Upotreba izosana-G u postizanju zdravstvene ispravnosti vode za piće

Kurečić, Martina

Master's thesis / Diplomski rad

2011

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:217:479800

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb

Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno – matematički fakultet
Biološki odsjek

Martina Kurečić

UPOTREBA IZOSANA-G U POSTIZANJU ZDRAVSTVENE ISPRAVNOSTI VODE ZA PIĆE

Diplomski rad

Zagreb, 2011. godina

Ovaj rad izrađen je na Zavodu za mikrobiologiju Prirodoslovno-matematičkog fakulteta pod vodstvom prof. dr. sc. Jasne Hrenović, predan je na ocjenu Biološkom odsjeku Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu radi stjecanja zvanja dipl. ing. biologije, smjer ekologija.

ZAHVALA

Diplomski rad izradila sam na Zavodu za mikrobiologiju Biološkog Odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu.

Najprije zahvaljujem svojoj mentorici, prof. dr. sc. Jasni Hrenović na pomoći i stručnom vodstvu. Puno hvala mojim roditeljima, posebno mami Zdenki te sestri Nini na velikoj potpori i razumijevanju tijekom cijelog studija.

Veliko hvala mojem Danijelu i sinu Mihaelu što su uspješno prebrodili sve moje različite faze raspoloženja tijekom studiranja.

Hvala stricu Zvonku na pruženom smještaju i velikoj potpori u teškim trenucima.

Hvala mojim prijateljicama iz srednje i kolegicama s faksa Andrei, Margareti i Tanji bez kojih studiranje ne bi bilo toliko zanimljivo.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu

Prirodoslovno-matematički fakultet

Biološki odsjek Diplomski rad

UPOTREBA IZOSANA-G U POSTIZANJU ZDRAVSTVENE ISPRAVNOSTI VODE ZA PIĆE

Martina Kurečić

Rooseveltov trg 6, Zagreb

SAŽETAK

Cilj ovog rada bio je ispitati djelovanje Izosana-G kao klornog dezinficijensa na bakterije u vodi za piće da bi voda bila zdravstveno ispravna. Pratilo se koliko će dugo Izosan-G djelovati u vodi nakon ubačene doze od 1,3 g/m^3 vode. U istraživanju su korištene Colilert i Enterolert metode za dokazivanje ukupnih koliforma, *E. coli* i enterokoka. Nakon upotrebe klornog dezinficijensa Izosana-G dobiven je 100 % učinak inhibicije ukupnih koliforma. Voda je sedam dana bila ispravna za piće, dokazano je da je Izosan-G postigao očekivane rezultate i bio je pogodan za korištenje zbog lake uporabe i dostupnosti.

(32 stranica, 13 slika, 8 tablica, 29 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)

Rad je pohranjen u središnjoj biološkoj knjižnici.

Ključne riječi: Izosan-G, bakterije, pitka voda, inhibicija

Voditelj: Dr. sc. Jasna Hrenović, prof.

Ocjenitelji: Dr. sc. Jasna Hrenović, prof.

Dr. sc. Zlatko Mhaljevć, prof.

Dr. sc. Mirna Ćurković-Perica, prof.

Rad prihvaćen: 06.07.2011.

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb

Faculty of Science

Department of Biology Graduation Thesis

THE USE OF IZOSAN-G IN ACHIEVING HEALTH QUALITY STANDARDS OF DRINKING WATER

Martina Kurečić

Rooseveltov trg 6, Zagreb

SUMMARY

The aim of this study was to test the effect of Izosan-G as a chlorine disinfectant on drinking water bacteria in order to achieve water safety. It was monitored how long Izosan-G will be active after adding 1.3 g/m^3 of water. In this research Colilert and Enterolert methods was applied for proving the presence of coliform bacteria, *E. coli* and enterococci in drinking water. Complete inhibition of coliform and aerobic mesophilic bacteria, after which the drinking water was safe for seven days was achieved by the addition of Izosan-G. It is proved that Izosan–G is suitable for use as water disinfectant due to its simple applicaton and availability.

(32 pages, 13 figures, 8 tables, 29 references, original in: Croatian)

Thesis deposited in Central biological library.

Key words: Izosan-G, bacteria, drinking water, inhibition

Supervisor: Dr. Jasna Hrenović, Assoc. Prof.

Reviewers: Dr. Jasna Hrenović, Assoc. Prof.

Dr. Zlatko Mihaljević, Assoc. Prof.

Dr. Mirna Ćurković-Perica, Assoc. Prof.

Thesis accepted: 06.07.2011.

SADRŽAJ

1. UVOD.....1

1.1 VODA ZA PIĆE.....2

1.2 ZDRAVSTVENO ISPRAVNA VODA ZA PIĆE.....3

1.3 MIKROBIOLOŠKI POKAZATELJI U VODI ZA PIĆE.....3

1.3.1. Ukupni koliformi.....4

1.3.2. *Escherichia coli* 5

1.3.3. Enterokoki (Fekalni streptokoki) 6

1.3.4. Heterotrofne bakterije 7

1.4. DEZINFEKCIJA VODE 8

1.4.1. Dezinfekcija vode klorom i njegovim spojevima 8

1.4.2. Klorirani izocijanurati 10

2. CILJ RADA 12

3. MATERIJALI I METODE 13

3.1. PODRUČJE ISTRAŽIVANJA 13

3.2. UZORKOVANJE VODE 14

3.3. DEZINFEKCIJSKO SREDSTVO 15

3.4. IZVEDBA POKUSA U LABORATORIJU 15

3.4.1. Colilert metoda.....15

3.4.1.1. Colilert reagens 17

3.4.2. Enterolert metoda 18

3.4.2.1. Enterolert –E reagens 18

3.4.3. Aerobne mezofilne bakterije 18

3.4.3.1. R2A agar.....19

4. REZULTATI.....20

5. RASPRAVA 25

6. ZAKLJUČAK 29

7. LITERATURA.....30

1. UVOD

Važnost vode za održavanje života izuzetno je velika. Štoviše, život kakav poznajemo na Zemlji, bez vode je nemoguć. *Vodena masa prekriva čak 71% površine našega planeta. Međutim i uz tu činjenicu danas se sve više osjeća nedostatak kvalitetne, pitke vode. Posebno to dolazi do izražaja u nekim dijelovima Zemlje. U idućim desetljećima i stoljećima to će možda biti i žarište sukoba između pojedinih država. Razlog tome treba tražiti u činjenici da je samo mali dio vodene mase na Zemlji prikladan za piće te u neprestanom onečišćavanju tih voda od strane čovjeka. Stoga je nužno vodu štititi i čuvati primjenom zakonskih odredbi.*

Međutim, nije samo pitka voda u opasnosti. Oceani i mora također su ugroženi od raznih onečišćivača. Svuda gdje dopire, današnja civilizacija dolazi do onečišćenja. Čak i duboka podmorja nisu pošteđena te pošasti civilizacije. Oko 1,4 milijarde km^3 vode se nalazi na zemlji. Nešto više od 97% ove količine je morska voda. Neslana voda, dakle potencijalno pogodna za piće, nalazi se u ledenjacima, jezerima i rijekama kao i u tlu te nekim stijenama. Prema procjenama takve vode ima 35 milijuna km^3 (Gereš 2004).

