodu.* II. izdanje. Novi Sad: AMB grafika.
4. Kučišec-Tepeš, N. (1994) *Specijalna bakteriologija i odabrana poglavlja iz opće i specijalne mikologije.* Zagreb: Školska knjiga.
5. Maczulak, A. (2011) *Encyclopedia of microbiology* New York: Facts on file.
6. Pejić, S. (2014) *Prisutnost i uklanjanje mikroorganizama u vodama različitog podrijetla.* Preddiplomski rad. Osijek: Sveučilište J.J. Strossmayera.

### **Zakoni i pravilnici:**

7. Narodne novine (2013) *Zakon o vodi za ljudsku potrošnju.* Zagreb: Narodne novine d. d., 56, str. 1138
8. Narodne novine (2013) *Zakon o vodi za ljudsku potrošnju: Pravilnik o parametrima sukladnosti i metodama analize vode za ljudsku potrošnju.* Zagreb: Narodne novine d. d., 125, str. 2694
9. Narodne novine (2015) *Zakon o poljoprivredi: Pravilnik o prirodnim mineralnim, prirodnim izvorskim i stolnim vodama.* Zagreb: Narodne novine d.d., 48, str. 943

### **Mrežne stranice:**

10. Brilliant green URL: <http://www.biolifeit.com/public/cartellina-allegati-schede>  
[pristup: 01.06.2018.]
11. BPW URL: <http://www.biolifeit.com/public/cartellina-allegati> [pristup: 01.06.2018.]
12. Cromogenic coliform agar URL: <http://www.biolifeit.com/public> [pristup: 01.06.2018.]
13. Escherichia coli URL: <https://www.google.com/search?q=escherichia+coli&>  
[pristup: 01.06.2018.]
14. Enterococcus URL: <https://www.google.hr/search?q=enterococcus&rlz=1C1CAFA>  
[pristup: 01.06.2018.]
15. Hrvatska enciklopedija URL: <http://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?ID=65109>  
[pristup: 05.06.2018.]



16. inPharma. URL: <http://www.inpharma.hr/index.php/news/50/19/Prirodne-mineralne-vode>, [pristup: 06.06.2018.]
17. Internetska nutricionistička enciklopedija. URL: <https://definicijahrane.hr/voda-esencijalni-cimbenik-zivota/> [pristup: 29.05.2018.]
18. Koliformne bakterije URL: [https://www.google.hr/search?rlz=1C1CAFA\\_enHR](https://www.google.hr/search?rlz=1C1CAFA_enHR) [pristup: 01.06.2018.]
19. Lactose URL: <http://www.biolifeit.com/public/cartellina-allegati-schede> [pristup: 01.06.2018.]
20. Molekula vode URL: <https://www.google.hr/search?q=molekula+vode> [pristup: 01.06.2018.]
21. SA URL: <http://www.biolifeit.com/public/cartellina-allegati-schede-certificazioni> [pristup: 01.06.2018.]
22. Tehničke mjere za sprječavanje razmnožavanja bakterija u sustavima s toplom vodom. URL: [file:///C:/Users/User/Downloads/HV\\_96\\_2016\\_1](file:///C:/Users/User/Downloads/HV_96_2016_1), [pristup: 06.06.2018.]
23. Voda i zdravlje. URL: <http://alternativa-za-vas.com/index.php/clanak/article/voda-dragocjena-tekucina> [pristup: 01.06.2018.]
24. Voda. URL: <https://vodaizvorzivota.weebly.com/pitka-voda.html> [pristup: 05.06.2018.]
25. Voda. URL: <http://www.enciklopedija.hr/Natuknica.aspx?ID=65109> [pristup: 05.06.2018.]
26. YEA URL: <http://www.biolifeit.com/public/cartellina-allegati-schede> [pristup: 05.06.2018.]

## **POPIS SLIKA**

Slika 1. Molekula vode

Slika 2. *Escherichia coli*

Slika 3. *Enterococcus*

Slika 4. Koliformne bakterije

Slika 5. YEA

Slika 6. SA

Slika 7. Uređaj za membransku filtraciju

## **POPIS TABLICA**

Tablica 1. Čimbenici virulencije pojedinih patotipova *Escherichia coli*

Tablica 2. Biokemijska svojstva *Enterococcus*

Tablica 3. Mikrobiološki pokazatelji preuzeti iz Pravilnik o zdravstvenoj ispravnosti vode za piće

Tablica 4. Rezultati dobiveni za aerobne mezofilne bakterija na 22 i 37 °C

Tablica 5. Rezultati dobiveni za *Escherichiu coli*, ukupne koliforme i enterokoke

## POPIS KRATICA I SIMBOLA

g – gram

µm – mikrometar

mm – milimetar

cfu – Colony forming unit

MDK – maksimalno dopuštena količina

NN – narodne novine

YEA – Yeast extract agar

SA - Slanetz bartley agar

CCA – Cromogenic coliform agar

## **IZJAVA O AUTORSTVU RADA**

Ja, **Lea Žemlić**, pod punom moralnom, materijalnom i kaznenom odgovornošću, izjavljujem da sam isključivi autor završnog rada pod naslovom **Mikrobiološka analiza vode iz javnog vodovoda Republike Hrvatske** te da u navedenom radu nisu na nedozvoljen način korišteni dijelovi tuđih radova.

U Požegi, 04.09.2018.

Ime i prezime studenta

---