

# Kvaliteta vode javnih kupališta grada Osijeka

---

Petrovicky Šveiger, Barbara

Master's thesis / Diplomski rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, FACULTY OF FOOD TECHNOLOGY / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:109:568911>

Rights / Prava: [Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](#)/[Imenovanje-Nekomercijalno-Dijeli pod istim uvjetima 4.0 međunarodna](#)

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

REPOZITORIJ

PTF

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

dabar  
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology Osijek](#)



**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU**  
**PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK**

**Barbara Petrovicky Šveiger**

**KVALITETA VODE JAVNIH KUPALIŠTA GRADA OSIJEKA**

DIPLOMSKI RAD

Osijek, prosinac, 2023.

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku  
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek  
Zavod za primijenjenu kemiju i ekologiju  
Katedra za ekologiju i toksikologiju  
Franje Kuhača 18, 31000 Osijek, Hrvatska

**Diplomski sveučilišni studij Prehrambene inženjerstvo**

**Znanstveno područje:** Biotehničke znanosti

**Znanstveno polje:** Prehrambena tehnologija

**Nastavni predmet:** Tehnologija vode i obrada otpadnih voda

**Tema rada** je prihvaćena na X. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2022./2023. održanoj 17. srpnja 2023.

**Mentor:** prof. dr. sc. Mirna Habuda-Stanić

**Komentor:** Danijela Bezik, mag. ing. biotechn.

Kvaliteta vode javnih kupališta Grada Osijeka  
*Barbara Petrovicky Šveiger, 0113129657*

**Sažetak:**

Voda se dijeli u dvije kategorije: podzemna i površinska. Površinske vode, kao što su potoci, rijeke, jezera i mora prirodna su staništa različitih biljaka, životinja i mikroorganizama. Javna kupališta su uređena mjesta uz rijeku ili jezero gdje stanovništvo tijekom ljetnih mjeseci provodi vrijeme koristeći vodno za rekreaciju i odmor. Pod utjecajem klimatskih i hidrometeoroloških čimbenika te antropološkim djelovanjem može doći do zagađenja voda prirodnih kupališta koje mogu postati prijatna zdravlju kupaca. U cilju osiguranja zdravlja kupaca, voda javnih kupališta mora udovoljavati propisanim zahtjevima Uredbe o kakvoći vode za kupanje (NN 51/2014). U ovom radu je uzorkovanjem i analizama utvrđena mikrobiološka kakvoća vode za kupanje javnih kupališta Grada Osijeka prema navedenoj Uredbi, u razdoblju od 22. svibnja do 4. rujna 2023. Na temelju rezultata ispitivanja mikrobioloških pokazatelja dana je pojedinačna i godišnja ocjena, a analizom fizikalno-kemijskih pokazatelja te statističkom obradom rezultata prikazana je njihova međusobna povezanost.

**Gljučne riječi:** javna kupališta, mikrobiološka kakvoća vode za kupanje, fizikalno-kemijski parametri

**Rad sadrži:** 52 stranice  
16 slika  
14 tablica  
38 literaturnih referenci

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Sastav Povjerenstva za ocjenu i obranu diplomskog rada i diplomskog ispita:**

- |    |                                   |               |
|----|-----------------------------------|---------------|
| 1. | prof. dr. sc. Dajana Gašo-Sokač   | predsjednik   |
| 2. | prof. dr. sc. Mirna Habuda-Stanić | član-mentor   |
| 3. | doc. dr. sc. Valentina Bušić      | član          |
| 4. | doc. dr. sc. Tihomir Kovač        | zamjena člana |

**Datum obrane:** 19.12.2023.

**Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u** Knjižnici Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek, Franje Kuhača 18, Osijek.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

University Josip Juraj Strossmayer in Osijek  
Faculty of Food Technology Osijek  
Department of Applied Chemistry and Ecology  
Subdepartment of Ecology and Toxicology  
Franje Kuhača 18, HR-31000 Osijek, Croatia

**Graduate program:** Food Engineering

**Scientific area:** Biotechnical sciences

**Scientific field:** Food technology

**Course title:** Water and Wastewater Treatment

**Thesis subject** was approved by the Faculty of Food Technology Osijek Council at its session no. X held on July 17, 2023.

**Mentor:** Mirna Habuda-Stanić, PhD, Full Professor

**Technical assistance:** Danijela Bezik, mag. ing. biotechn.

### **The quality of water on public baths of the city of Osijek**

*Barbara Petrovicky Šveiger, 0113129657*

#### **Summary:**

Water is classified into two categories: underground and surface water. Surface waters, such as streams, rivers, lakes and seas are natural habitats for various plants and organisms. Natural bathing areas are arranged places near river or lake where the population spends time during the summer months using the water body for recreation and rest. Under the influence of climatic and hydrometeorological factors as well as anthropological activities, water pollution in natural bathing areas can occur and become a threat to the health of bathers. In order to ensure the health of the users, the water in public swimming pools must comply with the prescribed requirements of the Regulation on the quality of bathing water (NN 51/2014). In this thesis, the microbiological quality of the water for bathing in the public baths of the City of Osijek is determined according to the Regulation (NN 51/2014) in the period from May 22 to September 4, 2023. Based on the results of the analysis, an individual and annual evaluation is given. Connection between physico-chemical and microbiological parameters was investigated through the analysis and statistical evaluation of data.

**Key words:** Natural bathing areas, microbiological quality of bathing water, physico-chemical parameters

**Thesis contains:** 52 pages  
16 figures  
12 tables  
37 references

**Original in:** Croatian

#### **Defense committee:**

- |  |              |
|--|--------------|
| 1. Dajana Gašo-Sokač, PhD, Full Professor    | chair person |
| 2. Mirna Habuda-Stanić, PhD, Full Professor  | supervisor   |
| 3. Valentina Bušić, PhD, Assistant Professor | member       |
| 4. Tihomir Kovač, PhD, Assistant Professor   | stand-in     |

**Defense date:** December 19, 2023

**Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in** Library of the Faculty of Food Technology Osijek, Franje Kuhača 18, Osijek.

*Zahvaljujem svojoj mentorici, prof. dr.sc. Mirni Habuda-Stanić na odvojenom vremenu, pomoći i ljubaznosti prilikom izrade ovog diplomskog rada.*

*Također zahvaljujem mojim kolegama u Službi za zdravstvenu ekologiju Nastavnog zavoda za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije na razumijevanju i podršci, a posebno Danijeli, Ines, Mariki, Marini, Brigiti, Tanji, Nini, Đurđici i Uraeli.*

*Najveće hvala mojoj obitelji na ljubavi, pomoći i razumijevanju.*

## Sadržaj

1. UVOD .....	2
2. TEORIJSKI DIO .....	4
2.1. UREDBA O KAKVOĆI VODA ZA KUPANJE (NN 51/2014) .....	5
2.2. MONITORING VODA ZA KUPANJE.....	5
2.3. OCJENA KAKVOĆE VODA ZA KUPANJE.....	6
2.4. KLASIFIKACIJA I STATUS VODA ZA KUPANJE.....	6
2.5. PROFILI VODA ZA KUPANJE.....	7
2.6. OPASNOSTI OD CIJANOBAKTERIJA.....	9
2.7. INFORMIRANJE JAVNOSTI O KAKVOĆI VODE ZA KUPANJE.....	9
2.8. MIKROBIOLOŠKI POKAZATELJI KAKVOĆE VODE ZA KUPANJE.....	9
2.8.1. <i>Escherichia coli</i> .....	10
2.8.2. Crijevni enterokoki.....	11
2.9. FIZIKALNO-KEMIJSKI POKAZATELJI KAKVOĆE VODE ZA KUPANJE.....	11
2.9.1. Dušik i dušikovi spojevi.....	12
2.9.2. Ukupni fosfor i ortofosfati.....	14
2.9.3. pH.....	14
2.9.4. Cijanobakterije.....	15
3. EKSPERIMENTALNI DIO.....	17
3.1. ZADATAK.....	19
3.2. UZORKOVANJE VODE ZA KUPANJE.....	19
3.3. MIKROBIOLOŠKA ANALIZA VODE ZA KUPANJE.....	20
3.3.1. Metoda membranske filtracije.....	20
3.3.2. Određivanje <i>Escherichia coli</i> metodom membranske filtracije.....	21
3.3.3. Određivanje crijevnih enterokoka metodom membranske filtracije.....	23
3.4. FIZIKALNO–KEMIJSKA ANALIZA VODE ZA KUPANJE.....	25
3.4.1. Određivanje koncentracije ukupnog dušika na analizatoru ukupnog dušika s kemiluminiscentnim detektorom.....	25
3.4.2. Određivanje koncentracije amonijaka, nitrita i nitrata metodom ionske kromatografije.....	27
3.4.3. Određivanje koncentracije ukupnog fosfora i ortofosfata spektrofotometrijski.....	30
3.4.4. Određivanje pH vrijednosti.....	31
3.5. ODREĐIVANJE CIJANOBAKTERIJA U VODI ZA KUPANJE.....	32
3.6. STATISTIČKA OBRADA REZULTATA.....	34
3.6.1. Spearmanov koeficijent korelacije .....	34
3.6.2. Percentili.....	36
4. REZULTATI I RASPRAVA .....	37

4.1. OCJENA KAKVOĆE VODE NAKON SVAKOG UZORKOVANJA.....	38
4.2. OCJENA KAKVOĆE VODE NAKON ZAVRŠETKA KUPALIŠNE SEZONE.....	39
4.3. KORELACIJA FIZIKALNO–KEMIJSKIH PARAMETARA S MIKROBIOLOŠKIM POKAZATELJIMA.....	40
5. ZAKLJUČCI .....	45
6. LITERATURA .....	48

## Popis oznaka, kratica i simbola

TN	Ukupni dušik
UP	Ukupni fosfor
OP	Ortofosfati
CE	Crijevni enterokoki
EC	<i>Escherichia coli</i>
TOC	Ukupni organski ugljik
LOQ	Granica kvantifikacije
CCA	Kromogen koliform agar
BEA	Bile aesculine azid agar, žučni eskulin-azid agar
m-E agar	Slantez-Bartley podloga
cfu	Colony-forming unit, broj poraslih kolonija
bik	Broj izraslih kolonija
MSA	Metensulfonska kiselina



## **1. UVOD**

Voda je prirodno dobro koje čovjek koristi za mnogobrojne namjene, a u prirodi se nalazi kao podzemna i površinska voda te u obliku leda. Površinske vode, kao što su potoci, rijeke, jezera i mora, prirodna su staništa različitih biljaka, životinja i mikroorganizama. Mikroorganizmi prisutni u prirodnim vodama pripadaju u raznolike skupine, a uz uobičajene vrste koje su prirodno prisutne u vodi (saprofiti) mogu se pronaći i mikroorganizmi iz tla, kanalizacije ili septičkih jama (Kotwzan i sur., 2006.).

Javna kupališta su uređena mjesta uz rijeku ili jezero gdje stanovništvo tijekom ljetnih mjeseci provodi vrijeme koristeći vodno tijelo za rekreaciju i odmor. U cilju osiguranja zdravlja korisnika, voda javnih kupališta mora udovoljavati propisanim zahtjevima Uredbe o kakvoći vode za kupanje (NN 51/2014).

Pod utjecajem klimatskih i hidrometeoroloških čimbenika te antropološkog djelovanja (poljoprivredne djelatnosti, uzgoj stoke, urbanizacija) može doći do zagađenja voda prirodnih kupališta koje mogu postati prijatna zdravlju kupaca.

Fizička kontaminacija vode podrazumijeva prisutnost suspendirane zemlje i pijeska što uzrokuje замуćenje vode. U takvu kontaminaciju se ubraja i tzv. "cvjetanje" algi te cijanobakterija, a pod utjecajem povišene temperature i visoke koncentracije nutrijenata (fosfata ili dušičnih spojeva), može doći do naglog rasta tih mikroorganizama.

Do kemijske kontaminacije može doći ulaskom organskih i anorganskih onečišćujućih tvari u vodu putem industrijskih otpadnih voda koje sadrže po zdravlje opasne kemijske tvari (teške metale, fosfate, nitrata, sumpornu kiselinu ili radioaktivne otpadne tvari).

Kontaminaciju vode mogu uzrokovati i mikroorganizmi podrijetlom iz ljudskog fecesa te mikroorganizmi iz pogona za preradu hrane, mesne industrije, medicinskih ustanova i slično. Najčešći mikrobiološki kontaminanti su koliformne bakterije, *Escherichia coli*, vrste iz roda *Enterobacter*, *Proteus* vrste, *Streptococcus*, *Pseudomonas* i anaerobne vrste bakterija koje proizvode plinove što vodi daje neugodan miris te alge i cijanobakterije. Cijanobakterije uzrokuju navedeno cvjetanje algi što dovodi do pomora riba te ostalih živih organizama i biljaka zbog pomanjkanja kisika u vodi (Frece i sur., 2015.).

Za populaciju zdravstveni rizik u vodi kupališta predstavljaju mikroorganizmi (bakterije, virusi i protozoe koji uzrokuju gastrointestinalne bolesti), geogeni čimbenici (npr. arsen, fluoridi i uranij) te kontaminanti iz komunalnih ili industrijskih otpadnih voda.

Cilj ovog rada je uzorkovanjem i analizama utvrditi mikrobiološku kakvoću vode za kupanje javnih kupališta Grada Osijeka prema Uredbi o kakvoći voda za kupanje (NN 51/2014). U tu su svrhu određeni mikrobiološki pokazatelji u sezoni kupanja, od 22. svibnja 2023. do 4. rujna 2023. godine: crijevni enterokoki i *Escherichia coli*. Na temelju rezultata ispitivanja navedenih mikrobioloških pokazatelja dana je pojedinačna i godišnja ocjena. Analizom fizikalno-kemijskih parametara (pH vrijednost, koncentracija nitrita, nitrata, ukupnog dušika, ukupnog fosfora i ortofosfata) i statističkom obradom rezultata istražiti će se njihova međusobna povezanost.

## **2.TEORIJSKI DIO**

## **2.1. UREDBA O KAKVOĆI VODA ZA KUPANJE (NN 51/2014)**

Uredbom o kakvoći vode za kupanje (NN 51/2014) propisuje se monitoring, klasifikacija voda za kupanje na površinskim vodama, upravljanje kakvoćom vode za kupanje i informiranje javnosti o kakvoći voda za kupanje u svrhu očuvanja, zaštite i poboljšanja kvalitete okoliša i zaštite zdravlja ljudi. Odredbe ove Uredbe se odnose na monitoring kakvoće vode za kupanje na površinskim vodama na kojima se očekuje veliki broj kupača, a za koje nije izdana trajna zabrana kupanja ni trajna preporuka da se kupanje izbjegava.

Mjere upravljanja kakvoćom vode za kupanje propisane Uredbom podrazumijevaju uspostavljanje i održavanje profila vode za kupanje, uspostavljanje kalendara monitoringa, monitoring voda za kupanje, ocjenjivanje kakvoće voda za kupanje, klasifikaciju voda za kupanje, određivanje i procjenjivanje uzroka onečišćenja koji bi mogli utjecati na vodu za kupanje i narušiti zdravlje kupača, informiranje javnosti, poduzimanje radnji kako bi se spriječilo izlaganje kupača onečišćenju te poduzimanje radnji kako bi se smanjio rizik od onečišćenja (Uredba o kakvoći vode za kupanje, NN 51/2014).

## **2.2. MONITORING VODA ZA KUPANJE**

Prije početka kupališne sezone, jedinica lokalne samouprave donosi odluku kojom se utvrđuju lokacije na kojima će se provoditi monitoring, trajanje sezone kupanja na površinskim vodama za kupanje, prikazuje ocjenu o kakvoći površinskih voda za kupanje za prethodnu sezonu kupanja te obavlja klasifikaciju za prethodne četiri sezone kupanja, izrađuje kartografski prikaz plaže te određuje profil voda za kupanje.