1.1VODA ZA PIĆE

Pravilnikom o zdravstvenoj ispravnosti vode za piće (Narodne novine, 47/08) "voda za piće" je definirana kao:

" Sva voda koja je u svojem izvornom stanju ili nakon obrade namijenjena za piće, kuhanje, pripremu hrane ili druge kućanske namjene, neovisno o njenom porijeklu te neovisno o tome da li se isporučuje razvodnim mrežama, cisternama, bocama ili spremnicima kao i sva voda koju subjekti u poslovanju s hranom upotrebljavaju za proizvodnju, preradu, konzerviranje ili prodaju proizvoda ili tvari namijenjenih za konzumaciju ljudi".

Kvaliteta vode ispituje se prema preporukama, smjernicama i pravilnicima mjerodavnih ustanova i zavoda na međudržavnoj i državnoj razini.

U našoj zemlji kvaliteta vode za piće propisana je "Pravilnikom o zdravstvenoj ispravnosti vode za piće" (NN, 47/08) koji je u suglasju s istovrsnim pravilnicima Europske Unije.

Ovim se pravilnikom propisuje:

- zdravstvena ispravnost vode koja služi za javnu vodoopskrbu stanovništva kao voda za piće ili za proizvodnju namirnica i pripremu hrane;
- vrste, obim i standardni postupci analize uzoraka vode za piće;
- učestalost i način uzimanja (uzorkovanje) vode za piće;
- pravilnikom su dodatno za vrijeme izvanrednog stanja, ratnog stanja ili neposredne ratne opasnosti propisane maksimalno dopuštene koncentracije bojnih otrova u vodi za piće i radiološka svojstva vode za piće.

1.2. ZDRAVSTVENO ISPRAVNA VODA ZA PIĆE

Zdravstveno ispravna voda za piće je voda kojoj su svojstva i koncentracija tvari, svrstane u pet skupina, ispod maksimalno dopuštenih koncentracija (MDK):

1. organoleptička svojstva
2. fizikalna i kemijska svojstva
3. kemijske tvari
4. mikrobiološka svojstva
5. otrovne (toksične) tvari (arsen, berilij, cijanidi, kadmij, krom, nikal, olovo, pesticidi, selenij, vanadij, živa...).

Kvalitetu vode za piće treba ispitivati:

- na izvoru;
- nakon postupka kondicioniranja i dezinfekcije u vodospremi;
- vodu u razvodnoj mreži (na određenim punktovima).

Voda se analizira terenskim uviđajem i analizom pojedinih uzoraka u laboratoriju.

1.3. MIKROBIOLOŠKI POKAZATELJI U VODI ZA PIĆE

Pored velikog fiziološkog značaja vode za život, voda igra važnu ulogu u patologiji čovjeka jer se pomoću nje mogu prenijeti mnoge zarazne bolesti. Pojava epidemija izazvanih vodom posljedica je nepravilne obrade sirove vode, suprotno principima higijene i sanitarne tehnike. Mnoge zarazne bolesti koje se prenose vodom posljedica su grešaka u rukovanju uređajima za dezinfekciju vode. Zbog potencijalnih akutnih učinaka, dezinfekcija vode za piće na prvom je mjestu po važnosti za zdravlje ljudi. Mikrobiološki parametri pokazuju nam opseg i stupanj fekalnog zagađenja vode za piće s mikroorganizmima.

1.3.1. UKUPNI KOLIFORMI

Koliformne bakterije pripadaju porodicu Enterobacteriaceae. Najčešći rodovi koje pronalazimo u vodi su *Citrobacter, Enterobacter, Escherichia, Klebisella, Serratia*.

Koliformne bakterije definirane su kao Gram-negativne, nesporogene, štapićaste, fakultativno anaerobne bakterije koje fermentiraju šećer laktozu. Laktozu fermentiraju mješovito kiselim putem fermentacije, gdje su završni proizvodi fermentacije etanol, mliječna, jantarna i octena kiselina, ugljikov dioksid (CO_2) i vodik (H_2). Samo vrste roda *Enterobacter* provode butandiolnu fermentaciju, pri kojoj su završni proizvodi fermentacije etanol, mliječna, mravlja kiselina, butandiol, CO_2, H_2 (Duraković 1991).

Koliformne bakterije su primarno nepatogene bakterije koje normalno obitavaju u donjem dijelu probavnog trakta čovjeka i toplokrvnih životinja. Štite crijevo od infekcija patogenim bakterijama te osiguravaju pravilnu probavu hrane. Koliformne bakterije se izlučuju fekalijama iz organizma, dospijevaju u komunalne otpadne vode, a preko otpadnih voda i u prirodne vode. U jednom gramu ljudskog fecesa nalazi se od 10^6 do 10^9 koliformnih bakterija. Koncentracija koliformnih bakterija u kućanskim otpadnim vodama kreće se od 10^{11} do 10^{13} u 100 mL otpadne vode (Hrenović i Šimunović 2009). Ukoliko fekalije potječu iz oboljelog čovjeka ili životinje, u njima će biti prisutne i patogene bakterije, koje uzrokuju crijevne infekcije i teška oboljenja, poznata kao hidričke infekcije (prenose se vodom). Od patogenih bakterija mogu biti prisutni uzročnici kolere (*Vibrio cholerae*), tifusa (*Salmonella typhi*), salmoneloze (*Salmonella* sp.*)*, dizenterije (*Shigella dysenteriae*), gastroenteritisa (*Campylobacter jejuni)* i dr.

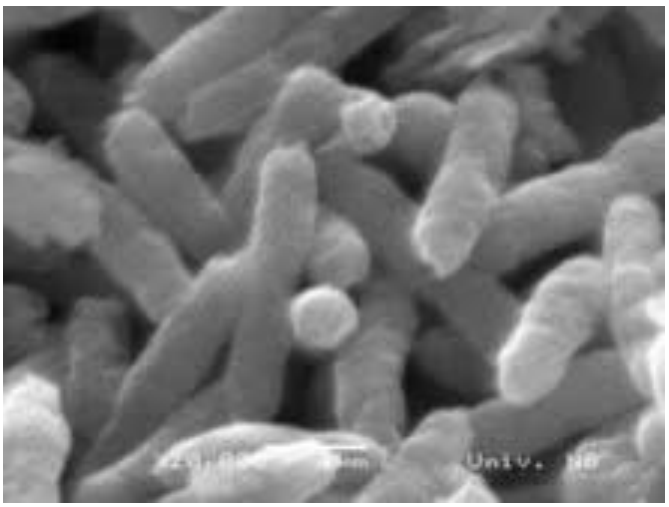
Koliformne se bakterije koriste u sanitarnoj analizi vode od 1912. godine kao indikatori fekalnog zagađenja i moguće prisutnosti patogenih crijevnih bakterija. Uključuju vrstu *Escherichia coli* i srodne vrste, koje normalno obitavaju u debelom crijevu, kao što su vrste rodova *Citrobacter, Enterobacter i Klebsiella* (Hrenović i Šimunović 2009).