Monitoring kakvoće voda za kupanje obavlja ovlaštenu laboratoriju koji jedinici lokalne samouprave i Hrvatskim vodama dostavlja rezultate analiza u roku od sedam dana od završetka analiza. Također, ovlaštenu laboratoriju prije početka kupališne sezone treba izraditi i dostaviti Hrvatskim vodama kalendar monitoringa uz suglasnost jedinice lokalne samouprave. Uzorkovanje i analiza voda za kupanje trebaju započeti najkasnije u roku od četiri dana od dana utvrđenog u kalendaru (Uredba o kakvoći vode za kupanje, NN 51/2014). Jedan uzorak treba uzeti i analizirati najkasnije 10 dana prije početka sezone kupanja, a ukupan broj uzetih

i analiziranih uzoraka treba biti najmanje pet, odnosno tri, ukoliko sezona kupanja traje kraće od osam tjedana ili se nalazi na području podložnom posebnim geografskim ograničenjima.

Nacionalnom Uredbom je u pravni poredak Republike Hrvatske prenesena Direktiva o upravljanju kakvoćom vode za kupanje 2006/7/EZ, a za neke odredbe su propisani i stroži uvjeti. U **Tablici 1** prikazane su razlike između Uredbe NN 51/14 i Direktive 2006/7/EZ.

**Tablica 1:** Razlike između Uredbe NN 51/14 i Direktive 2006/7/EZ (Izvješće o kakvoći voda za kupanje na površinskim vodama u Republici Hrvatskoj u sezoni kupanja 2022. godine)

Odredba	Uredba NN 51/14	Direktiva 2006/7/EZ
Uzimanje predsezonskog uzorka	Najkasnije 10 dana prije početka sezone	Prije početka sezone kupanja (broj dana nije specificiran)
Min. broj uzoraka u sezoni (koja traje više od 8 tjedana)	5 (1 predsezonski + 4 u sezoni)	4 (1 predsezonski + 3 u sezoni)
Razmak između uzorkovanja	Ne više od 30 dana	1 mjesec + 4 dana
Broj uzoraka za zadnje razdoblje ocjenjivanja (1+3 sezone)	Min. 20 uzoraka	Min. 16 uzoraka

### 2.3. OCJENA KAKVOĆE VODA ZA KUPANJE

Ocjena kakvoće vode za kupanje načinjena je sukladno odredbama Uredbe o kakvoći vode za kupanje i obavlja se za svaku vodu za kupanje i za svaki uzorak uzet tijekom kupališne sezone, po završetku sezone kupanja te na temelju skupina podataka o kakvoći voda za kupanje prikupljenih za tu sezonu kupanja i za tri prethodne sezone kupanja. Skup podataka o kakvoći voda za kupanje treba sadržavati rezultate analiza najmanje 20 uzoraka.

### 2.4. KLASIFIKACIJA I STATUS VODA ZA KUPANJE

Laboratorijske analize uzoraka vode za kupanje uključuju ispitivanje mikrobioloških pokazatelja, crijevnih enterokoka i *Escherichia coli*. Po završetku analize rezultati se razvrstavaju u kategorije izvrsna, dobra ili nije zadovoljavajuća (**Tablica 2**). Na kraju kupališne

sezone, a na temelju skupa podataka o kakvoći vode prikupljenih za tu sezonu, rezultati se razvrstavaju u kategorije: nezadovoljavajuće, zadovoljavajuće, dobre ili izvrsne (**Tablica 3**) (NN 51/2014).

**Tablica 2:** Standardi za ocjenu kakvoće voda nakon svakog ispitivanja (NN 51/2014)

Pokazatelj	Izvrсна	Dobra	Metoda ispitivanja
<b>Crijevni enterokoki (bik/100 ml)</b>	≤200	≤400	HRN EN ISO 7899-1 ili HRN EN ISO 7899-2
<b><i>Escherichia coli</i> (bik/100 ml)</b>	≤500	≤1000	HRN EN ISO 9308-1 ili HRN EN ISO 9308-3
Kada su vrijednosti bik/100 ml pojedinog pokazatelja više od vrijednosti navedenih u 3.stupcu smatra se da je došlo do kratkotrajnog onečišćenja i da kakvoća vode nije zadovoljavajuća			

**Tablica 3:** Standardi za ocjenu kakvoće voda na kraju sezone kupanja i za prethodne tri sezone kupanja (NN 51/2014)

Pokazatelj	Izvrсна	Dobra	Zadovoljavajuća	Nezadovoljavajuća	Metoda ispitivanja
<b>crijevni enterokoki (bik/100 ml)</b>	≤200*	≤400*	≤330**	> 330**	HRN EN ISO 7899-1 ili HRN EN ISO 7899-2
<b><i>Escherichia coli</i> (bik/100 ml)</b>	≤ 500*	≤ 1000*	≤ 900**	>900**	HRN EN ISO 9308-1 ili HRN EN ISO 9308-3

bik – broj izraslih kolonija

(\*) Temeljeno na vrijednosti 95-og percentila

(\*\*)Temeljeno na vrijednosti 90-og percentila

## 2.5. PROFILI VODA ZA KUPANJE

Profil vode za kupanje treba sadržavati opis fizikalnih, hidroloških, hidromorfoloških i geografskih karakteristika vode za kupanje, procjenu mogućnosti proliferacije cijanobakterija,

lokaciju točke monitoringa te ocjenu kakvoće vode za kupanje. **Slika 1** prikazuje Obrazac profila vode za kupanje sa svim podacima koje isti mora sadržavati.

**Obrazac profila vode za kupanje (Obrazac PVK)**

Naziv plaže: .....

Lokacija: .....

Točke uzorkovanja: .....0

Geografske koordinate točke uzorkovanja: (° ‘ ‘’) λ (° ‘ ‘’) odnosno **xy**

Prirodna plaža: da ne

Uređena plaža: da ne

Tip plaže: s vegetacijom šljunčana stjenovita pješčana

Prosječna temperatura vode (za vrijeme sezone): .....

Klasificiranje vode na plaži: zadovoljavajuće dobro izvrsno nezadovoljavajuće

Prisustvo cijanobakterija: ne da (Tip..... Količina .....

Potencijalni izvori onečišćenja: otpadne vode drugi izvori

Procjena stupnja rizika onečišćenja: vrlo visok **visok** umjeren nizak vrlo nizak

Specifikacija tipa nečistoće .....

Vidljivo onečišćenje plaže: da ne

Učestalost i trajanje očekivanog onečišćenja

Postoji li na plaži sustav informiranja o kakvoći plaže? da ne

Postoje li metode upozoravanja u slučaju opasnosti na plaži? da ne

Pravna ili fizička osoba koja upravlja plažom ili jedinica lokalne samouprave:

Kontakt-osoba u slučaju iznenadnog onečišćenja:

Telefon: ..... Mobilni tel.:..... Faks: ..... e-mail:.....


Adresa: .....

Laboratorij u kojem se obavlja analiza: .....

Vidljivo onečišćenje: navesti vrstu i razmjer;

Mikrobiološki parametri: crijevni **enterokoki** (CE) i *Escherichia coli* (*E. coli*)

Napomena: U obrazac se svi podaci unose neizbrisivom tintom

 (Ctrl) ▾

**Slika 1:** Obrazac profila vode za kupanje

Ukoliko se procjeni da postoji opasnost od kratkotrajnog onečišćenja, profil treba sadržavati i sljedeće podatke: očekivanu narav, učestalost i trajanje očekivanog onečišćenja, detalje o ostalim uzrocima onečišćenja, uključujući i poduzete mjere upravljanja i vremenski plan za njihovo ukidanje. Ovisno o klasifikaciji vode za kupanje (dobre, zadovoljavajuće ili nezadovoljavajuće), profili voda za kupanje se moraju redovno preispitivati i po potrebi ažurirati. Učestalost preispitivanja prikazana je u **Tablici 4** (NN 51/2014).



**Tablica 4:** Učestalost preispitivanja profila voda za kupanje

Klasificirane vode za kupanje	»Dobra«	»Zadovoljavajuća«	»Nezadovoljavajuća«
Preispitivanje treba obaviti minimalno svake	četiri godine	tri godine	dvije godine

## 2.6. OPASNOSTI OD CIJANOBAKTERIJA

Ukoliko profil vode za kupanje ukazuje na mogućnost proliferacije cijanobakterija, potrebno je provesti monitoring radi identifikacije zdravstvenog rizika. U slučaju da dođe do proliferacije cijanobakterija, u najkraćem mogućem roku je potrebno poduzeti odgovarajuće mjere upravljanja. Monitoring vode za kupanje se obustavlja za vrijeme kiše, jakog vjetera ili pojave proliferacije cijanobakterija te se nastavlja po prestanku navedenih pojava.

## 2.7. INFORMIRANJE JAVNOSTI O KAKVOĆI VODE ZA KUPANJE

Jedinice lokalne samouprave moraju osigurati pružanje i dostupnost informacija o kakvoći vode za kupanje tijekom kupališne sezone na lako dostupnom mjestu u blizini vode za kupanje. Informacije moraju sadržavati trenutnu klasifikaciju voda za kupanje i svaku zabranu ili preporuku nekupanja te općenit opis voda za kupanje razumljiv javnosti. U slučaju kratkotrajnog onečišćenja, uz obavijest o kratkotrajnom onečišćenju potrebno je navesti broj dana tijekom kojih je kupanje bilo zabranjeno ili nije bilo preporučeno i upozorenje kad god se takvo onečišćenje predviđa ili je prisutno. Također, potrebno je navesti razloge kada je kupanje zabranjeno ili se ne preporuča, a u slučaju trajne zabrane kupanja ili preporuke nekupanja, važno je izdati obavijest da određeno područje kupališta ima kakvoću vode koja nije za kupanje i razlozi istih.

## 2.8. MIKROBIOLOŠKI POKAZATELJI KAKVOĆE VODE ZA KUPANJE

Prema morfologiji, većina mikroorganizama koji se prirodno nalaze u vodama nalik su bakterijama koje se nalaze u tlu. Broj bakterija u vodi ovisi o sadržaju organskih tvari. U čistim

vodama se nalaze u malom broju, dok se u zagađenim vodama mogu nalaziti u količini od nekoliko milijuna stanica u 1 ml vode. Bakterije koje se nalaze u vodi se mogu podijeliti u dvije skupine:

- autohtone bakterije koje su stalno prisutne u vodenom okolišu;
- alohtone bakterije koje u vodeni okoliš dospijevaju iz tla, zraka ili putem komunalnih ili industrijskih otpadnih voda (Kotwzan i sur., 2006.).

Prisustvo alohtonih patogenih mikroorganizama predstavlja zagađenje vode te ovisno o obimu, definira se mikrobiološka ili sanitarna kakvoća voda. Indikatori fekalnog zagađenja su:

- koliformne bakterije;
- fekalni streptokoki, odnosno enterokoki;
- sulfitoreducirajuće klostridije i *C. perfringens*;
- vrste iz roda *Salmonella*;
- vrste iz roda *Proteus*.

Prema Uredbi o kakvoći vode za kupanje (NN 51/2014), kao mikrobiološki pokazatelji kakvoće vode za kupanje se koriste crijevni enterokoki i *Escherichia coli* čije su granične vrijednosti navedene u **Tablicama 2 i 3**.

### 2.8.1. *Escherichia coli*

Gram-negativna bakterija *Escherichia coli* pripada porodici *Enterobacteriaceae*. Uobičajeno se nalazi u probavnom traktu ljudi i životinja i indikator je fekalnog zagađenja vode, hrane ili mora. Iako je *E. coli* sastavni dio normalne crijevne mikrobiote i nužna je za pravilnu probavu hrane, postoje sojevi koji uzrokuju upalu mokraćnih puteva i gastroenteritis. Grupe serotipova koje mogu izazvati bolesti koje se prenose hranom su:

- Enterotoksigene *E. coli* (ETEC);
- Enteropatogene *E. coli* (EPEC);
- Enterohemoragične *E. coli* (EHEC);
- Enteroinvazivne *E. coli* (EIEC);
- Enteroagregacijske *E. coli* (EAEC).

Podjela je izvršena prema faktoru virulentnosti, odnosno osobinama koje bakterijama daju sposobnost izazivanja bolesti kao što je produkcija egzotoksina. EHEC grupa uključuje podgrupe, tzv. STEC sojeva (eng. *Shiga toxin producing E. coli*) koje mogu proizvoditi Šiga

toksin. Mogu uzrokovati teški gastroenteritis uz krvavi proljev i hemolitički uremični sindrom koji može dovesti do otkazivanja bubrega i smrti, a bolničko liječenje je nužno za otprilike trećinu zaraženih (Klapec i sur.,2022.).

Pojava *E. coli* u vodama ukazuje na prisutnost fekalnih koliformnih bakterija, odnosno indicira nedavno fekalno zagađenje. *E. coli* čini 70-90% koliformnih bakterija, a u površinske i podzemne vode može dospjeti i putem padalina ili otapanja snijega te utjecati na kakvoću i zdravstvenu ispravnost voda (Galić, 2017.).

### 2.8.2. Crijevni enterokoki

*Streptococcus faecalis* se ubraja u fekalne streptokoke, a s obzirom da ne mogu dugo preživjeti u vodi, indikator su nedavne fekalne kontaminacije. Enterokoki su podgrupa fekalnih streptokoka u koju je uključeno 19 vrsta, a s higijenskog stajališta su najvažniji *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. durans* i *E. hirae* koje se izlučuju fekalijama ljudi i životinja (Frece i sur., 2015.). *E. faecalis* i *E. faecium* su vrste koje najčešće uzrokuju infekcije u ljudi, odnosno infekcije mokraćnog sustava, srčanih zalistaka, kože i potkožnog tkiva, rana i apscese u trbuhu, a simptomi ovise o mjestu infekcije (Higuita i Huycke, 2014.).

Crijevni enterokoki su gram-pozitivne nepokretne bakterije jajolikog oblika, koje najčešće formiraju parove i kratke lance. Fakultativni su anaerobi i ne stvaraju spore. Primarno su nepatogene bakterije koje čine fiziološku floru donjeg intestinalnog trakta ljudi i životinja (Dekić i Hrenović, 2017.). Do infekcija ili pojave bolesti može doći u slučaju kada dospiju u druge dijelove tijela.

Enterokoki u vode za kupanje dopijevaju putem kanalizacijskih voda, iz sustava septičkih jama, ispiranjem poljoprivrednih zemljišta ili ispuštanjem otpadnih voda (Ashbolt i sur., 2001.).

## 2.9. FIZIKALNO–KEMIJSKI PARAMETRI KAKVOĆE VODE ZA KUPANJE

Na rast i razmnožavanje mikroorganizama u vodi utječe velik broj fizikalnih i kemijskih faktora. Unutar vodenog ekosustava postoje dvije grupe faktora koje imaju ključan utjecaj na kvalitativne i kvantitativne odnose između mikroorganizama:

- abiotički - svjetlost i toplinska energija, otopljene i suspendirane tvari, vodeni tok, tlak, klima, pH, salinitet, eutrofikacija površinskih voda...;

- biotički - svi živi organizmi kao što su planktoni, životinje, mikroorganizmi i njihovi odnosi.

Upotrebom mineralnih gnojiva i pesticida u poljoprivredi te ispiranjem tla padalinama, može rezultirati njihovom pojavom, zagađenjem ili eutrofikacijom vodnih tijela. Eutrofikacija je proces narušavanja kakvoće vodnog tijela do kojeg dolazi uslijed unosa značajnih količina hranjivih tvari, spojeva dušika i fosfora u vode što može rezultirati pojavom i ubrzavanjem rasta algi i viših oblika biljnih vrsta. Navedene promjene mogu rezultirati neželjenim poremećajima ravnoteže organizama u vodi i promjene stanja kakvoće voda (Zakon o vodama, NN 66/2019, 84/2021, NN 47/2023). Posljedica eutrofikacije je ubrzan rast algi, nemogućnost prodiranja svjetlosti u dublje slojeve, smanjena količina kisika i promjena boje (**Slika 2**).



**Slika 2:** Cvjetanje cijanobakterija

Suma svih oblika fosfora i dušika izražena kao ukupni fosfor i ukupni dušik je mjerilo proizvodnje vodnog sustava. Koncentracije dušika u većini slatkovodnih sustava obično su više nego koncentracije fosfora, pri čemu je najčešća prosječna koncentracija hranjivih soli u omjeru 16N:1P.

### 2.9.1. Dušik i dušikovi spojevi

Dušik je jedan od najvažnijih biogenih elemenata koji se akumulirao u atmosferi i postao najzastupljeniji plin u atmosferi. Razlog visoke zastupljenosti dušika u atmosferi je dušikova kemijska inertnost i netopljivost u vodi (FKIT, 2023.) Pri posebnim uvjetima (električno

pražnjenje, sijevanje), dušik oksidira u dušikov oksid te ispiranjem atmosfere, oborinskom vodom dopijeva u vodne sustave (Sučić i sur, 2017.). Kao posljedica intenzivne upotrebe umjetnih gnojiva u čijem se sastavu nalaze u značajnim količinama te razgradnje organskih tvari, dušik i spojevi dušika su jedne od najčešćih onečišćujućih tvari u površinskim vodama. Naročito je pojava povišenim koncentracija dušika problematična u priobalnim područjima jer ograničava aktivnost fitoplanktona i algi.

Najvažniji anorganski dušikovi spojevi su amonijak, dušična kiselina i njezine soli (nitrati) te nitriti. Amonijak ( $\text{NH}_3$ ) se, osim u gnojivima, koristi i u proizvodnji stočne hrane, plastike, papira, gume te kao rashladno sredstvo u uređajima za hlađenje i u obradi metala. Normalna koncentracija amonijaka u podzemnim vodama je ispod 0,2 mg/l, a površinske vode mogu sadržavati i do 12 mg/l. Nepoželjan je u vodenim sustavima jer za oksidaciju troši kisik. Osim toga, pokazatelj je onečišćenja dušikovim spojevima i toksičan je za okoliš (Habjanec, 2020.). Haber-Boschovim postupkom (sinteza amonijaka izravno iz dušika i vodika pod visokim tlakom i pri visokoj temperaturi uz željezov, osmijev ili uranijev katalizator) godišnje nastane oko 100 milijuna tona dušika, a upotreba dušičnih gnojiva je u stalnom porastu (Chen, 2015.)

Nitrati su soli dušične kiseline, topljivi su u vodi i nastaju raspadanjem organskih tvari koje sadrže dušik djelovanjem bakterija. Prilikom raspadanja nastaju kisik, dušik ili dušikov oksid. Nitriti su građeni od aniona ( $\text{NO}_2^-$ ) i kationa metala. Nitriti i nitrati su ubikvitarni u prirodi i sudjeluju u ciklusu dušika. Koriste se u prehrambenoj industriji kao aditivi u hrani (proizvodnja kobasica, šunki), u gnojivu i kao rodenticidi. Povećane koncentracije nitrata u vodi za ljudsku potrošnju mogu uzrokovati methemoglobinemiju (Nujić i Habuda-Stanić, 2017.). Normalna koncentracija nitrata u površinskim vodama je do 18 mg/l, ispiranjem tla može doći do povećanja koncentracije. U podzemnim vodama normalna koncentracija nitrata ovisi o vrsti tla i geološkim uvjetima te iznosi svega par mg/l. Glavni razlozi povećanja koncentracije nitrata u podzemnim vodama je uporaba dušičnih gnojiva i odlaganje otpada (uglavnom s farmi) u zadnjih 20 godina (WHO, 2003.). Ukupni dušik u vodi je zbroj svih dušikovitih spojeva. To su organski spojevi kao što su peptidi, nukleinske kiseline, proteini te anorganski dušik kojem pripadaju nitriti, nitrati i amonijak. Količina ukupnog dušika dobije se zbrajanjem udjela svih dušičnih spojeva (ukupni amonijačni, nitratni i nitritni dušik), pri čemu vrijedi:

1 mg/l  $\text{NH}_4^+$  = 0,944 mg/l  $\text{NH}_3$  = 0,777 mg N /l;

1 mg/l  $\text{NO}_2^-$  = 0,826 mg/l  $\text{N}_2\text{O}_3$  = 0,304 mg N /l46;

1 mg/l  $\text{NO}_3^-$  = 0,871 mg/l  $\text{N}_2\text{O}_5$  = 0,226 mg N /l (Kuveždić, 2016.).

### 2.9.2. Ukupni fosfor i ortofosfati

Fosfor se u prirodi ne pojavljuje u elementarnom obliku jer je vrlo reaktivan, a nalazi se u sastavu mnogih mineralnih i organskih spojevima. Izvori fosfora u okolišu su često antropogenog karaktera i to kao točkasti izvori (kanalizacija i mjesta industrijskih ispusta) i raspršeni izvori (urbano i poljoprivredno ispiranje). Fosfati u površinske vode mogu dospjeti preko gnojiva, životinjskog otpada, erozije tla i otpada iz rudnika kao i atmosferskim odlaganjem. Fosfati ulaze u jezera putem rijeka, podzemnim vodama ili direktnim odlaganjem i ispiranjem. Biljke, alge, cijanobakterije i bakterije koriste fosfate kao hranjive soli, a dio fosfata taloži se i u sediment (Vurnek, 2018.). Fosfati nisu otrovni i ne predstavljaju opasnost za ljudsko zdravlje, pod uvjetom da njihova koncentracija ne prelazi granične vrijednosti.

Sadržaj fosfora u vodi je vrlo nizak, a nalazi se u otopljenom obliku kao ortofosfati ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) te kao neotopljene soli kalcijeva fosfata i magnezijeva fosfata. Alge mogu pohranjivati fosfor u svojim stanicama u količinama većim od potrebnih, a povećana koncentracija fosfora dovodi do eutrofikacije vode (Kotwzan i sur., 2006.).

### 2.9.3. pH

Optimalan pH vode za vodene bakterije se kreće u rasponu od 6,5 do 8,5. pH većine jezera je oko 7,0, rijeka 7,5, a površinskih slojeva mora 8,2. S obzirom na visok sadržaj karbonata i njihovih puferskih svojstava, pH vode se ne mijenja značajno. Do naglog porasta pH vrijednosti može doći zbog velike izloženosti Sunčevim zrakama (insolacija) i brzog rasta fotosintetizirajućih makroorganizama. Također, velike promjene pH vrijednosti se mogu primijetiti u jezerima u kojima je došlo do eutrofikacije pri čemu pH može varirati od 7 do 10.

### 2.9.4. Cijanobakterije

Cijanobakterije ili modrozelenne alge su najstariji fotosintetski organizmi na Zemlji koji su stvorili aerobnu atmosferu i jedan su od glavnih sudionika u biološkom ciklusu ugljika, dušika i minerala. Zadržale su niz primitivnih obilježja kao što je prokariotski tip građe stanica, odsustvo pokretnih oblika i vegetativni način razmnožavanja. Kao prokarioti, cijanobakterije nemaju jezgru i ostale stanične organele po čemu se razlikuju od ostalih mikroalgi. Također, cijanobakterije nemaju kloroplaste, a klorofil potreban za fotosintezu se nalazi u tilakoidima. Osim klorofila, u tilakoidima se nalaze i drugi pigmenti - klorofil, karotenoidi ( $\beta$ -karoten, zeaksantin) i fikobilini (fikoeritrin, fikocijanin, alofikocijanin).

S obzirom na građu talusa cijanobakterije mogu biti jednostanične, višestanične ili kolonijalne. Poznate su homocitne forme (građene od vegetativnih stanica) i heterocitne forme (uz vegetativne stanice prisutna je i heterocista). Proces fiksiranja dušika se događa u tzv. Heterocistama, specijaliziranim stanicama debelih stjenki u kojima se održavaju anaerobni uvjeti, no i one cijanobakterije koje nemaju heterociste mogu imati posebne strategije fiksiranja  $N_2$  čak i u aerobnim uvjetima (Kolda, 2018.). Na površini trihoma mnogih cijanobakterija nalazi se sluzavi želatinozni omotač koji štiti alge od isušivanja što im omogućuje da prežive izvan vodene sredine.

Većina cijanobakterija su aerobni fototrofi. Za život su im potrebni samo voda, ugljikov dioksid, anorganske tvari i svjetlo, no postoje neke vrste koje mogu preživjeti duže vremensko razdoblje u potpunoj tami. Često su primarni kolonizatori, a sposobni su preživjeti u ekstremnim uvjetima kao što su visoki salinitet, ekstremne promjene temperature, suše i veliku količinu UV zračenja. Također, cijanobakterije stvaraju simbiotske zajednice s biljkama i životinjama (gljivama, mahovnjačama, papratnjačama, golosjemenjačama i kritosjemenjačama) (Mur i sur. 1999.).

Povećane koncentracije hranjivih tvari (najčešće fosfora i dušikovih spojeva), veća dostupnost svjetlosti, povišena temperatura vode, pH, mutnoća i salinitet uzrokuju masovno razmnožavanje cijanobakterija (cvjetanje cijanobakterija) u vodenim sustavima što predstavlja ekološki i zdravstveni problem. Tijekom cvjetanja cijanobakterije troše kisik, a kada potroše kisik, cijanobakterije počinju odumirati pri čemu otpuštaju cijanotoksine u vodeni okoliš u kojem se nalaze, no nisu sve cijanobakterije toksične. Cijanotoksini su otrovni sekundarni metaboliti cijanobakterija, a ovisno o utjecaju na ljudsko zdravlje svrstavaju se u nekoliko

skupina: hepatotoksini (mikrocistin , nodularin i cilindropermopsin), neurotoksini (anatoksina, anatoksina(S) i saksitotoksin), dermatotoksini i citotoksini te endotoksini (lipopolisaharid) (Drobac i sur. 2013.).

Najrasprostranjeniji oblici cijanobakterija su vrste *Aphanizomenon flos aquae*, *Anabaena circinalis* i *Microcystis aeruginosa*. Najčešća vrsta je *Microcystis aeruginosa*, pa se i većina toksina naziva mikrocistin. Mikrocistin-LR (MCLR) jedan je od najčešćih cijanobakterijskih toksina u prirodi. Na temelju provedene genotoksične analize toksina MCLR-a na ljudskim limfocitima, utvrđeno je da je navedeni toksin kancerogen te da je oksidativni stres uključen u mehanizam njegove genotoksičnosti. Također, akutno izlaganje ovom cijanotoksinu uzrokuje ozbiljno oštećenje jetre popraćeno hemodinamskim šokom, zatajenjem srca i naposljetku smrću (Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada, 2010.).



### **3. EKSPERIMENTALNI DIO**

Na području Osječko-baranjske županije službeno proglašena kupališta su Drava Copacabana, Drava Željeznički most i Drava Pampas (**Slika 3a, 3b i 3c**) za područje Osijeka te Bajer Đakovo za područje grada Đakova. Rezultati obrađeni u ovome radu se odnose na rezultate analiza za navedena službena kupališta na području Grada Osijeka te dodatna dva kupališta - Bajer Jug II i Našički bajer (**Slika 4a i 4b**). Na području Osječko-baranjske županije, kakvoća vode za kupanje se provjerava od 2003. godine kroz osam uzorkovanja u razdoblju sezone kupanja od lipnja do kolovoza, uključujući i nulto uzorkovanje u svibnju te završno u rujnu.



**Slika 3:** a) Drava Copacabana, b) Drava Pampas, c) Drava Donji grad- željeznički most



**Slika 4:** a) Bajer Jug II, b) Našički bajer

Bajer Jug II i Našički bajer su umjetna jezera nastala krajem prošlog stoljeća eksploatacijom gline za proizvodnju opeke, a napunjeni su podzemnom vodom. Bajer Jug II se proteže na oko 5 hektara, a prosječna dubina jezera je 3 metra. Do 1995. godine Našički bajer je bio najveći divlji deponij otpada u širem središtu Osijeka, kada je započelo uređenje i revitalizacija kupališta. Kupališta na Dravi (Copacabana, Željeznički most i Pampas) su 2019. godine proglašena službenim kupalištima Grada Osijeka.

#### 3.1. ZADATAK

Zadatak ovog rada je uzorkovanjem i analizama utvrditi mikrobiološku kakvoću vode za kupanje javnih kupališta Grada Osijeka prema Uredbi o kakvoći voda za kupanje (NN 51/2014). U tu su svrhu praćeni mikrobiološki pokazatelji: crijevni enterokoki i *Escherichia coli* u sezoni kupanja, od 22. svibnja 2023. do 4. rujna 2023. godine. Na temelju rezultata ispitivanja navedenih mikrobioloških pokazatelja dana je pojedinačna i godišnja ocjena. Praćenjem fizikalno-kemijskih parametara (pH vrijednost, koncentracija nitrita, nitrata, ukupnog dušika, ukupnog fosfora i ortofosfata) i statističkom obradom rezultata pokušat će se ustanoviti stupanj povezanosti fizikalno-kemijskih parametara s mikrobiološkim onečišćenjem.

#### 3.2. UZORKOVANJE VODE ZA KUPANJE

Uzorkovanje vode za kupanje podrazumijeva sakupljanje uzoraka na terenu i rukovanje uzorcima do njihova zaprimanja u laboratorij. Postupak uzorkovanja i transport uzoraka kupališnih voda se provodi prema normi HRN EN ISO 19458:2008 Kakvoća vode – Uzorkovanje za mikrobiološku analizu, a u svrhu provođenja mikrobioloških analiza neophodnih za procjenu kakvoće vode za kupanje. Tijekom uzorkovanja potrebno je spriječiti sekundarnu kontaminaciju uzorka kako bi se osigurao pouzdan analitički rezultat.

Za uzorkovanje su potrebni teleskopski štap, putni hladnjak, termometar te sterilna staklena boca na navoj s crvenim zatvaračem volumena 500 ml. Uzorkovanje vode za kupanje se obavlja u vodi dubine od najmanje 1 m, 30 cm ispod površine vode. Teleskopski štap i vanjska površina boce se dezinficiraju 70 %-tnim alkoholom. Sterilna boca se pažljivo otvori i napuni vodom do  $\frac{3}{4}$  volumena te čvrsto zatvori. Uzorci vode se do obrade u laboratoriju moraju zaštititi od djelovanja svjetla, posebice direktnog sunčevog zračenja te čuvati u hladnjaku na temperaturi

od 2 do 8 °C (HRN EN ISO 5667-3:2018 Kakvoća vode – Uzorkovanje – 3. dio: Čuvanje i rukovanje uzorima vode). Vrijeme između uzorkovanja i analize treba biti što je moguće kraće, a preporuča se da se uzorci analiziraju istog dana kada su prikupljeni. U iznimnim slučajevima mogu biti analizirani u roku od najviše 24 sata uz uvjet da su pohranjeni na tamnom mjestu i na temperaturi od  $5 \pm 3$  °C.

Mjesto uzorkovanja se određuje u skladu sa zahtjevima važeće Uredbe o kakvoći voda za kupanje (NN 51/2014). Uzorkovanje se obavlja unutar svakih 15 dana tijekom kupališne sezone koja traje od 1. lipnja do 15. rujna. Nulto uzorkovanje je potrebno provesti prije početka sezone kupanja, odnosno od 15. svibnja kalendarske godine.