Koliformne se bakterije prema otpornosti na temperature dijele na ukupne i fekalne koliformne bakterije. Ukupne koliformne bakterije fermentiraju laktozu na 35±0,5 °C kroz 48 h, a fekalne koliformne bakterije na 44,5±0,2 °C kroz 24 h. Smatra

se da nalaz termotolerantnih fekalnih koliforma ukazuje sa sigurnošću na svježa fekalna zagađenja sredine.

1.3.2. Escherichia coli

Escherichia coli je Gram-negativna, nesporogena, fakultativno anaerobna bakterija (Slika 1). Većina sojeva *E. coli* su bezopasne i žive u crijevima zdravih ljudi i životinja. *E.coli* 0157:H7 uzrokuje bolesti koje se prenose hranom i vodom za piće. Ovaj soj proizvodi enterotoksine i može uzrokovati ozbiljne bolesti (Mead i Griffin 1998). *E. coli* 0157:H7 prvi je put prepoznata kao uzrok bolesti tijekom epidemije 1982. g. Optimalan rast *E. coli* se događa na 37 ° C, ali neki laboratorijski sojevi mogu se razmnožavati na temperaturi i do 49 °C (Fotadar i sur. 2005).



Slika 1. *Escherichia coli,* SEM (Foto: Jasna Hrenović)

Stanice su štapičastog oblika, 1-2 µm duge i 0,1- 0,5 µm u promjeru. Bakterije su uvijek prisutne u fecesu ljudi i životinja u velikom broju *(E. coli* više od 10^9 po gramu fecesa). Za vrijeme kiša, topljenja snijega i ispiranjem tla *E .coli* dolazi u potoke, rijeke, jezera ili podzemne vode. Kada se te vode koriste kao izvor vode za piće te se ne tretiraju dezinfekcijskim sredstvima ili se neodgovarajuće tretiraju, može doći do zaraza. Infekcije *E.coli* često uzrokuju ozbiljno krvarenje, proljev i grčeve u trbuhu. Prisutnost *E. coli* u vodi za piće pouzdan je dokaz da je voda za piće svježe fekalno zagađena.

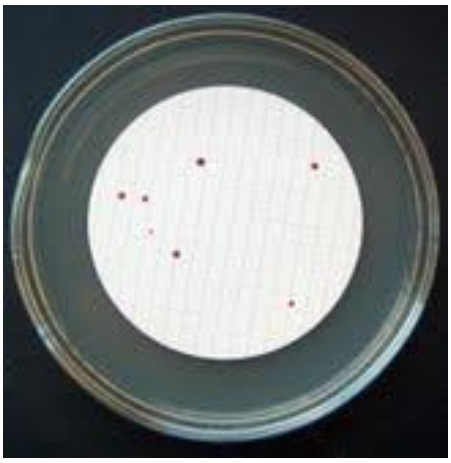
Prema Pravilniku o zdrastvenoj ispravnosti vode za piće (NN, 47/08), maksimalna dopuštena koncentracija (MDK) za *E. coli* u vodi za piće je 0/100 ml (Tablica 1).

Tablica 1. Maksimalno dopuštene koncentracije (MDK) mikrobioloških pokazatelja u vodi prema Pravilniku o zdrastvenoj ispravnosti vode za piće (NN, 47/08)

Pokazatelj	Jedinica	MDK
Escherichia coli	broj/100ml	0
Enterokoki	broj/100ml	0
Ukupni koliformi	broj/100ml	0
Broj kolonija 22^0C/48h	broj/1ml	100
Broj kolonija 37^0C/ 72 h	broj/1ml	20

1.3.3. ENTEROKOKI (FEKALNI STREPTOKOKI)

Enterokoki su definirani kao Gram-pozitivni, jajoliko izduženi koki, raspoređeni u parove i kratke lance (Slika 2). Fakultativno su anaerobne, nesporogene bakterije. Široko su rasprostranjeni u okolišu, nalaze se u fekalijama vertebrata. Enterokoki su najpodobnija grupa bakterija za vrednovanje higijenske kvalitete npr. vode. Broj fekalnih streptokoka visoko kolerira s prisutnošću patogenih bakterija kao što su *Listeria, Salmonella* (Hach company 2000).



Slika 2. Enterokoki (Foto: Jasna Hrenović)

U ljudskom fecesu broj enterokoka prelazi 10^6 po gramu fecesa. Vrste enterokoka koji se javljaju u fecesu, i stoga, imaju veću vjerojatnost da se nalaze u zagađenim vodama mogu se podijeliti u dvije skupine. Prva uključuje *Enterococcus faecalis* i *E. faecium* koje nalazimo u izmetu ljudi i životinja. Druga skupina uključuje *Streptococcus bovis, S. equinus i E. avium* obično se ne nalaze u ljudskom izmetu. Determinacijom vrste možemo pretpostaviti izvor zaraze (Enviroment agency 2002). Enterokoki fekalnog porijekla otporniji su na stres u okolišu i kloriranje od *E. coli* i koliformnih bakterija (Enviroment agency 2000).

1.3.4. HETEROTROFNE BAKTERIJE

Heterotrofne bakterije su organizmi za koje su organski spojevi (ugljikohidrati) izvor ugljika i energije, a anorganski i organski spojevi (bjelančevine) izvor dušika. Broj kolonija u uzorcima vode predstavlja opće populacije heterotrofnih bakterija (na neselektivnoj podlozi). Rast tih kolonija na podlozi može prikazivati bakterije koje normalno obitavaju u vodi ili bakterije koje su iz tla ili vegetacije. Heterotrofne bakterije uzgajaju se na hranjivoj podlozi na 37 °C/ 48 h i 22°C/ 72 h. Monitoring pitke vode pomoću broja kolonija može biti koristan za praćenje kvalitete vode odnosno za detekciju nagle promjene u kvaliteti vode. Važna je korist od utvrđivanja broja kolonija (37°C/48 h i 22°C/ 72 h), osobito ako se provodi redovito na istom mjestu i lokaciji, da sakupljeni podaci mogu pružiti naznake sezonskih i dugoročnih promjena u općoj bakteriološkoj kvaliteti vode (Enviroment agency 2000).