### 3.3. MIKROBIOLOŠKA ANALIZA VODE ZA KUPANJE

#### 3.3.1. Metoda membranske filtracije

Membranska filtracija je najčešće korištena metoda za rutinsko određivanje mikrobioloških pokazatelja u vodi za ljudsku potrošnju, površinskim, bazenskim, podzemnim i morskim vodama, vrlo je jednostavna i ekonomski isplativa tehnika te ne zahtjeva dugo vrijeme inkubacije (Rompre i sur., 2022.). Također, mogu se koristiti i različite hranjive podloge za detekciju i brojenje mnogih vrsta bakterija, a koja podloga će se koristiti ovisi o ciljanom mikroorganizmu.

Membranska filtracija ima i neka ograničenja. Kod zamućenih uzoraka može doći do začepljena pora filtera, a kod uzoraka s bogatom pozadinskom mikroflorom nekoliformnih bakterija teško je razlikovati koliformne bakterije od nekoliformnih. U tom slučaju su rezultati neupotrebljivi i potrebno je ponoviti uzorkovanje (Standard Methods, 2023.)

U Službi za zdravstvenu ekologiju Nastavnog zavodu za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije koristi se višestruki sustav za membransku filtraciju koji se sastoji od manifolda sa šest osnova držača filtra učvršćenih za rampu (**Slika 5**). Sustav je konstruiran tako da se može sterilizirati autoklaviranjem čime je omogućeno korištenje sustava i za membransku filtraciju otpadnih voda. Svi lijevci opreme su graduirani s unutrašnje strane, imaju štikaljke za jednostavno i sigurno pričvršćivanje za pripadajući držač te poklopce za lijevak.



**Slika 5:** Višestruki sustav za membransku filtraciju

Prvi korak u postupku filtracije je postavljanje sterilnog membranskog filtra na porozni disk uređaja za filtriranje tako da ucrtana mrežica na membranskom filtru bude okrenuta prema gore. Sterilni lijevak se čvrsto postavi na porozni disk s membranskim filtrom. Boca s uzorkom se prije nalijevanja snažno promiješa te se u lijevak ulije 100 ml uzorka i/ili razrjeđenja. Uključi se vakuum pumpa i uzorak se filtrira pri vakuumu od približno 250 kPa. Nakon filtracije uzorka, stjenke lijevka se isperu s manjom količinom sterilne destilirane vode. Zatvori se vakuum, ukloni se lijevak i sterilnom hvataljkom se uhvati rub membranskog filtra te se pažljivo postavi na odgovarajuću podlogu pazeći da ne zaostanu mjehurići zraka između filtra i podloge. Vrijeme između filtriranja i početka inkubacije ne smije biti duži od dva sata.

### **3.3.2. Određivanje *Escherichia coli* metodom membranske filtracije**

Metoda za brojenje *Escherichia coli* propisana je normom HRN EN ISO 9308-1:2014 i HRN EN ISO 9308-1:2014/A1:2017 (temperaturna modifikacija) i koristi se za određivanje navedenog mikrobiološkog pokazatelja u vodama za kupanje. Metoda se temelji na membranskoj filtraciji, a primjenjiva je i za bazensku vodu te vodu za ljudsku potrošnju. *E. coli* pokazuje aktivnost na  $\beta$ -D-glukuronidazu i  $\beta$ -D-galaktozidazu te formira tamno plavo do ljubičasto obojene kolonije na kromogen koliform agaru (CCA). Temperaturna modifikacija se primjenjuje radi inhibicije pozadinske mikroflore koja raste na 36 °C kao i *E. coli*. Iz tog razloga se nakon inkubacije na 36 °C  $\pm$  1 °C ploče s membranskim filterom stavljaju na inkubaciju na 44  $\pm$  1 °C.

### 3. Eksperimentalni dio

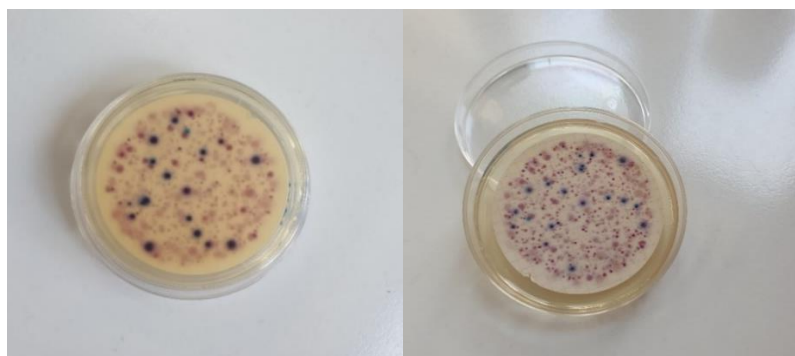
Metoda se temelji na membranskoj filtraciji, a uključuje filtraciju ispitne porcije uzorka kroz membranski filter, postavljanje membranskog filtera na ploču s kromogen koliform agarom (CCA). Zatim slijedi inkubacija membranskog filtra 4 h na  $36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ , potom 20 h na  $44 \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Nakon inkubacije slijedi brojenje kolonija pozitivnih na  $\beta$ -D-glukuronidazu i  $\beta$ -D-galaktozidazu (tamno plave do ljubičaste kolonije) kao *E. coli*.

Kao podloga se koristi kromogen koliform agar (CCA), gotov ili pripremljen u laboratoriju iz gotove dehidrirane podloge prema uputi proizvođača.

Od opreme i pribora su potrebni inkubatori s termostatskom kontrolom na  $36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ , odnosno  $44\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ , pH metar, autoklav, oprema za membransku filtraciju, membranski filteri promjera 47 mm i veličine pora od  $0,45\text{ }\mu\text{m}$  (veličina pora manja je od veličine bakterijske stanice, što omogućava zadržavanje bakterija na filteru), hvataljka sa zaobljenim vrhom za rukovanje s filterom te ostalo sterilno stakleno i plastično posuđe i pribor.

Analiza uzorka treba započeti unutar 6 h od uzorkovanja, a uzorci trebaju biti transportirani i čuvani na temperaturi  $5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Prije početka analize uzorak je potrebno dobro homogenizirati. Filtrira se 100 ml (ili drugi volumen) uzorka koristeći membranski filter. Ispitni volumen ili razrjeđenje uzorka se odabere tako da očekivani broj kolonija koje se formiraju na membranskom filteru promjera 47 do 50 mm bude manji od 80 cfu, a broj ciljanih kolonija veći od 10 cfu. Minimalni volumen za filtraciju je 10 ml uzorka ili njegovog razrjeđenja kako bi se osigurala jednolika distribucija bakterija na membranskom filtru.

Nakon filtracije, membranski filter se položi na CCA pazeći da pri tome ne zaostane zraka ispod filtera. Petrijeva ploča se okrene i inkubira 4 h na  $36 \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Nakon 4-satnog razdoblja oživljavanja, ploča se prebaci u inkubator na  $44 \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  20 h. Po završetku inkubacije, broje se sve kolonije koje daju pozitivne reakcije  $\beta$ -D-glukuronidaze i  $\beta$ -D-galatozidaze (tamno plave do ljubičaste) kao *E.coli* (Slika 6).



**Slika 6:** Porasle kolonije *E. coli* na kromogen koliform agaru

Rezultat se izražava kao cijeli broj s dvije značajne znamenke. U slučaju da je izbrojano manje od 10 kolonija, rezultat se može izraziti kako slijedi:

- za 3 do 9 kolonija rezultat izraziti kao procijenjen,
- za 1 do 2 kolonije rezultat izraziti kao prisutnost.

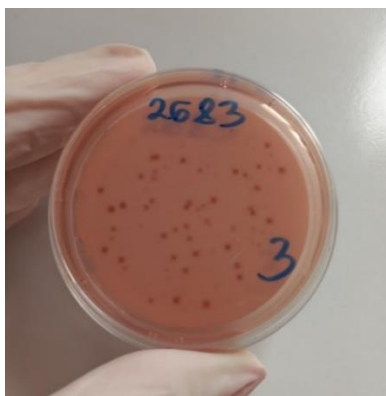
Ako na filteru nema poraslih kolonija, rezultat se izražava kao <1 cfu u 100 ml.

#### 3.3.3. Određivanje crijevnih enterokoka metodom membranske filtracije

Detekcija i brojenje fekalnih streptokoka provodi se prema normi HRN EN ISO 7899-2:2000, a metoda se temelji na membranskoj filtraciji. Metoda je primjenjiva za provjeru sukladnosti vode za ljudsku potrošnju, prirodne izvorske, prirodne mineralne, stolne, podzemne, površinske, otpadne, tehnološke i vode za kupanje te led.

Crijevni enterokoki su G(+) bakterije koje reduciraju 2,3,5 – trifeniltetrazolium klorid u netopiv crveni formazin i hidroliziraju eskulin na temperaturi od 44 °C na žučnom eskulin-azid agaru (Bile aesculine azid agar, BEA).

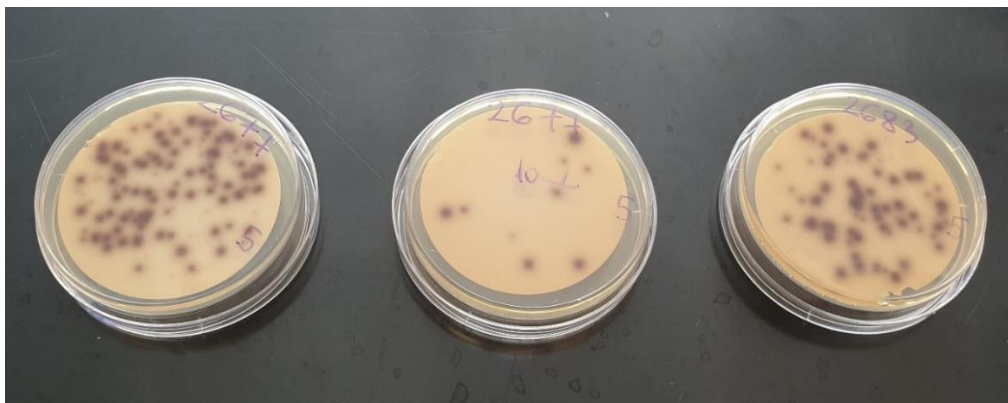
Nakon membranske filtracije uzorka, filter se postavlja na Slanetz-Bartley podlogu (m-E agar). Ako se uoči porast tipičnih kolonija (crvene, smeđe ili ružičaste) (**Slika 7**), potrebno je provesti potvrdni test.



**Slika 7:** Porasle kolonije enterokoka na Slanetz-Bartly agaru

U tom slučaju se filter s poraslim kolonijama prenese na BEA te inkubira na 44±1 °C, 2 sata. Razvoj tamno smeđe do crne boje oko kolonija u podlozi označava pozitivnu reakciju i te se kolonije broje kao crijevni enterokoki (**Slika 8**). Crijevni enterokoki hidroliziraju eskulin u žučnom eskulin-azid agaru kroz 2 sata do krajnjeg produkta 6,7-dihidroksikumarina koji s Fe<sup>3+</sup>

daje smeđe do crno obojenje koje difundira u podlogu. Nejednolika raspodjela kolonija ili visoki pozadinski rast može ometati prepoznavanje pozitivnih kolonija zbog difuzije boje na susjedne kolonije.



**Slika 8:** Porasle kolonije enterokoka na žučnom eskulin-azid agaru (Bile aesculine azid agar, BEA)

Kao podloge se koriste Slantez-Bartley agar i Bile aesculine azid agar, gotovi i/ili pripremljeni u laboratoriju iz gotove dehidrirane podloge prema uputi proizvođača.

Od opreme i pribora su potrebni inkubatori s termostatskom kontrolom na  $36 \pm 1$  °C, odnosno  $44 \pm 1$  °C, pH metar, autoklav, oprema za membransku filtraciju, membranski filteri promjera 47 mm i veličine pora od 0,45  $\mu\text{m}$  (veličina pora manja je od veličine bakterijske stanice, što omogućava zadržavanje bakterija na filteru), hvataljka sa zaobljenim vrhom za rukovanje s filterom te ostalo sterilno stakleno i plastično posuđe i pribor.

Postupak analize uzorka treba započeti unutar 6 h od uzorkovanja, a uzorci trebaju biti transportirani i čuvani na temperaturi  $5 \pm 3$  °C. Prije početka analize uzorak je potrebno dobro homogenizirati. Potrebni volumen uzorka ili razrjeđenja se odabire na isti način kao i za postupak određivanja *E. coli*.

Nakon filtracije, membranski filter se stavi na selektivnu podlogu m-E agar vodeći računa da ne zaostane zraka ispod filtera. m-E agar sadrži natrijev-azid koji suprimira rast G (-) bakterija i 2,3,5-trifeniltetrazolium klorida koji crijevni enterokoki reduciraju u crveni formazan. Zatim slijedi inkubacija na  $36 \pm 1$  °C kroz  $44 \pm 4$  h. Po završetku inkubacije, sve uzdignute, crvene, kestenjaste ili ružičaste kolonije se smatraju crijevnim enterokokima te je potrebno napraviti potvrdni test. Filter s poraslim kolonijama se prenese na BEA i inkubira pri  $44 \pm 1$  °C, u razdoblju od 2 h. Nakon inkubacije, očitava se rezultat s inkubiranih ploča.



Razvoj tamno smeđe do crne boje oko kolonija u podlozi označava pozitivnu reakciju i te se kolonije broje kao crijevni enterokoki.

Rezultat se izražava kao cijeli broj s dvije značajne znamenke. U slučaju da je izbrojano manje od 10 kolonija, rezultat se može izraziti kako slijedi:

- za 3 do 9 kolonija rezultat izraziti kao procijenjen,
- za 1 do 2 kolonije rezultat izraziti kao prisutnost.

Ako na filteru nema poraslih kolonija, rezultat se izražava kao <1 cfu u 100 ml.

## 3.4. FIZIKALNO–KEMIJSKA ANALIZA VODE ZA KUPANJE

### 3.4.1. Određivanje koncentracije ukupnog dušika na analizatoru ukupnog dušika s kemiluminiscentnim detektorom

Koncentracija ukupnog dušika se određuje na analizatoru ukupnog dušika s kemiluminiscentnim detektorom metodom i predstavlja zbroj dušika iz nitrata ( $\text{NO}_3\text{-N}$ ), nitrita ( $\text{NO}_2\text{-N}$ ), amonijaka ( $\text{NH}_3\text{-N}$ ) i organski vezanog dušika. Dušikovi spojevi (TN) se katalitičkim sagorijevanjem na temperaturi od  $720\text{ }^\circ\text{C}$  prevode u dušikov (II) oksid (NO) koji se zatim detektira kemiluminiscentnim detektorom. Ovom metodom se određuje samo ukupni dušik u uzorku vode jer dušik u obliku plina ( $\text{N}_2$ ) ne prelazi u NO (Sučić i sur, 2017.).

Smetnje kod određivanja može uzrokovati visoka koncentracija ukupnog organskog ugljika (iznad  $100\text{ mg/l}$ ), a u tom slučaju je potrebno razrijediti uzorak. Određivanje ukupnog dušika provodi se vlastitom metodom VZ 023 koja je analogna s normom HRN EN ISO 20236:2021.

Uzorci vode se uzorkuju u čistu staklenu ili polietilensku ambalažu, a potrebno je paziti da ne dođe do kontaminacije. Uzorak se po potrebi homogenizira kako bi bio reprezentativan ili se profiltrira kroz filter promjera  $0,45\text{ }\mu\text{m}$ . Uzorci se mogu konzervirati dodatkom klorovodične kiseline do  $\text{pH} < 2$  i čuvati na temperaturi  $4\text{ }^\circ\text{C} \pm 2\text{ }^\circ\text{C}$  najviše 8 dana ili zamrznuti u manjim količinama ( $50$  do  $100\text{ ml}$  na temperaturi od  $-15\text{ }^\circ\text{C}$  do  $-20\text{ }^\circ\text{C}$ ) te čuvati najviše 14 dana.