1.4. DEZINFEKCIJA VODE

Razvojem znanosti dokazana je povezanost uzročnika mnogih bolesti s prisustvom određenih mikroorganizama u vodi. Cilj dezinfekcije vode je da uništi patogene mikroorganizme tako da voda više ne može biti prenosilac zaraznih bolesti. Najčešće je to konačni postupak kojem prethode postupci kondicioniranja vode. Kondicioniranje vode je primjena odgovarajućih fizikalno-kemijskih metoda obrade vode s ciljem mehaničkog i kemijskog čišćenja vode te ukljanjanja mikroorganizama iz vode. Zavisno o namjeni uporabe vode koriste se postupci kao što su taloženje, koagulacija i flokulacija, sedimentacija, filtracija i aeracija (Šojat 1999).

Za dezinfekciju vode koriste se fizikalno-kemijske metode dezinfekcije. Najčešće korištene metode su kemijske metode dezinfekcije zbog svoje primarne učinkovitosti kao i zbog mogućnosti naknadnog djelovanja na dezinfekciju vode. U novije vrijeme fizikalne metode dezinfekcije kao što su ultraljubičasto zračenje i ultrazvuk sve više nalaze primjenu u procesima dezinfekcije vode za piće (Gross i Farrell-Poe 2004).

Metode dezinfekcije vode moguće je podijeliti na:

a) termičke metode - ključanjem vode na temperaturi vrenja (100 °C) najmanje 20 minuta voda se dezinficira
b) metode koje upotrebljavaju jaka oksidacijska sredstva (klor, ozon)
c) oligodinamske metode-dezinfekcija srebrom
d) fizikalne metode (ultrazvuk, UV-zračenje, ultrafiltracija).

1.4.1. DEZINFEKCIJA VODE KLOROM I NJEGOVIM SPOJEVIMA

Klor i njegovi spojevi najčešće se upotrebljavaju kao sredstva za dezinfekciju vode, bilo da se radi o dezinfekciji manjih količina vode u domaćinstvu ili na terenu pa sve do dezinfekcije velikih količina vode u vodovodima.

Na veliku primjenu klora i njegovih spojeva utjecala je razmjerno jednostavna nabava elementarnog klora i njegovih spojeva, mogućnost skladištenja potrebnih rezervi za duže vremensko razdoblje, mogućnost transporta, jednostavnost rukovanja (nije potrebna posebna stručnost), doziranja i mjerenja njegove koncentracije.

Djelovanje klora na bakterije ispoljava se već poslije kontakata s vodom nakon jedne minute. Klor napada i inaktivira enzime koji su prijeko potrebni za život mikroorganizama. Kada enzimi dolaze u dodir s klorom, jedan ili više atoma vodika u molekuli su zamijenjeni klorom. Molekula promijeni oblik ili se raspada. Kada enzimi ne djeluju ispravno, stanica ili bakterija će umrijeti. Kada se klor dodaje vodi dolazi do reakcije u kojoj nastaje hipokloritna kiselina (Lenntech 2011):

$$Cl_2 + H_2O \rightarrow H^+ + Cl^- + HClO$$

Ovisno o pH, hipokloritna kiselina djelomično disocira u hipokloritni ion (Galal-Gorchev 1996) :

$$HOCl \rightarrow OCl^- + H^+$$

Kada je pH oko 7,5 jednaka je raspodjela HOCl i OCl^-. Kod pH= 6,5 je 90 % hipokloritne kiseline u odnosu na hipokloritni ion. Kod pH≥ 9 dominantan je hipokloritni ion (Galal-Gorchev 1996).

Hipokloritna kiselina koja je električki neutralna i hipokloritni ion koji je električki negativan, tvorit će slobodni rezidualni klor u procesu dezinfekcije.

Hipokloritna kiselina je više reaktivna i jači dezinficijens nego hipokloritni ion, raspada se na klorovodičnu kiselinu i elementarni kisik (Lenntech 2011). Atom kisika je snažni dezinficijens:

$$HClO \rightarrow HCl + O$$

Stanična stijenka patogenih mikroorganizama u prirodi negativno je nabijena. Kao takva, u nju može prodrijeti neutralna hipokloritna kiselina. Hipokloritni ion koji nastaje disocijacijom hipoklorne kiseline ima slabije djelovanje od nje jer mu njegov negativni naboj sprečava učinkovito prodiranje kroz staničnu stijenku. Hipokloritna kiselina može prodrijeti slojeve sluzi, staničnu stijenku i zaštitne slojeve mikroorganizama. Mikroorganizmi ili umiru ili pate od reproduktivnog neuspjeha.

Prilikom dodavanja klora i njegovih spojeva vodi, dio klora se troši na oksidaciju organskih tvari prisutnih u vodi, uključujući i mikroorganizme, kao i oksidaciju željeza i mangana u vodi, pa govorimo o potrebi vode na kloru. Potreba vode na kloru predstavlja količinu klora izraženog u mg/l kojeg je potrebno dodati vodi do pojave rezidualnog klora. Rezidualni klor predstavlja koncentraciju klora izraženu u mg/l klora koja je zaostala u vodi kao višak nakon reakcije klora s tvarima koje se mogu oksidirati u vodi, tj. nakon završenog procesa dezinfekcije vode.

Ako voda sadrži amonijak ili druge dušikove spojeve, slobodni klor će reagirati stvarajući odgovarajuće adicijske i supstitucijske spojeve i kloramine. Kloramini također posjeduju dezinfekcijsku moć. Rezidualni klor je garancija da je proces dezinfekcije dobro izvršen i štiti vodu od naknadne kontaminacije (Šojat 1999).

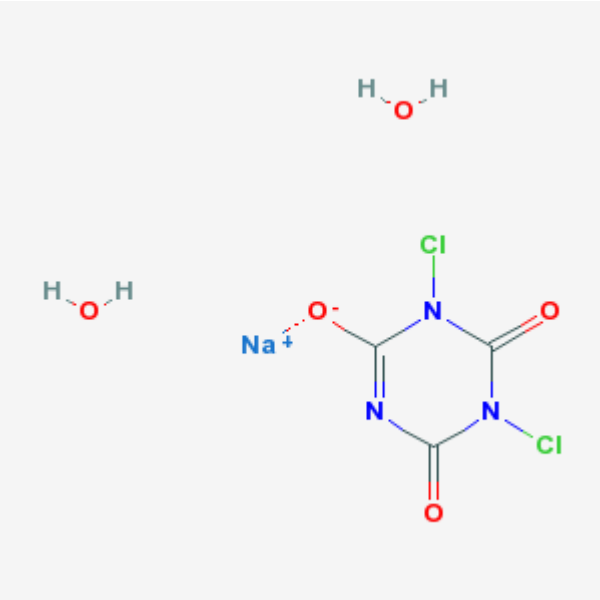
Vrijeme potrebno za dezinfekciju vode iznosi minimalno 30 minuta nakog čega se u vodi mora utvrditi odgovarajuća koncentracija rezidualnog klora. Ako se nakon 30 minuta ne utvrdi slobodni rezidualni klor, potrebno je povećati dozu klora.

Pretkloriranje vode je postupak dodavanja klora prije flokulacije vode i obično se primjenjuje kada voda sadrži veće količine organskih tvari te kod obojenih voda i voda s neugodnim mirisom i okusom.