Određivanje ukupnog dušika provodi se TOC-VCPH analizatorom (**Slika 9**), proizvođač Shimadzu, koji se sastoji od slijedećih dijelova:

- Shimadzu ASI–V autosampler,
- TOC analizator,
- TNM-1 jedinica za određivanje ukupnog dušika.

Od ostale opreme koriste se staklene vialice prilagođene za ASI-V autosampler, računalo s pripadajućim softverom za kontrolu funkcija analizatora, automatska pipeta, odmjerne tikvice te boca sa sintetskim zrakom.



**Slika 9:** TOC-TN analizator, Shimadzu

Korištene kemikalije:

- Ultračista voda,
- Certificirani referentni materijal (CRM) TN,  $c = 20 \text{ mg N/l}$ ,
- Klorovodična kiselina, 24 % (HCl) za konzerviranje uzoraka.

Prije mjerenja koncentracije ukupnog dušika provodi se kalibracija instrumenta. Kalibracija je postupak kojim se odziv mjernog instrumenta (površina pika) povezuje s masenom koncentracijom (mjerena vrijednost), a povezanost je u većini slučajeva linearna:

$$y = a + bx_0 \quad (1)$$

gdje je:

- $y$  zavisna varijabla – odziv mjernog instrumenta (površina pika),
- $x_0$  je nezavisna varijabla – masena koncentracija analita,
- $a$  je odsječak kalibracijskog pravca na  $y$  osi,
- $b$  je nagib kalibracijskog pravca.

Postupak kalibracije se provodi tako da se certificirani referentni materijal TN razrijedi na koncentraciju od  $20 \text{ mg/l}$ , a zatim se u aplikaciji na računalo podese daljnja razrijeđenja koja autosampler sam napravi. Pri analizi standardnih otopina različitih koncentracija dobije se određena vrijednost površine pika koja je proporcionalna koncentraciji ukupnog dušika u uzorku. Metodom najmanjih kvadrata se zatim izračunaju kalibracijska krivulja i kalibracijska funkcija. Na temelju dobivenih podataka za kalibracijsku funkciju (koeficijenti), iz dobivene

površine nepoznatog uzorka se računa koncentracija analita. Prilikom kalibracije napravi se najmanje 5 kalibracijskih točaka (standardnih otopina različitih koncentracija).

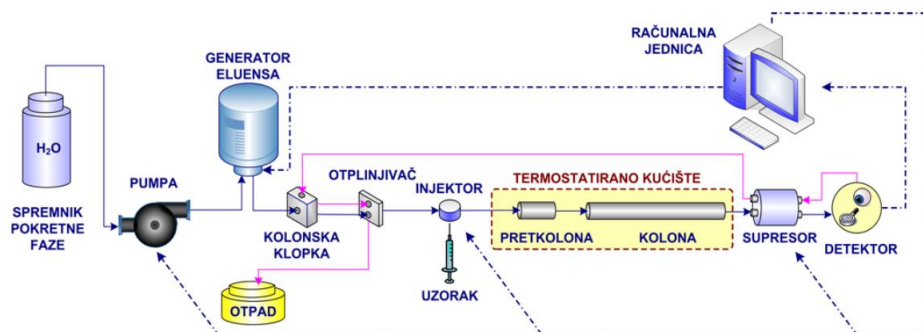
Prije mjerenja nepoznatih uzoraka provodi se analiza kontrolnog standarda unutar područja linearnosti, a čiji rezultat treba biti unutar raspona 80 % do 110 % od teorijske vrijednost koncentracije standardne otopine. Zatim se provodi analiza nepoznatih uzoraka pri čemu uvjeti analize moraju biti isti kao i oni korišteni za kalibraciju. Ukoliko je dobivena koncentracija ukupnog dušika u nepoznatom uzorku veća od najveće točke kalibracijske krivulje, uzorak je potrebno razrijediti tako da koncentracija ulazi u radno područje kalibracijske krivulje. Rezultati se izražavaju na dvije značajne znamenke, a za dobivene vrijednosti koje su manje od granice kvantifikacije (LOQ), rezultat se piše "<LOQ".

### 3.4.2. Određivanje koncentracije amonijevih iona, nitrita i nitrata metodom ionske kromatografije

Određivanje koncentracije aniona i kationa u vodi za ljudsku potrošnju, površinskim, podzemnim, bazenskim, stolnim, prirodnim mineralnim i tehnološkim vodama provodi se metodom ionske kromatografije i to prema slijedećim normama:

- HRN EN ISO 10304-1:2009 ( $\text{NO}_2^-$  i  $\text{NO}_3^-$ ),
- HRN EN ISO 14911:2001 ( $\text{NH}_4^+$ ).

Ionska kromatografija je analitička tehnika u kojoj se analiti razdvajaju prema njihovom afinitetu ka ionskom izmjenjivaču. Uzorci se propuštaju kroz kolonu s čvrstom fazom te se analiti u njima razdvajaju na temelju svoje ionske jakosti. Na **Slici 10** je prikazan blok dijagram osnovnih komponenti modernog ionskog kromatografa s konduktometrijskom detekcijom (Bolanča i Ukić, 2013.).



**Slika 10:** Shema modernog ionskog kromatografskog sustava s konduktometrijskom detekcijom (Bolanča i Ukić, 2013.)

### 3. Eksperimentalni dio

Analiti se detektiraju na detektoru vodljivosti, a identificiraju se usporedbom vremena retencije. Usporedbom površine pikova standarda i uzoraka, u programu (Chromeleon) se automatski izračunava koncentracija analita u uzorku.

Uzorci se uzorkuju u staklene ili polietilenske boce te skladište na tamnom (2-6 °C). Uzorke je potrebno analizirati u što kraćem roku od zaprimanja, a najkasnije 24 h od uzorkovanja. Prije mjerenja uzorci se filtriraju kroz 0,45 µm filtere u polietilenske viala s čepom sa septom te se postavljaju u autosampler.

Ionski kromatograf DIONEX ICS 6000 (**Slika 11**) se sastoji od četiri glavna modula:

- Dual Pump (DP) modul,
- Eluent generator,
- Detector Compartment (DC) modul,
- Autosampler DIONEX AS-AP.



**Slika 11:** Ionski kromatograf DIONEX ICS 6000

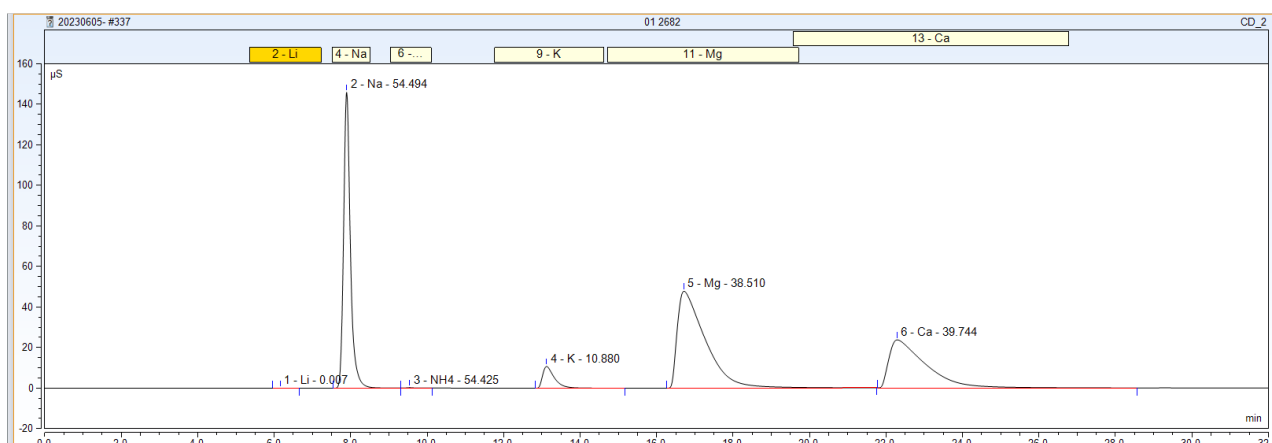
DP modul se sastoji od dvije pumpe za eluens koje su spojene na posudu od 2 l u kojoj se nalaze ultračista voda za pripravljanje eluensa za određivanje aniona (KOH) i kationa (metensulfonska kiselina, MSA). Eluent generator služi za spravljanje proizvoljne koncentracije eluensa (KOH i MSA). Unutar DC modula se nalaze dvije odvojene komore za dva sustava za istovremenu analizu aniona i kationa. U obje komore se nalaze injektorski ventili s petljom za uzorak, predkolone i kolone, elektrolitički supresor i detektor vodljivosti. Temperatura unutar

### 3. Eksperimentalni dio

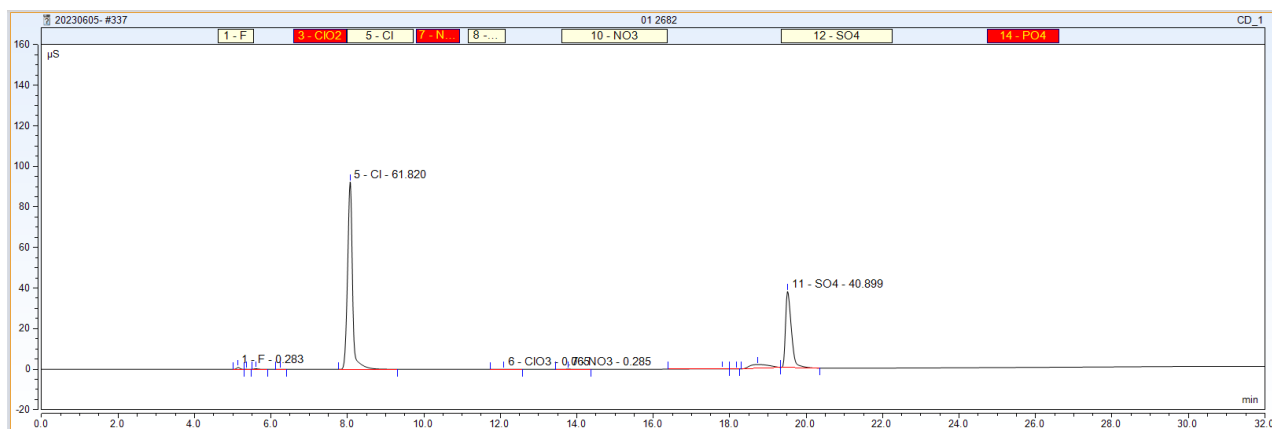
komora DC modula se može podesiti u rasponu od 18 do 40 °C. Autosampler DIONEX AS-AP je uređaj koji omogućuje istovremeno injektiranje uzoraka za simultanu analizu prema postavkama programa u aparatu.

Kemikalije potrebne za određivanje aniona i kationa su ultračista voda, KOH, MSA te standardi za anione i katione. Za pripremu razrjeđenja standarda i uzoraka koriste se automatske pipete i odgovarajući nastavci, vijale za uzorke, odmjerne tikvice te filteri veličine pora od 0,45 µm.

Kalibracija se provodi u pet točaka, a prihvatljivi koeficijent korelacije je  $\geq 0,995$ . Kalibracija se napravi jednom te se prije svake sljedeće analize provjerava kontrolnim standardima. Ako je odstupanje manje od 10 %, analiza se može provesti. U slučaju da kontrolni standard ne zadovoljava dopušteno odstupanje potrebno je napraviti nove standarde i kalibracijski pravac. Nakon provjerene kalibracije, provodi se analiza uzoraka. Prije uzoraka, kroz kolone uređaja se puste uzorci ultračiste vode i kontrolni uzorci. Na **Slikama 12 i 13** su prikazani kromatogrami za anione i katione.



Slika 12: Kationski kromatogram



Slika 13: Anionski kromatogram

Koncentracija analita se izračunava automatski u programu Chromeleon. Masena koncentracija aniona i kationa se izražava u mg/l. Ako je masena koncentracija manja od granice kvantifikacije, rezultat se izražava kao "<LOQ". Za masene koncentracije od LOQ do 100 mg/l, vrijednost se izražava na dvije značajne znamenke, a za masene koncentracije veće od 100 mg/l vrijednost se izražava kao cijeli broj.

#### **3.4.3. Određivanje koncentracije ukupnog fosfora i ortofosfata spektrofotometrijski**

Reakcijom ortofosfat iona s ionima molibdata i antimona u kiseloj sredini nastaju kompleksi antimonofosfomolibdata. Redukcijom kompleksa s askorbinskom kiselinom nastaje plavo obojen kompleks. Koncentracije ortofosfata i ukupnog fosfora se određuju spektrofotometrijski, prema normi HRN EN ISO 6878:2008.

Uzorci se uzorkuju u čiste staklene ili plastične boce i potrebno ih je filtrirati u roku od 4 sata od uzorkovanja. Prije filtracije, uzorak se temperira na sobnu temperaturu. Za određivanje koncentracije ortofosfata i ukupnog fosfora koriste se komercijalni testovi Merck Spectroquant. Od opreme su potrebni spektrofotometar, automatska pipeta (1-10 ml), termoreaktor i reakcijske posudice.

Kako se za određivanje koriste komercijalni testovi, kalibracija je provedena od strane proizvođača kivetnih testova Merck Spectroquant, uz koje se dobije certifikat o provedenoj kalibraciji s podacima o pripremljenim standardima i očitanim apsorbancijama. Mjerenja se od strane proizvođača provode na kiveti od 1 cm te pomoću Lambert Beer-ovog zakona izračunava vrijednost koncentracije/apsorbancije za mjerenja na drugim kivetama.

#### **Određivanje koncentracije ortofosfata**

Koncentracija ortofosfata se određuje pipetiranjem 5 ml profiltriranog uzorka u reakcijsku posudicu, doda se 5 kapi reagensa PO<sub>4</sub>-1 i promiješa. Zatim se doda 1 žličica reagensa PO<sub>4</sub>-2 i promiješa dok se reagens ne otopi. Uzorak se ostavi da stoji 5 minuta i zatim se koncentracija ortofosfata očitava na spektrofotometru.

### Određivanje koncentracije ukupnog fosfora

Koncentracija ukupnog fosfora se određuje pipetiranjem 5 ml profiltriranog uzorka u reakcijsku posudicu, doda se 1 doza reagensa P-1K, dobro zatvori i promućka. Reakcijska posudica s uzorkom se zagrijava na 120 °C u prethodno zagrijanom termoreaktoru 30 minuta. Nakon digestije, uzorak se stavi da se ohladi u reaktoru na sobnu temperaturu. Nakon digestije, u reakcijsku posudicu s uzorkom se redom dodaju reagensi: 5 kapi reagensa P-2K i promiješa, 1 doza reagensa P-3K i snažno promućka dok se sadržaj potpuno ne otopi. Uzorak se ostavi da stoji 5 minuta, a potom se koncentracija ukupnog fosfora očita na spektrofotometru.

Rezultati za ortofosfate se izražavaju u mg PO<sub>4</sub>-P/l ili mg PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>/l na dvije značajne znamenke, a za ukupni fosfor u mg P/l na dvije značajne znamenke. Za vrijednosti ispod granice kvantifikacije (LOQ) rezultat se izražava kao „<LOQ“.

#### 3.4.4. Određivanje pH vrijednosti

pH vrijednost je negativni logaritam koncentracije vodikovih iona te pokazuje kiselost, neutralnost ili lužnatost otopina. Princip potenciometrijskog određivanja koncentracije nekog iona u otopini se temelji na mjerenju elektromotorne sile članka, koji se sastoji od dvije elektrode, mjerne i referentne, koje su uronjene u istu otopinu. Potenciometrijsko određivanje pH vrijednosti u uzorcima voda se provodi prema normi HRN EN ISO 10523:2012, u mjernom području od 3 do 12 pH jedinica.

Uzorci se uzorkuju u plastične ili staklene boce koje se nakon punjenja zatvaraju čepom tako da u boci ne ostane zraka. pH vrijednost se može brzo mijenjati zbog kemijskih, fizikalnih ili bioloških procesa u uzorku pa je mjerenje potrebno provesti što je prije moguće. Priprema uzorka za mjerenje pH vrijednosti nije potrebna.

Određivanje pH vrijednosti se provodi pomoću pH-metra (proizvođač Mettler-Toledo AG, SevenEasy S-20) s kombiniranom elektrodom koja se sastoji od mjernog i referentnog dijela elektrode i integriranog senzora za mjerenje temperature.

Potrebne kemikalije:

- certificirane pufer otopine za kalibraciju uređaja (pH= 4,01; 7,00; 10,01),
- demineralizirana voda.

Prije svakog mjerenja elektroda se ispere demineraliziranom vodom, posuši i pristupa mjerenju. Elektroda se uroni u čašu s uzorkom i rezultat se očitava na ekranu pH-metra. Nakon završenog mjerenja, elektroda se ispere demineraliziranom vodom, posuši i na vrh se stavlja zaštitni čep s otopinom za čuvanje elektrode. Rezultati se izražavaju u pH jedinicama kao broj s jednim decimalnim mjestom.

### 3.5. ODREĐIVANJE CIJANOBAKTERIJA U VODI ZA KUPANJE

Tijekom uzorkovanja 18. kolovoza 2023., na lokaciji Bajer Jug II su primijećene nakupine algalne biomase uz rub vodene površine i pontona na kojemu se kupaći okupljaju te su uzeti uzorci fitoplanktona (**Slika 14**).



**Slika 14:** Uzorkovanje fitoplanktona na lokaciji Bajer Jug II

Uzorci su analizirani prema smjernicama Svjetske zdravstvene organizacije (WHO, 2003.).

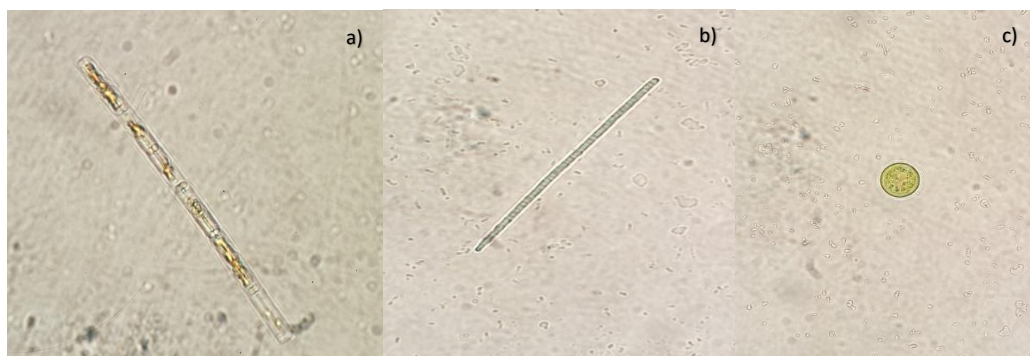
**Tablica 5:** Procjena stupnja rizika za pojavu štetnih učinaka na zdravlje čovjeka s obzirom na količinu cijanobakterija /ml vode

Broj stanica cijanobakterija / ml	Stupanj rizika
do 20 000	nizak
do 100 000	umjeren
vidljiva nakupina algalne biomase na površini	visok



Nekonzervirani uzorci su analizirani pod mikroskopom uz povećanje od 400 puta, a prisutne vrste su determinirane pomoću odgovarajuće literature. Potvrđena je prisutnost cijanobakterija, a zabilježene su vrste iz redova *Nostocales* (rod *Aphanizomenon* i rod *Pseudanabaena*), *Oscillatoriales* (rod *Limnothrix* i *Planktothrix*, **Slika 15 a) i b)**) i *Chroococcales* (rod *Microcystis*, **Slika 15c**)). Najzastupljenije su bile vrste iz reda *Nostocales* (rod *Aphanizomenon* i rod *Pseudanabaena*).

25. kolovoza 2023. je ponovljeno uzorkovanje vode na lokaciji Bajer Jug II. Nakupine algalne biomase na površini vode su i dalje bile prisutne, ali u manjim količinama u odnosu na uzorkovanje provedeno tjedan dana ranije. Mikroskopskom analizom je potvrđena prisutnost cijanobakterija. Zabilježene su vrste iz redova *Nostocales* (rod *Aphanizomenon* i rod *Pseudanabaena*) i *Oscillatoriales* (rod *Limnothrix* i *Planktothrix*). Najzastupljenije su bile vrste iz reda *Nostocales* (rod *Aphanizomenon* i rod *Pseudanabaena*). Obzirom na navedene kriterije (**Tablica 5**) i rezultate analiza voda za kupanje na lokaciji Bajer Jug II je imala visok rizik za pojavu štetnih učinaka na ljudsko zdravlje.



**Slika 15:** Cijanobakterije a) rod *Limnothrix*, b) rod *Planktothrix*, c) rod *Microcystis*

4. rujna 2023. je ponovljeno uzorkovanje radi procjene trenutnog stanja rizika od cvjetanja cijanobakterija te zabilježene vidljive nakupine algalne biomase na površini vode, a prozirnost vode je iznosila 1,50 m. Mikroskopskom analizom je potvrđena prisutnost cijanobakterija u maloj količini (218 cijanobakterija/ml) i utvrđen je nizak rizik za pojavu štetnih učinaka na zdravlje čovjeka.

14. rujna 2023. je napravljeno dodatno uzorkovanje. Prozirnost vode iznosila je 1,90 m, a rezultati analize pokazali su gustoću od 10 502 cijanobakterija/ml. Zabilježene su vrste iz redova *Chroococcales* (rod *Microcystis*) i *Oscillatoriales* (rod *Limnothrix*). Utvrđen je nizak rizik za pojavu štetnih učinaka na zdravlje čovjeka.

### 3.6. STATISTIČKA OBRADA REZULTATA

#### 3.6.1. Spearmanov koeficijent korelacije

Korelacija je statistički postupak za izračunavanje povezanosti dviju varijabli. Vrijednost korelacije brojčano se iskazuje koeficijentom korelacije, najčešće Pearsonovim ili Spearmanovim, koji se kreće u rasponu od -1 do 1, a može imati pozitivan (+) ili negativan (-) predznak, što nam govori o smjeru povezanosti. Negativan predznak koeficijenta korelacije znači da su dvije varijable povezane na način da ukoliko jedna varijabla u porastu, druga pada. Analogno tomu, pozitivan predznak znači da se obje varijable kreću u istom području.

Uz koeficijent korelacije ( $r$ ) potrebno je naznačiti i statističku značajnost ( $p$ ). Kod određivanja statističke značajnosti koeficijenta korelacije kao granica između statistički značajnih i statistički neznčajnih koeficijenta uzima se vrijednost 0,05. Ukoliko je  $p < 0,05$  koeficijent korelacije je značajan i potrebno ga je tumačiti, no ako je  $p > 0,05$  koeficijent korelacije nije značajan i bez obzira na njegovu vrijednost ne tumači se (Udovčić i sur., 2007.). Jačina povezanosti se može očitati iz Spearmanove tablice kritičnih vrijednosti (**Slika 16**), a njezina se primjena preporuča ukoliko je broj podataka manji od 30 ( $n < 30$ ) (Vulić, 2015.).

Pearsonov koeficijent korelacije podrazumijeva linearnu povezanost podataka, a za Spearmanov koeficijent korelacije to nije uvjet i može se računati na manjem broju uzoraka ( $n < 30$ ). Povezanost koncentracije dušičnih spojeva i ukupnog fosfora s mikrobiološkim pokazateljima određena je pomoću Spearmanovog koeficijenta korelacije. Spearmanov koeficijent korelacije je neparametarski koeficijent korelacije jer se koriste rangovi dobiveni na temelju izmjerenih podataka. Spearmanov koeficijent korelacije označava se sa „ $r_s$ “ i računa prema jednadžbi:

$$r_s = 1 - \frac{6 \sum_{i=1}^n d_i^2}{n^3 - n} \quad (2)$$

gdje je:

$n$  – broj podataka;

$d_i^2$  – kvadrat razlike između rangova prve i druge varijable.

$\alpha(2):$	0,50	0,20	0,10	0,05	0,02	0,01	0,005	0,002	0,001
$\alpha(1):$	0,25	0,10	0,05	0,025	0,01	0,005	0,0025	0,001	0,0005
$n$									
4	0,600	1,000	1,000						
5	0,500	0,800	0,900	1,000	1,000				
6	0,371	0,657	0,829	0,886	0,943	1,000	1,000		
7	0,321	0,571	0,714	0,786	0,893	0,929	0,964	1,000	1,000
8	0,310	0,524	0,643	0,738	0,833	0,881	0,905	0,952	0,976
9	0,267	0,483	0,600	0,700	0,783	0,833	0,867	0,917	0,933
10	0,248	0,455	0,564	0,648	0,745	0,794	0,830	0,879	0,903
11	0,236	0,427	0,536	0,618	0,709	0,755	0,800	0,845	0,873
12	0,217	0,406	0,503	0,587	0,678	0,727	0,769	0,818	0,846
13	0,209	0,385	0,484	0,560	0,648	0,703	0,747	0,791	0,824
14	0,200	0,367	0,464	0,538	0,626	0,679	0,723	0,771	0,802
15	0,189	0,354	0,446	0,521	0,604	0,654	0,700	0,750	0,779
16	0,182	0,341	0,429	0,503	0,582	0,635	0,679	0,729	0,762
17	0,176	0,328	0,414	0,485	0,566	0,615	0,662	0,713	0,748
18	0,170	0,317	0,401	0,472	0,550	0,600	0,643	0,695	0,728
19	0,165	0,309	0,391	0,460	0,535	0,584	0,628	0,677	0,712
20	0,161	0,299	0,380	0,447	0,520	0,570	0,612	0,662	0,696
21	0,156	0,292	0,370	0,435	0,508	0,556	0,599	0,648	0,681
22	0,152	0,284	0,361	0,425	0,496	0,544	0,586	0,634	0,667
23	0,148	0,278	0,353	0,415	0,486	0,532	0,573	0,622	0,654
24	0,144	0,271	0,344	0,406	0,476	0,521	0,562	0,610	0,642
25	0,142	0,265	0,337	0,398	0,466	0,511	0,551	0,598	0,630
26	0,138	0,259	0,331	0,390	0,457	0,501	0,541	0,587	0,619
27	0,136	0,255	0,324	0,382	0,448	0,491	0,531	0,577	0,608
28	0,133	0,250	0,317	0,375	0,440	0,483	0,522	0,567	0,598
29	0,130	0,245	0,312	0,368	0,433	0,475	0,513	0,558	0,589
30	0,128	0,240	0,306	0,362	0,425	0,467	0,504	0,549	0,580
31	0,126	0,236	0,301	0,356	0,418	0,459	0,496	0,541	0,571
32	0,124	0,232	0,296	0,350	0,412	0,452	0,489	0,533	0,563
33	0,121	0,229	0,291	0,345	0,405	0,446	0,482	0,525	0,554
34	0,120	0,225	0,287	0,340	0,399	0,439	0,475	0,517	0,547
35	0,118	0,222	0,283	0,335	0,394	0,433	0,468	0,510	0,539
36	0,116	0,219	0,279	0,330	0,388	0,427	0,462	0,504	0,533
37	0,114	0,216	0,275	0,325	0,383	0,421	0,456	0,497	0,526
38	0,113	0,212	0,271	0,321	0,378	0,415	0,450	0,491	0,519
39	0,111	0,210	0,267	0,317	0,373	0,410	0,444	0,485	0,513
40	0,110	0,207	0,264	0,313	0,368	0,405	0,439	0,479	0,507
41	0,108	0,204	0,261	0,309	0,364	0,400	0,433	0,473	0,501
42	0,107	0,202	0,257	0,305	0,359	0,395	0,428	0,468	0,495
43	0,105	0,199	0,254	0,301	0,355	0,391	0,423	0,463	0,490
44	0,104	0,197	0,251	0,298	0,351	0,386	0,419	0,458	0,484
45	0,103	0,194	0,248	0,294	0,347	0,382	0,414	0,453	0,479
46	0,102	0,192	0,246	0,291	0,343	0,378	0,410	0,448	0,474
47	0,101	0,190	0,243	0,288	0,340	0,374	0,405	0,443	0,469
48	0,100	0,188	0,240	0,285	0,336	0,370	0,401	0,439	0,465
49	0,098	0,186	0,238	0,282	0,333	0,366	0,397	0,434	0,460
50	0,097	0,184	0,235	0,279	0,329	0,363	0,393	0,430	0,456

Slika 16: Spearmanova tablica kritičnih vrijednosti

Prvi korak u izračunavanju Spearmanovog koeficijenta korelacije je rangiranje vrijednosti varijable ranga tako da se najvećoj vrijednosti pridružuje rang 1, slijedećoj manjoj rang 2 i tako redom do najmanje vrijednosti. Vrijednosti se mogu rangirati i obrnutim redoslijedom, ali je važno da se oba skupa varijabli rangiraju na isti način. Nakon toga se izračunava razlika rangova

i kvadrat razlike rangova te se dobiveni podaci uvrštavaju u jednadžbu (2). Vrijednosti koeficijenta korelacije i njihova tumačenja prikazane su u **Tablici 6** (Ličina i Lisjak, 2014.).

**Tablica 6:** Vrijednosti koeficijenta korelacije i njihova tumačenja

r		Opis povezanosti
-1		potpuna negativna korelacija
-1	-0,7	snažna negativna korelacija
-0,7	-0,3	umjerena negativna korelacija
-0,3	+0,3	slaba korelacija (ili bez korelacije r=0)
+0,3	+0,7	umjerena pozitivna korelacija
+0,7	+1	snažna pozitivna korelacija
+1		potpuna pozitivna korelacija

### 3.6.2. Percentili

Percentili su kvantili reda 100 i predstavljaju određeni postotak rezultata u nekom skupu koji su poredani od većeg prema manjem. 90-i i 95-i percentili se izračunavaju prema sljedećim jednadžbama:

$$90\text{-i percentil} = \text{antilog} (\mu + 1.282 \sigma) \quad (3)$$

$$95\text{-i percentil} = \text{antilog} (\mu + 1.65 \sigma) \quad (4)$$

Najprije se izračunaju vrijednosti logaritma iz broja poraslih kolonija u 100 ml uzorka, a zatim njihova aritmetička sredina ( $\mu$ ) i standardna devijacija ( $\sigma$ ). Dobivene vrijednosti se uvrste u jednadžbe (3) i (4).

Standardi za ocjenu kakvoće voda na kraju sezone kupanja i za prethodne tri sezone kupanja se određuju na temelju vrijednosti 90-og i 95-og percentila te se prema njima svrstavaju u kategorije "izvrsna", "dobra", "zadovoljavajuća" ili "nezadovoljavajuća".