Naknadno kloriranje koristi se za održavanje koncentracije rezidualnog klora u cijeloj vodovodnoj mreži jer odsutstvo rezidualnog klora ukazuje na mogućnost iznenadnog zagađenja. Dezinfekcijska sposobnost spojeva na bazi klora ovisi o količini sadržaja aktivnog klora u njima. Spojevi na bazi klora koji se najčešće upotrebljavaju za dezinfekciju vode su: elementarni klor, klor-dioksid, kalcijev i natrijev hipoklorit, kloramini, izocijanurati (Polanović 1993).

1.4.2. KLORIRANI IZOCIJANURATI

Klorirani izocijanurati su derivati di- ili tri-kloroizocijanurne kiseline (Šojat 1999). Granulat za dezinfekciju vode je natrij dikloroizocijanurat-dihidrat kemijske formule $Cl_2Na(NCO)_3 \times 2H_2O$ (Slika 3). Granulat sadržava 100% natrijevog diklorizocijanurat-dihidrata (troklozen natrij).



Slika 3. Kemijska struktura natrij dikloroizocijanurat-dihidrata

Natrij dikloroizocijanurat-dihidrat stabilni je klorni dezinficijens u obliku granulata bijele boje karakterističnog mirisa klora. Natrij dikloroizocijanurat-dihidrata djeluje bakteriocidno i fungicidno (prema EN1650), inaktivira poliovirus (prema EN 14476), virus hepatitisa tipa A, B i C te HIV.

Za dezinfekciju vode dodaje se 1,5-2g na 1000 l vode (Pliva-sept 2011). Voda je pogodna za piće 10 - 30 minuta nakon otapanja granulata.

Troklozen natrij u vodenoj otopini disocira u hipoklornu kiselinu i hipokloritni ion, koji zajedno čine slobodni rezidualni klor u vodi. Učinak troklozen natrija temelji se na otpuštanju slobodnog aktivnog klora. Za snažnu antimikrobnu aktivnost zaslužna je neionizirana hipoklorna kiselina koja je 80 - 100 puta jači germicid od hipokloritnog iona. Njezin se učinak temelji na ireverzibilnom oštećenju staničnih enzimskih sustava. Djelotvornost klornih otopina opada s porastom pH, a najveća djelotvornost je u području pH 4 - 7. Odnos hipoklorne kiseline i hipokloritnih iona ovisi o pH otopine u kojoj se oni zajedno nalaze. Pri pH 7.5 njihov je omjer izjednačen, tj. 1 : 1. Najveću koncentraciju neionizirane hipoklorne kiseline nalazimo pri pH oko 6. Takav pH imaju razrijeđene otopine natrij dikloroizocijanurata pa sadržavaju 97% hipoklorne kiseline, a samo 3% hipoklorita (WHO 2007).

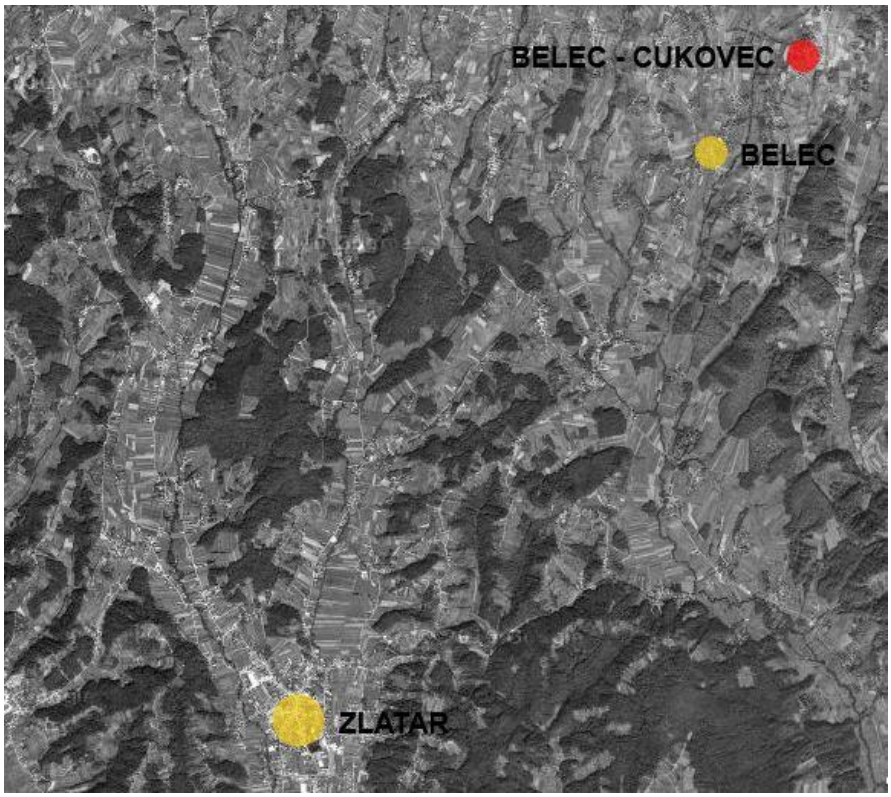
2. **CILJ RADA**

Cilj ovog istraživanja bio je ispitati djelovanje Izosana G kao klornog dezinficijensa na bakterije u vodi za piće te dobiti zdravstveno ispravnu vodu za piće na lokalnom vodovodu u Hrvatskom zagorju. Ispitalo se koliko će dugo Izosan G djelovati u vodi do ponovne mikrobiološke kontaminacije vode, odnosno kada bi ponovno trebalo ubaciti novu dozu Izosana G.

3. MATERIJALI I METODE

3.1. PODRUČJE ISTRAŽIVANJA

Istraživanje za ovaj diplomski rad vršilo se na lokalnom vodovodu Belec – Cukovec (Slika 4). Tim vodovodom služi se 30 kućanstava. Voda izvire iz Ivančice, najviše planine u Hrvatskom zagorju, te ulazi u vodospremu (Slika 5) odakle dalje razvodnom mrežom dolazi do kuća. Vodosprema ima 2 spremnika od 56 m^3. Za vrijeme istraživanja korištena je voda samo iz jednog spremnika. U kišnom razdoblju oko 30 L vode u 1 minuti ulazi u spremnik, dok za vrijeme sušnog razdoblja ulazi tek oko 5 L u 1 minuti.



Slika 4. Karta Belec- Cukovec (maps.google.com)



Slika 5. Vodosprema lokalnog vodovoda (Foto: Martina Kurečić)

3.2. UZORKOVANJE VODE

Uzorci su uzimani svakog dana u vremenu od 8 h do 10 h. Uzorkovalo se od 4.5.2010. do 14.5.2010. Uzorak mora biti pravilno uzet. Treba otvoriti slavinu i pustiti da voda teče 2-3 minute, zatim napuniti sterilnu staklenu bocu pritom pazeći da se ne kontaminira grlo boce i poklopac. Uzorak treba jasno označiti. Nakon uzorkovanja boce se stavljaju u prijenosne hladnjake da bi se zaštitili od izvora topline i sunčevog svjetla. Uzorak treba što prije donijeti u laboratorij da bi se izvršila daljnja analiza (APHA 1992). Uzorkovanje se vršilo na dva lokaliteta, u privatnoj kući (uzorak 1), odnosno u vodospremi (uzorak 2).