## **4. REZULTATI I RASPRAVA**

U kupališnoj sezoni 2023. godine na pet kupališta na području Grada Osijeka analizirano je ukupno 39 uzoraka vode za kupanje na mikrobiološke i fizikalno-kemijske parametre. Nakon svakog uzorkovanja na temelju rezultata analiza na mikrobiološke pokazatelje, voda za kupanje se svrstava u kategoriju izvrsna, dobra ili nije zadovoljavajuća. Po završetku kupališne sezone prema prikupljenim podacima o kakvoći vode i na temelju vrijednosti 90-og i 95-og percentila, voda za kupanje svrstava se u jednu od četiri kategorije kakvoće (nezadovoljavajuće, zadovoljavajuće, dobre ili izvrsne), sukladno Uredbi o kakvoći vode za kupanje (NN 51/2014). Na lokaciji Bajer Jug II u kupališnoj sezoni 2023. je obavljeno sedam uzorkovanja na mikrobiološke parametre umjesto planiranih osam zbog pojave cijanobakterija u drugoj polovici kolovoza. Prema navedenoj Uredbi, monitoring kakvoće vode se obustavlja za vrijeme kiše, jakog vjetra ili pojave proliferacije cijanobakterija te se nastavlja po prestanku navedenih pojava. Obzirom da cijanobakterije nisu bile prisutne tijekom zadnjeg uzorkovanja, 4. rujna 2023. godine su uzeti uzorci na lokaciji Bajer Jug II za analizu mikrobioloških pokazatelja.

#### 4.1. OCJENA KAKVOĆE VODE NAKON SVAKOG UZORKOVANJA

Standardi za kakvoću vode nakon svakog uzorkovanja se određuju prema vrijednostima poraslih kolonija pojedinog pokazatelja na 100 ml uzorka. U **Tablici 7** su prikazani rezultati mikrobioloških analiza i ocjena kakvoće vode nakon svakog uzorkovanja na lokacijama Drava Copacabana, Drava Željeznički most, Drava Pampas, Našički bajer i Bajer Jug II.

**Tablica 7:** Rezultati mikrobioloških analiza i ocjena kakvoće vode nakon svakog ispitivanja po lokacijama

Kupalište	Datum uzorkovanja	Ocjena kakvoće vode		Crijevni enterokoki (bik/100 ml)	<i>Escherichia coli</i> (bik/100 ml)
		Crijevni enterokok	<i>Escherichia coli</i>		
Drava Copacabana	22.5.2023.	IZVRSNA	IZVRSNA	31	90
	5.6.2023.	IZVRSNA	IZVRSNA	56	170
	19.6.2023.	IZVRSNA	IZVRSNA	26	130
	3.7.2023.	IZVRSNA	IZVRSNA	68	220
	17.7.2023.	IZVRSNA	IZVRSNA	68	280
	1.8.2023.	IZVRSNA	IZVRSNA	160	280
	24.8.2023.	IZVRSNA	IZVRSNA	53	260
	4.9.2023.	DOBRA	DOBRA	400	530
Drava Donji grad –	22.5.2023.	IZVRSNA	IZVRSNA	29	140
	5.6.2023.	IZVRSNA	IZVRSNA	49	110
	19.6.2023.	IZVRSNA	IZVRSNA	34	170

#### 4. Rezultati i rasprava

željeznički most	3.7.2023.	IZVRSNA	IZVRSNA	50	210
	17.7.2023.	IZVRSNA	IZVRSNA	60	350
	1.8.2023.	IZVRSNA	IZVRSNA	77	260
	24.8.2023.	IZVRSNA	IZVRSNA	61	310
	4.9.2023.	DOBRA	DOBRA	340	700
Drava Pampas	22.5.2023.	IZVRSNA	IZVRSNA	39	100
	5.6.2023.	IZVRSNA	IZVRSNA	150	100
	19.6.2023.	IZVRSNA	IZVRSNA	33	210
	3.7.2023.	IZVRSNA	IZVRSNA	18	100
	17.7.2023.	DOBRA	IZVRSNA	330	260
	1.8.2023.	IZVRSNA	IZVRSNA	160	470
	24.8.2023.	IZVRSNA	IZVRSNA	80	180
	4.9.2023.	DOBRA	IZVRSNA	390	450
Bajer Jug II	22.5.2023.	IZVRSNA	IZVRSNA	120	4
	5.6.2023.	DOBRA	IZVRSNA	340	8
	19.6.2023.	IZVRSNA	IZVRSNA	7	1
	3.7.2023.	IZVRSNA	IZVRSNA	22	8
	17.7.2023.	IZVRSNA	IZVRSNA	8	4
	1.8.2023.	IZVRSNA	IZVRSNA	13	12
	16.8.2023.	VODA NIJE ZA KUPANJE		-	-
	4.9.2023.	IZVRSNA	IZVRSNA	78	8
Našički bajer	22.5.2023.	DOBRA	IZVRSNA	270	25
	5.6.2023.	IZVRSNA	IZVRSNA	29	20
	19.6.2023.	IZVRSNA	IZVRSNA	7	10
	3.7.2023.	IZVRSNA	IZVRSNA	3	6
	17.7.2023.	IZVRSNA	IZVRSNA	6	9
	1.8.2023.	IZVRSNA	IZVRSNA	110	190
	16.8.2023.	IZVRSNA	IZVRSNA	160	23
	4.9.2023.	DOBRA	IZVRSNA	220	24

Voda za kupanje na lokaciji Bajer Jug II je nakon zadnjeg uzorkovanja ocjenjena kao izvrsna na mikrobiološke pokazatelje, međutim zbog pojave cijanobakterija zabranjeno je kupanje.

#### 4.2. OCJENA KAKVOĆE VODE NAKON ZAVRŠETKA KUPALIŠNE SEZONE

Godišnja ocjena kakvoće vode za kupanje se određuje po završetku sezone kupanja prema граниčnim vrijednostima mikrobioloških pokazatelja iz Uredbe o kakvoći voda za kupanje (NN br.51/2014). Na temelju rezultata mikrobioloških analiza vode nakon svakog uzorkovanja izračunava se godišnja ocjena i voda za kupanje se razvrstava kao izvrsna, dobra, zadovoljavajuća i nezadovoljavajuća.

U **Tablici 8** je prikazana ocjena kakvoće uzorkovanih voda za kupanje na kupalištima Grada Osijeka na kraju kupališne sezone temeljeno na vrijednosti 95-og percentila ili 90-og percentila.

**Tablica 8:** Godišnja ocjena kakvoće za kupanje na kupalištima u gradu Osijeku

Mjesto uzorkovanja	Crijevni enterokoki		<i>Escherichia coli</i>		Ocjena kakvoće vode na kraju sezone kupanja
	90-i percentil	95-i percentil	90-i percentil	95-i percentil	
Drava - Copacabana	224	310	443	528	Dobra
Drava – Donji Grad	164	217	507	629	Dobra
Drava Pampas	390	589	445	564	Nezadovoljavajuća
Bajer Jug II	223	399	15	21	Dobra
Našički bajer, Osijek	380	740	78	115	Nezadovoljavajuća

Unatoč pojave cijanobakterija voda za kupanje na lokaciji Bajer Jug II je prema izračunatim vrijednostima 95-og percentila za mikrobiološke pokazatelje ocjenjena kao dobra. 16. kolovoza 2023. obustavljen je monitoring vode na navedenoj lokaciji zbog proliferacije cijanobakterija te je izdana preporuka da voda nije za kupanje.

4. rujna 2023. godine je ponovljeno uzorkovanje te je na temelju rezultata analize utvrđen nizak rizik za zdravlje ljudi na lokaciji Bajer Jug II.

### 4.3. KORELACIJA FIZIKALNO–KEMIJSKIH PARAMETARA S MIKROBIOLOŠKIM POKAZATELJIMA

Pomoću Spearmanovog koeficijenta korelacije ispitan je stupanj povezanosti između analiziranih mikrobioloških parametara (*E. coli* i crijevnih enterokoka) te fizikalno-kemijskih parametara (ukupni dušik, ukupni fosfor i pH) koji bi mogli imati utjecaj na vrijednosti navedenih analiziranih mikrobioloških pokazatelja.

U **Tablici 9** prikazani su rezultati fizikalno–kemijskih analiza u kupališnoj sezoni 2023., a u **Tablicama 10 - 14** su prikazani koeficijenti korelacije fizikalno–kemijskih parametara s mikrobiološkim pokazateljima te razina značajnosti po lokacijama (p-vrijednost).

Spearmanov koeficijent može imati vrijednosti između +1 i –1. Pozitivna vrijednost koeficijenta ukazuje na pozitivnu korelaciju, odnosno porast jedne varijable uzrokuje porast druge, a negativni kad je korelacija negativna, odnosno porast jedne varijable odgovara smanjenju druge varijable. Korelacija je značajna ukoliko ima vrijednost 1, ili -1, odnosno slaba ukoliko je vrijednost bliža nuli.



**Tablica 9:** Rezultati fizikalno–kemijskih analiza kupališta u razdoblju od 22. svibnja do 4. rujna 2023.

Kupalište	Datum uzorkovanja	Ukupni dušik (TN) (mg/l)	NH <sub>4</sub> (mg/l)	NO <sub>3</sub> (mg/l)	NO <sub>2</sub> (mg/l)	Ukupni fosfor (UP) (mg/l)	Ortofosfat i (mg/l)	pH
Drava Copacabana	22.5.2023.	2,1	<0,0039	1,4	<0,030	0,06	0,042	7,8
	5.6.2023.	1,1	<0,0039	0,84	<0,030	<0,05 (0,03)	0,022	8,2
	19.6.2023.	1,3	0,046	0,79	<0,030	<0,05 (0,03)	0,022	8,2
	3.7.2023.	1,1	0,029	0,73	<0,030	<0,05 (0,04)	0,023	8,3
	17.7.2023.	1,1	<0,0039	0,92	<0,030	0,05	0,032	8,2
	1.8.2023.	1,5	<0,0039	0,89	<0,030	0,06	0,038	7,9
	24.8.2023.	1,4	<0,0039	0,98	<0,030	<0,05 (0,03)	0,015	8,1
4.9.2023.	1,2	<0,0039	0,91	<0,030	0,07	0,022	8,1	
Drava Donji grad-željeznički most	22.5.2023.	2,1	0,031	1,5	<0,030	0,05	0,043	7,8
	5.6.2023.	1,1	<0,0039	0,88	<0,030	0,06	0,050	8,0
	19.6.2023.	1,1	0,072	0,79	<0,030	<0,05 (0,04)	0,021	8,1
	3.7.2023.	1,2	0,039	0,78	<0,030	<0,05 (0,03)	0,023	8,2
	17.7.2023.	1,1	<0,0039	0,90	<0,030	0,06	0,031	8,1
	1.8.2023.	1,5	<0,0039	0,90	<0,030	0,10	0,037	7,8
	24.8.2023.	1,5	<0,0039	0,99	<0,030	<0,05 (0,02)	0,019	7,8
4.9.2023.	1,2	<0,0039	0,91	<0,030	<0,05 (0,03)	0,022	8,1	
Drava Pampas	22.5.2023.	2,1	0,021	1,6	0,032	0,07	0,050	7,7
	5.6.2023.	1,1	<0,0039	0,81	<0,030	<0,05 (0,04)	0,037	8,1
	19.6.2023.	1,1	0,025	0,73	<0,030	<0,05 (0,03)	0,021	8,2
	3.7.2023.	1,1	0,048	0,73	<0,030	<0,05 (0,04)	0,026	8,4
	17.7.2023.	1,1	<0,0039	0,88	<0,030	<0,05 (0,04)	0,033	8,1
	1.8.2023.	1,7	<0,0039	0,87	<0,030	0,09	0,032	7,9
	24.8.2023.	1,2	<0,0039	0,95	<0,030	0,05	0,043	7,7
4.9.2023.	1,1	<0,0039	0,89	<0,030	<0,05 (0,03)	0,022	8,1	
Bajer Jug II	22.5.2023.	0,71	<0,0039	<0,11	<0,030	<0,05 (0,04)	0,021	8,4
	5.6.2023.	0,58	<0,0039	<0,11	<0,030	0,05	0,026	8,3
	19.6.2023.	0,52	0,025	<0,11	<0,030	0,07	0,033	8,5
	3.7.2023.	0,52	0,036	<0,11	<0,030	0,09	0,055	8,3
	17.7.2023.	0,65	0,028	<0,11	<0,030	0,05	0,022	8,6
	1.8.2023.	1,1	<0,0039	<0,11	<0,030	<0,05 (0,04)	0,017	8,6
	4.9.2023.	1,5	0,28	<0,11	<0,030	<0,05 (0,04)	0,021	8,2
Našički bajer	22.5.2023.	0,83	<0,0039	0,15	<0,030	<0,05 (0,03)	<0,010	8,3
	5.6.2023.	0,74	<0,0039	<0,11	<0,030	<0,05 (0,01)	<0,010	8,4
	19.6.2023.	1,2	0,0090	<0,11	<0,030	<0,05 (0,03)	<0,010	8,5
	3.7.2023.	0,94	0,042	<0,11	<0,030	<0,05 (0,03)	<0,010	8,4
	17.7.2023.	0,70	<0,0039	<0,11	<0,030	<0,05 (0,04)	0,02	8,6
	1.8.2023.	1,2	<0,0039	<0,11	<0,030	<0,05 (0,04)	<0,010	8,3
	16.8.2023.	0,96	<0,0039	<0,11	<0,030	<0,05 (0,02)	<0,010	8,2
4.9.2023.	0,83	<0,0039	<0,11	<0,030	<0,05 (0,02)	0,010	8,4	

**Tablica 10:** Koeficijenti korelacije fizikalno–kemijskih parametara (ukupni dušik (TN), ukupni fosfor (UP) i pH) s mikrobiološkim pokazateljima (crijevni enterokoki (CE) i *E. coli* (EC)) te razina značajnosti (p-vrijednost) na mjestu uzorkovanja Drava Copacabana

	CE/TN	CE/UP	CE/pH	EC/TN	EC/UP	EC/pH
<b>Spearmanov koeficijent korelacije</b>	-0,256	0,6548	0,0238	-0,1964	0,494	0
<b>p-vrijednost</b>	> 0,50	0,50	> 0,50	> 0,50	0,50	0

Spearmanov koeficijent imao je niske vrijednosti korelacije među analiziranim parametrima na mjestu uzorkovanja Drava Copacabana.

Negativne vrijednosti korelacije utvrđene su za odnos pojavnosti crijevnih enterokoka i ukupnog dušika te odnos između pojavnosti *E. coli* i ukupnog dušika, dok su ostale vrijednosti pokazale slabu pozitivnu korelaciju.

Statistička značajnost (p) je kod svih korelacija bila  $p > 0,05$  što ukazuje da izračunati koeficijenti korelacije nisu značajni te da se njihova vrijednost ne tumači (Udovčić i sur., 2007.).

**Tablica 11:** Koeficijenti korelacije fizikalno–kemijskih parametara (ukupni dušik (TN), ukupni fosfor (UP) i pH) s mikrobiološkim pokazateljima (crijevni enterokoki (CE) i *E. coli* (EC)) te razina značajnosti (p-vrijednost) na mjestu uzorkovanja Drava Donji grad - željeznički most

	CE/TN	CE/UP	CE/pH	EC/TN	EC/UP	EC/pH
<b>Spearmanov koeficijent korelacije</b>	0,1429	-0,1071	0,048	0,0714	-0,2738	0,2381
<b>p-vrijednost</b>	> 0,50	> 0,50	> 0,50	> 0,50	> 0,50	> 0,50

Spearmanov koeficijent imao je niske vrijednosti korelacije među analiziranim parametrima na mjestu uzorkovanja Drava Donji grad - željeznički most.

Negativne vrijednosti korelacije utvrđene su za odnos pojavnosti crijevnih enterokoka i ukupnih fosfora te odnos između pojavnosti *E. coli* i ukupnog fosfora. Ostale izračunate vrijednosti imale su nisku pozitivnu vrijednost korelacije.

Statistička značajnost ( $p$ ) je kod svih korelacija bila  $p > 0,05$  što ukazuje da izračunati koeficijenti korelacije nisu značajni te da se njihova vrijednost ne tumači (Udovčić i sur., 2007.).

**Tablica 12:** Koeficijenti korelacije fizikalno–kemijskih parametara (ukupni dušik (TN), ukupni fosfor (UP) i pH) s mikrobiološkim pokazateljima (crijevni enterokoki (CE) i *E. coli* (EC)) te razina značajnosti ( $p$ -vrijednost) na mjestu uzorkovanja Drava Pampas

	CE/TN	CE/UP	CE/pH	EC/TN	EC/UP	EC/pH
<b>Spearmanov koeficijent korelacije</b>	0,0476	- 0,1429	-0,244	0,1429	0,006	- 0,0179
<b>p-vrijednost</b>	> 0,50	> 0,50	> 0,50	> 0,50	> 0,50	> 0,50

Spearmanov koeficijent imao je niske vrijednosti korelacije među analiziranim parametrima na mjestu uzorkovanja Drava Pampas.

Negativne vrijednosti korelacije utvrđene su za odnos pojavnosti crijevnih enterokoka i ukupnog fosfora, crijevnih enterokoka i pH te između pojavnosti *E. coli* i pH, dok su ostale vrijednosti pokazale slabe pozitivne korelacije.

Statistička značajnost ( $p$ ) je kod svih korelacija bila  $p > 0,05$  što ukazuje da izračunati koeficijenti korelacije nisu značajni te da se njihova vrijednost ne tumači (Udovčić i sur., 2007.).

**Tablica 13:** Koeficijenti korelacije fizikalno–kemijskih parametara (ukupni dušik (TN), ukupni fosfor (UP) i pH) s mikrobiološkim pokazateljima (crijevni enterokoki (CE) i *E. coli* (EC)) te razina značajnosti ( $p$ -vrijednost) na mjestu uzorkovanja Bajer Jug II

	CE/TN	CE/UP	CE/pH	EC/TN	EC/UP	EC/pH
<b>Spearmanov koeficijent korelacije</b>	0.2768	- 0,3125	- 0,625	0,4643	- 0,2143	- 0,125
<b>p-vrijednost</b>	> 0,50	> 0,50	0,20	0,50	> 0,50	> 0,50

Spearmanov koeficijent imao je niske vrijednosti korelacije među analiziranim parametrima na mjestu uzorkovanja Bajer Jug II.

Negativne vrijednosti korelacije utvrđene su za odnos pojavnosti crijevnih enterokoka i ukupnog fosfora, crijevnih enterokoka i pH te između pojavnosti *E. coli* i pH, dok su ostale vrijednosti pokazale slabe pozitivne korelacije.

Statistička značajnost ( $p$ ) je kod svih korelacija bila  $p > 0,05$  što ukazuje da izračunati koeficijenti korelacije nisu značajni te da se njihova vrijednost ne tumači (Udovčić i sur., 2007.).

**Tablica 14:** Koeficijenti korelacije fizikalno–kemijskih parametara (ukupni dušik (TN), ukupni fosfor (UP) i pH) s mikrobiološkim pokazateljima (crijevni enterokoki (CE) i *E. coli* (EC)) te razina značajnosti ( $p$ -vrijednost) na mjestu uzorkovanja Našički bajer

	CE/TN	CE/UP	CE/pH	EC/TN	EC/UP	EC/pH
<b>Spearmanov koeficijent korelacije</b>	0,1429	- 0,2738	- 0,6012	0,2738	0,0238	- 0,625
<b>p-vrijednost</b>	> 0,50	> 0,50	0,20	> 0,50	> 0,50	0,20

Spearmanov koeficijent imao je niske vrijednosti korelacije među analiziranim parametrima na mjestu uzorkovanja Našički bajer.

Negativne vrijednosti korelacije utvrđene su za odnos pojavnosti crijevnih enterokoka i ukupnog fosfora, crijevnih enterokoka i pH te između pojavnosti *E. coli* i pH, dok su ostale vrijednosti pokazale slabe pozitivne korelacije.

Statistička značajnost ( $p$ ) je kod svih korelacija bila  $p > 0,05$  što ukazuje da izračunati koeficijenti korelacije nisu značajni te da se njihova vrijednost ne tumači (Udovčić i sur., 2007.).

## **5. ZAKLJUČCI**

Cilj ovog rada bio je uzorkovanjem i analizama utvrditi mikrobiološku kakvoću vode za kupanje javnih kupališta Grada Osijeka te donijeti ocjenu o kakvoću vode za kupanje prema Uredbi o kakvoći voda za kupanje (NN 51/2014).

Uzorkovanje i analize vode provedene su tijekom kupališne sezone 2023. godine, odnosno u razdoblju od 22. svibnja 2023. do 4. rujna 2023. godine.

Kakvoća vode za kupanje na javnim kupalištima Grada Osijeka ocjenjena je analizom mikrobioloških parametara (crijevni enterokoki i *Escherichia coli*) te analizom fizikalno-kemijskih parametara (pH vrijednost, koncentracija nitrita, nitrata, ukupnog dušika, ukupnog fosfora i ortofosfata).

Na temelju rezultata analiza navedenih pokazatelja kakvoća vode je ocjenjena za svako pojedinačno uzorkovanje te je dana godišnja ocjena.

Statističkom obradom rezultata ispitano je postojanje međusobne povezanosti analiziranih pokazatelja kakvoće vode.

Ocjene kakvoće voda za kupanje nakon svakog ispitivanja u sezoni kupanja 2023. bile su uglavnom „izvrsne“ i „dobre“ kakvoće na svim lokacijama za kupanje, osim pri pojavi cijanobakterija zabilježenih pri uzorkovanju dana 16.8.2023. godine na lokaciji Bajer Jug II, kada je voda proglašena neprikladnom za kupanje. Istog dana obustavljena je mikrobiološka analiza jer je zbog količine cijanobakterija utvrđen rizik za zdravlje kupaća.

Na temelju rezultata analiza sukladno Uredbi o kakvoći voda za kupanje (NN 51/2014), voda za kupanje na lokacijama Bajer Jug II, Drava Copacabana i Drava Donji grad su ocjenjene kao dobre, dok su vode za kupanje na lokacijama Drava Pampas i Našički bajer ocjenjene kao nezadovoljavajuće.

Analizama kakvoće vode za kupanje na javnim kupalištima Grada Osijeka utvrđeno je:

- Maksimalna koncentracija ukupnog dušika je izmjerena nakon prvog uzorkovanja (22. svibnja 2023.) i iznosila je 2,1 mg N/l na lokacijama Drava Copacabana, Drava Donji grad i Drava Pampas.
- Koncentracije nitrita na svim lokacijama su bile ispod granice kvantifikacije (LOQ < 0,030 mg/l).
- Koncentracije amonijevih iona na svim lokacijama su bile blizu ili ispod granice kvantifikacije (LOQ < 0,0039 mg/l).

- Koncentracije nitrata na lokacijama Drava Copacabana, Drava Donji grad i Drava Pampas bile su u rasponu od 0,73 do 1,6 mg/l, a na lokacijama Bajer Jug II i Našički bajer ispod granice kvantifikacije (LOQ < 0,11 mg/l).
- Najveća izmjerena koncentracija ortofosfata je iznosila 0,055 mg/l na lokaciji Bajer Jug II 3. srpnja 2023., dok su vrijednosti na Našičkom bajeru većinom bile ispod granice kvantifikacije (LOQ < 0,010).
- pH vrijednost se na svim lokacijama kretala od 7,7 do 8,6.

Unatoč zabilježenim niskim koncentracijama dušikovih spojeva i spojeva fosfata, tijekom uzorkovanja 16. kolovoza 2023. godine utvrđena je prisutnost cijanobakterija u uzorcima vode na mjestu uzorkovanja Bajeru Jug II. Vrijednost koncentracija cijanobakterija u uzorcima vode na istom mjestu uzorkovanja ponovno je bila u skladu s navedenom Uredbom dana 4. rujna 2023. godine.

Pomoću Spearmanovog koeficijenta korelacije ispitan je stupanj povezanosti između promatranih mikrobioloških pokazatelja i fizikalno - kemijskih parametara. Na svim lokacijama je utvrđena slaba korelacija (pozitivna ili negativna) među pojedinim mikrobiološkim i fizikalno-kemijskim pokazateljima, no s obzirom da je razina značajnosti (p-vrijednost) za sve izračunate koeficijente korelacije veća od 0,05, koeficijent korelacije nije značajan i ne tumači se. Razlog slabe ili umjerene korelacije i visoke p-vrijednost je odsutnost velikih odstupanja u rezultatima, odnosno vrlo niskih koncentracija ukupnog dušika i ukupnog fosfora u svim ispitanim uzorcima vode.

## **6. LITERATURA**



- Ashbolt N.J., Grabow W. O. K., Snozzi M.: Water quality : Guidelines, standards and health : Assessment of risk and risk management for water-related infectious diseases, World Health Organization, IWA Publishing, ISBN 1 900222 28 0 (IWA Publishing), ISBN 92 4 154533 X (World Health Organization), 2001.
- Bolanča T. i Ukić Š.: Ionska kromatografija, Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, 2013.
- Chen L.H.: Global Nitrogen Cycle and Excess Nitrogen, Stanford University, 2015.
- Dekić S. i Hrenović J.: Bakteriološka analiza izvorske vode uz najpoznatija izletišta parka Medvednica, Hrvatske vode, Vol. 25 No. 99, str. 13-16, 2017.
- Drobac D., Tokodi N., Simeunović J., Baltić V., Stanić D., Svirčev Z.: Putevi izloženosti ljudi cijanotoksinima i njihovi utjecaji na zdravlje, Arhiv za higijenu rada i toksikologiju, Vol. 64 No. 2, str. 305-315, pregledni rad, 2013.
- EPA, Standard Operating Procedure for Phytoplankton Analysis, LG401, Version 07, 2021.
- Frece J., Markov K.: Uvod u mikrobiologiju i fizikalno-kemijsku analizu voda, Institut za sanitarno inženjerstvo, 2015.
- Galić D.: Kakvoća vode za kupanje zagrebačkih kupališta na Jarunu i Bundeku, Sveučilište u Rijeci, Medicinski fakultet, diplomski rad, 2019.
- Higuita N.I. A i Huycke M.M.: EEnterococcal Disease, Epidemiology, and Implications for Treatment, In: Enterococci: From Commensals to Leading Causes of Drug Resistant Infection , Boston, Massachusetts Eye and Ear Infirmary; 2014.
- HRN EN ISO 10304-1:2009, Kakvoća vode - Određivanje otopljenih aniona ionskom tekućinskom kromatografijom - 1. dio: Određivanje bromida, klorida, fluorida, nitrata, nitrita, fosfata i sulfata
- HRN EN ISO 10523:2012, Kvaliteta vode - Određivanje pH vrijednosti
- HRN EN ISO 14911:2001, Kakvoća vode - Određivanje otopljenih  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Sr}^{2+}$  i  $\text{Ba}^{2+}$  ionskom kromatografijom - Metoda za vode i otpadne vode
- HRN EN ISO 19458:2008 Kakvoća vode – Uzorkovanje za mikrobiološku analizu

- HRN EN ISO 20236:2021, Kvaliteta vode - Određivanje ukupnoga organskog ugljika (TOC), otopljenoga organskog ugljika (DOC), ukupnoga vezanog dušika (TNb) i otopljenoga vezanog dušika (DNb) nakon visokotemperaturne katalitičke oksidacije
- HRN EN ISO 5667-3:2018, Kakvoća vode – Uzorkovanje – 3.dio: Čuvanje i rukovanje uzorima vode
- HRN EN ISO 6878:2008, Kakvoća vode - Određivanje fosfora - Spektrometrijska metoda s amonijevim molibdatom
- HRN EN ISO 7899-2:2000, Kakvoća vode -- Detekcija i brojenje crijevnih enterokoka - 2. dio: Metoda membranske filtracije (ISO 7899-2:2000; EN ISO 7899-2:2000)
- HRN EN ISO 9308-1:2014, Kvaliteta vode - Brojenje Escherichia coli i koliformnih bakterija - 1. dio: Metoda membranske filtracije za vode s niskom pozadinom bakterijske flore (ISO 9308-1:2014; EN ISO 9308-1:2014)
- HRN EN ISO 9308-1:2014/A1:2017 Kvaliteta vode - Brojenje Escherichia coli i koliformnih bakterija - 1. dio: Metoda membranske filtracije za vode s niskom pozadinom bakterijske flore (ISO 9308-1:2014/Amd 1:2016; EN ISO 9308-1:2014/A1:2017)
- FKIT, 2023. [https://www.fkit.unizg.hr/\\_download/repository/Zrak.pdf](https://www.fkit.unizg.hr/_download/repository/Zrak.pdf) (datum pristupa 24.5.2023.)
- Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada, Godišnji izvještaj, 2010.
- Klapec T., Šarkanj B., Marček T.: Opasnosti vezane uz hranu, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, Zavod za primijenjenu kemiju i ekologiju, 2022.
- Kolda A., Metode istraživanja cijanobakterija u vodenim ekosustavima, Institut Ruđer Bošković Zagreb, stručni članak, 2018., UDK 504.4.054
- Kołwzan B., Adamiak W., Grabas K., Pawełczyk A.: Introduction to environmental microbiology, ISBN 83-7085-880-5, 2006.
- Kuveždić Z., Utjecaj godišnjih doba na učinkovitost biološke obrade otpadnih voda grada Vinkovaca, Specijalistički rad, Sveučilište J.J Strossmayera u Osijeku, Institut R. Bošković Zagreb, 2016.

- Ličina I. i Lisjak D.: Primjena statističkih metoda s naglaskom na trend, korelaciju i regresiju, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku Ekonomski fakultet u Osijeku, Seminarski rad iz kolegija Revizija financijskih institucija, 2014.
- Mur L. R., Skulberg O. M., Utkilen H.: Toxic Cyanobacteria in Water: A guide to their public health consequences, monitoring and management, WHO, ISBN 0-419-23930-8, 1999.
- Nujić M., Habuda-Stanić M.: Nitrates and nitrites, metabolism and toxicity, Food in Health and Disease, scientific-professional journal of nutrition and dietetics, 6 (2) 48-89, 2017.
- Rompre A., Servais P., Baudart J., de Roubin M.R., Laurent P.: Detection and enumeration of coliforms in drinking water: Current methods and emerging approaches, Journal of Microbiological Methods 49, 31-54, DOI: 10.1016/s0167-7012(01)00351-7, 2002.
- Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 24th Edition, American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation, 2023.
- Sučić H., Santo V., Čavar S., Kralj M., Kolarić D., Babić H.: Validacija analitičke metode za određivanje ukupnog dušika (TN) u otpadnim vodama, Zbornik radova, 263. - 269., 7. međunarodni znanstveno-stručni skup Voda za sve, Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, 2017.
- Udovčić M., Baždarić K., Bilić-Zulle L., Petrovečki M.: Što treba znati kada izračunavamo koeficijent korelacije?, Biochemia Medica; 17(1):1–138, 2007.
- Vlada Republike Hrvatske, Uredba o kakvoći vode za kupanje, NN 51/2014
- Vulić M.: Upotreba koeficijenta korelacije u procjeni podrijetla nitrata na području zagrebačkog vodonosnika, Sveučilište u Zagrebu, Rudarsko-geološko-naftni fakultet, diplomski rad, 2015.
- Vurnek M.: Utjecaj eksperimentalne eutrofikacije na makrozoobentos u sedrotvornom sustavu Plitvičkih jezera, Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet, doktorski rad, 2018.
- WHO, Guidelines for Drinking-Water Quality - Second Edition - Volume 2 – Health Criteria and Other Supporting Information, 1996.
- WHO: Guidelines for safe recreational water environments, Volume 1: Coastal and fresh waters, 2003.

Hrvatski sabor, Zakon o vodama, NN 66/2019, NN 84/2021, NN 47/2023