Kod uzorkovanja mjerili su se temperatura (ºC) i slobodni rezidualni klor (mg/L) te je slijedilo daljnje istraživanje u laboratoriju. Temperatura se mjerila Lovibond termometrom, a slobodni rezidualni klor mjeren je spektrofotometrijski Lovibond PCcheckit kolorimetrom (Slika 6). Voda se prvo stavlja u kivetu te se potom u nju kapne 5 kapi pufera i 5 kapi DPD-a. Dolazi do direktne reakcije pufera s N,N-dietil-1,4-fenilendiaminom (DPD) i tvorbe crvenog spoja. Trenutačno nastalo crveno obojenje proporcionalno je koncentraciji slobodnog rezidualnog klora.



Slika 6. Kolorimetar za mjerenje slobodnog rezidualnog klora (Foto: Martina Kurečić)

3.3. DEZINFEKCIJSKO SREDSTVO

Za dezinfekciju vode u vodospremi korišten je klorni preparat natrij dikloroizocijanurat-dihidrat komercijalnog naziva Izosan-G (Pliva). Kemijska formula natrij dikloroizocijanurata–dihidrata je $Cl_2Na(NCO)_3 \times 2H_2O$. Granulat sadrži 100% natrijevog diklorizocijanurat-dihidrata (troklozen natrij). Voda u vodospremi prije ovog istraživanja nije bila tretirana dezinfekcijskim sredstvima. U spremnik koji se koristi dodano je 40 g Izosana-G na oko 30 000 L vode ili 1,3 g/m^3 vode.

3.4. IZVEDBA POKUSA U LABORATORIJU

3.4.1. COLILERT METODA

Nakon što su uzorci vode doneseni s terena u sterilnim bocama od 500 ml u laboratoriju se vršilo daljnje istraživanje. Za dokazivanje ukupnih koliforma i *E. coli* korištena je Colilert metoda. Vodu iz uzorka 1 i 2 ulijevamo u sterilne bočice od 100 ml. U uzorke vode 11 i 21 stavljamo reagens Colilert, zatvorimo čep i protresemo dok se reagens ne otopi (Slika 7).



Slika 7. Sterilne bočice s uzorcima prije stavljanja colilerta (Foto: Martina Kurečić)

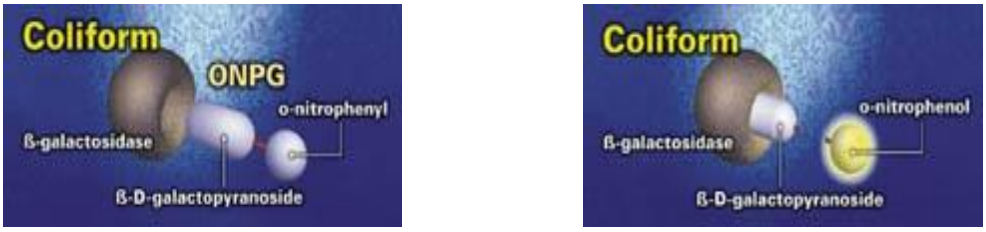
Potom uzorak 11 s otopljenim reagensom stavljamo u Idexx Quanti- Tray/2000, zatim u Idexx Quanti –Tray Sealer (zavarivač). Quanti- Tray/2000 stavlja se u inkubator na 35±0,5 °C/24 h. Nakon 24 h očitaju se rezultati. Uzorci se oboje žuto kada su prisutni ukupni koliformi (Slika 8), a prisustvo *E.coli* vidi se pod UV lampom fluoresciranjem. Broje se komore na Quanti- Tray/2000 koje su pozitivne na ukupne koliforme (žute komore) te se taj broj isčita iz MPN (Most probable number) Idexx tablica da bismo dobili MPN ukupnih koliforma u 100 ml. Isti je postupak za *E.coli*. Pod UV lampom prebroji se broj pozitivnih komora na *E.coli* i taj se broj unosi u MPN tablice.



Slika 8. . Quanti-Tray/2000 nakon 24 h (Foto: Martina Kurečić)

3.4.1.1. Colilert reagens

Colilert (Idexx) reagens služi za detekciju ukupnih koliforma i *E.coli*. Koliformi i *E.coli* posjeduju enzim β- D- galaktozidazu koji im omogućuje razgradnju ortho-nitrophenyl- β-D- galactopyranoside (ONPG) (Slika 9), tvoreći žuto obojeni spoj o-nitrophenol (Eckner 1998.). *E. coli* proizvodi i enzim β-D- glukoronidaze te ima sposobnost da rascijepa methylumbelliferyl-β-glucoronide (MUG) u spoj 4-methylumbelliferone koji fluorescira. (Tryland i Fiksdal 1997).
Ukupni koliformi za rast u colilertu koriste β- galaktozidazu za metaboliziranje ONPG-a. Pri tome ONPG mijenja boju u žuto.



Slika 9. Reakcija koliformnih bakterija i ONPG hranjivog indikatora (www.idexx.com/colilert)

E.coli koristi enzim β-glukoronidazu za metaboliziranje MUG hranjivog indikatora i tvori fluorescenciju koju možemo vidjeti ispod UV lampe (Slika 10).



Slika 10. Reakcija *E.coli* i MUG hranjivog indikatora (www.idexx.com/colilert)

3.4.2. ENTEROLERT METODA

Uzorke 1 i 2 donesene s terena stavljamo u sterile bočice 12 i 21 od 100 ml. U bočice 12 i 21 stavljamo enterolert-E reagens. Bočice se moraju dobro protresti da se reagens otopi. Otopina se stavlja u sterilni Quanti- Tray/ 2000 s 97 komorica i zatim u Quanti-tray Sealer (zavarivač). Quanti- Tray/2000 stavlja se u inkubator na 41±0,5 °C/24 h. Rezultate gledamo pod UV lampom ako komore plavo fluoresciraju voda sadrži enterokoke. Prebroji se broj pozitivni komora pod UV lampom te se taj broj unese u MPN idexx tablice i iz tablica se očita MPN enterokoka u 100 ml uzorka.

3.4.2.1.ENTEROLERT-E REAGENS

Enterolert–E (Idexx) služi za detekciju enterokoka u uzorku vode. Kad enterokoki koriste svoj enzim β-glukozidaze u metaboliziranju Enterolert-E hranjivom indikatoru, 4-methyl-umbelliferyl β-D-glukozide (Eckner 1998), isti fluoresciraju pod UV lampom te se prebroji broj komora koje su pozitivne na enterokoke (Slika 11). Enterolert-E otkriva enterokoke pri 1 CFU na 100 ml nakon 24h.



Slika 11. Reakcija enterokoka i Enterolerta-E (www.idexx.com/enterolert)

3.4.3. AEROBNE MEZOFILNE BAKTERIJE

Određuje se broj kolonija aerobnih mezofilnih bakterija. U sterilne petrijeve ploče pipetom se doda 1mL uzorka vode (uzorak 1), te se na to ulije 15 ml otopljenog agara (R2A). Isto se ponovi i s drugim uzorkom vode uzetim iz vodospreme (uzorak 2). Za svaki uzorak izliju se po dvije petrijeve ploče. Ploča 1A i ploča 1B stavljaju se u termostate na 37 ºC/48 h, a ploče 2A i 2B stavljaju se na 22 ºC/72 h. Rezultati se

očitavaju nakon 48h odnosno nakon 72 h. S ploča se prebroji broj naraslih kolonija i računa CFU (colony forming units) po jednom ml uzorka.

3.4.3.1. R2A agar

R2A (Merck) agar je medij s niskom koncentracijom hranjivih tvari u hranjivoj podlozi. Razvijen je za proučavanje bakterija koje normalno obitavaju u pitkoj vodi. Niske koncentracije ekstrakta kvasca, kazein hidrolizata, peptona i glukoze omogućuju rast širokog spektra bakterija bez brzo rastućih bakterija koje bi suzbijale rast sporo rastućih vrsta kao što bi to bio slučaj na bogato hranjivim medijima.

Tablica 2. Sastav R2A agara

Sastojci podloge	Količina (g/l)
Ekstrakt kvasca	0,5
Proteoze pepton	0,5
Kazein hidrolizat	0,5
Glukoza	0,5
Topivi škrob	0,5
Natrij piruvat	0,3
K_2HPO_4	0,3
Magnezij sulfat	0,05
Agar-agar	12,0

4. REZULTATI

U ovom radu mjerili smo nekoliko parametara pomoću kojih možemo donijeti zaključke o djelotvornosti Izosana- G za postizanje zdravstveno ispravne vode za piće. Izmjereni parametri koji su nam bili potrebni prikazani su grafovima (slika 12. i slika 13.) i tablicama (Tablice od 3 do 6).

Prema dobivenim rezultatima prvog dana istraživanja prije dodavanja klornog dezinficijensa Izosana-G voda nije bila zdravstveno ispravna za piće jer broj ukupnih koliforma prelazi MDK (Tablica 3.).

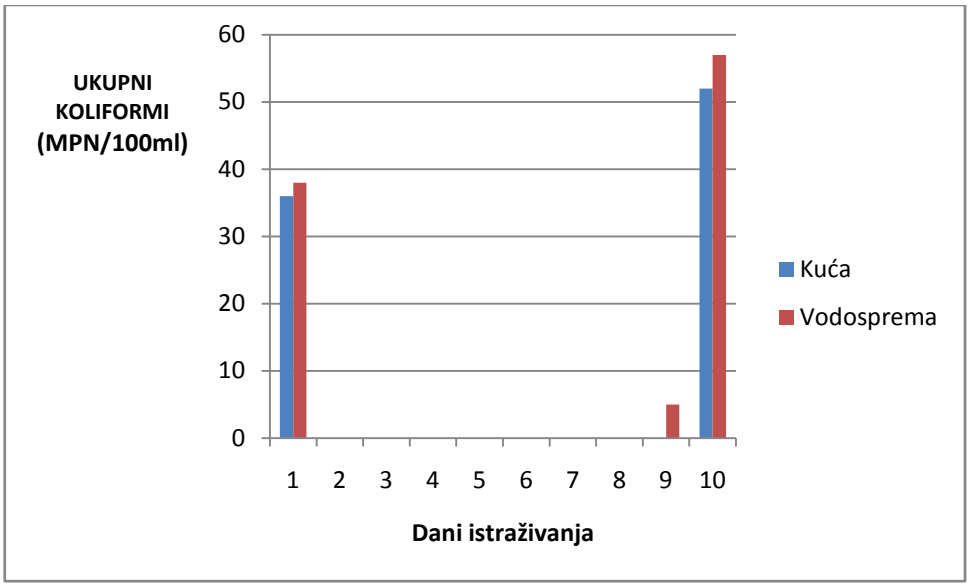
Tablica 3. Rezultati dobiveni iz dva uzorka vode, kuće i vodospreme prvog dana istraživanja prije dodavanja Izosana-G u vodospremi.

Parametri	Kuća	Vodosprema	MDK
Temperatura (°C)	12,7	8,7	25
Rezidualni klor (mg/l)	<0,05	<0,05	0,5
Escherichia coli (MPN/100 ml)	0	0	0
Enterokoki (MPN/100 ml)	0	0	0
Ukupni koliformi (MPN/ 100 ml)	36	38	0
Broj kolonija 37°C/48 h	9	5	20
Broj kolonija 22°C/72 h	26	32	100

Voda nakon upotrebe Izosana-G odgovarala je za piće, svi mikrobiološki parametri su ispod MDK. Rezidualni klor u vodospremi je iznad MDK, međutim u razvodnoj mreži (kuća) gdje se voda koristi za piće je unutar MDK (Tablica 4.)

Tablica 4. Rezultati dobiveni 150 min nakon dodavanja Izosana-G u kući i vodospremi.

Parametri	Kuća	Vodosprema	MDK
Temperature (°C)	12,5	8,7	25
Rezidualni klor (mg/l)	0,08	0,59	0,5
Escherichia coli (MPN/100 ml)	0	0	0
Enterokoki (MPN/100 ml)	0	0	0
Ukupni koloformi (MPN/100 ml)	0	0	0
Broj kolonija 37°C/48 h	0	0	20
Broj kolonija 22°C/72h	0	0	100



Slika 12. Grafički prikaz ukupnih koliforma (MPN/100 ml) u kući i vodospremi prije upotrebe Izosana-G i 9 dana nakon upotrebe.

Prvog dana istraživanja upotrijebljen je Izosan-G, a sljedećih je dana praćen rezidualni klor te pojava bakterija u uzorcima vode. U uzorcima vode uzetih iz kuće vidljiv je porast slobodnog rezidualnog klora te ponovni pad petog dana istraživanja. Devetog dana istraživanja voda više nije ispravna za piće, došlo je do pojave ukupnih koliforma, a MDK prema Pravilniku o zdravstvenoj ispravnosti vode za piće (NN 47/08) je 0/100ml (Tablica 1). Broj kolonija aerobnih mezofilnih bakterija prvog dana

prije upotrebe Izosana-G i ostalih dana istraživanja nakon upotrebe Izosana-G bio je ispod MDK. U uzorcima vode nije pronađena *E. coli* niti enterokoki (Tablica 5).

Tablica 5. Rezultati dobiveni u kući nakon upotreba Izosana-G.

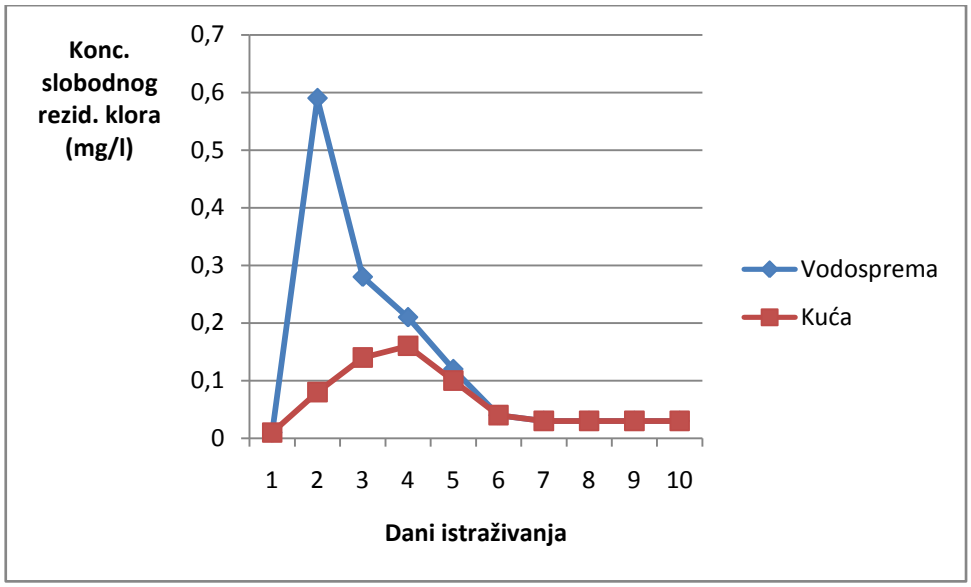
Kuća	**MDK**	**1.dan**	**2.dan**	**3.dan**	**4.dan**	**5.dan**	**6.dan**	**7.dan**	**8.dan**	**9.dan**
Temperatura (^{0}C)	25	12,5	12,5	11,9	12,0	12,1	12,2	12,8	12,5	13,3
Rezidualni klor (mg/l)	0,5	0,08	0,14	0,16	0,10	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Ukupni koliformi (MPN/100 ml)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	52
Broj kolonija 37°C/48 h	20	0	1	1	1	0	1	1	10	11
Broj **kolonija 22°C/ 72 h**	100	0	2	1	2	1	1	16	14	23
***Escherichia coli* (MPN/100 ml)**	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Enterokoki (MPN/100 ml)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Prvog dana istraživanja u vodospremi prije upotrebe Izosana-G, voda nije zdravstveno odgovarala za piće zbog broja ukupnih koliforma (Slika 12) jer prema Pravilniku o zdravstvenoj ispravnosti vode za piće MDK za ukupne koliforme je 0/100 ml (Tablica 1.). Broj kolonija aerobnih mezofilnih bakterija bio je ispod MDK u 1 ml uzorka. Koncentracija rezidualnog klora kretala se od < 0,05 mg/l do 0,59 mg/l. Petog je dana istraživanja koncentracija slobodnog rezidualnog klora bila <0,05 mg/l, a osmog dana došlo je do pojave ukupnih koliforma te voda više nije odgovarala za piće (Tablica 6). Prije upotrebe Izosana-G u uzorcima vode nije pronađena *E. coli* niti je bilo enterokoka. Devetog dana istraživanja u uzorku vode pronađena je *E.coli.*

Tablica 6. Rezultati dobiveni nakon upotrebe Izosana-G u vodospremi.

Vodosprema	MDK	1.dan	2.dan	3.dan	4.dan	5.dan	6.dan	7.dan	8.dan	9.dan
Temperatura (^oC)	25	8,7	8,7	8,7	8,9	8,9	8,9	9,0	8,7	9,1
Reziduali klor (mg/l)	0,5	0,59	0,28	0,21	0,12	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Ukupni koliformi (MPN/100 ml)	0	0	0	0	0	0	0	0	5	57
Broj kolonija 37^0C/48h	20	0	0	1	1	2	1	0	16	8
Broj kolonija 22^0C/72h	100	0	0	1	1	2	1	19	22	21
***Escherichia coli* (MPN/100 ml)**	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Enterokoki (MPN/100ml)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Na Slici 13. grafički su prikazane koncentracije slobodnog rezidualnog klora. Nakon upotrebe Izosana-G u vodospremi prvog dana izmjerena koncentracija nakon 150 minuta bila je 0,59 mg/l, dok je u kući izmjerena koncentracija bila 0,08 mg/l. Sljedećih dana koncentracija rezidualnog klora padala je u vodospremi, a rasla u kući, što je normalan slijed dok voda dođe razvodnom mrežom do kuće.



Slika 13. Koncentracije slobodnog rezidualnog klora (mg/l) u vodospremi i kući prije i nakon upotrebe Izosana-G

5. RASPRAVA

Glavni cilj ovog rada bio je dobiti zdravstveno ispravnu vodu za piće iz lokalnog vodovoda prema Pravilniku o zdravstvenoj ispravnosti vode za piće (NN, 47/08).

Odabran je Izosan-G kao sredstvo za dezinfekciju vode na bazi klora. Prije ovog istraživanja voda u vodospremi nije bila tretirana dezinfekcijskim sredstvima. Svakodnevnim uzorkovanjem i laboratorijskim istraživanjem dobili smo rezultate iz kojih možemo utvrditi djelotvornost i trajanje Izosana-G u vodi, odnosno kada ponovno moramo dodati Izosan-G da bi voda odgovarala za piće.

U ovom istraživanju praćeni su mikrobiološki pokazatelji ispravnosti vode za piće (Pravilnik o zdravstvenoj ispravnosti vode za piće). Pratilo se prisustvo *E.coli,* ukupnih koliforma, enterokoka i broj kolonija aerobnih mezofilnih bakterija.

U istraživanju su korištene Colilert i Enterolert metode koje se lako provode i osjetljive su na 1 mikroorganizam u 100 ml uzorka. U prethodnom istraživanju (Eckner 1998) dokazano je da su metode jednako dobre, ako ne i superiorne metodi membranske filtracije.

Voda nije bila tretirana dezinfekcijskim sredstvima. Smatralo se da je voda prema Pravilniku o zdravstvenoj ispravnosti vode za piće (NN, 47/08) neispravna za piće, što je i potvrđeno dobivenim rezultatima. Izosan-G kao klorni dezinficijens postigao je očekivane rezultate (WHO 2007). U uzorku uzetom 150 minuta nakon upotrebe Izosana-G svi mikrobiološki pokazatelji bili su ispod MDK. Prema navodima iz literature natrij dikoroizocijanurat-dihidrat u laboratorijskim je uvjetima zadovoljio mjerilo što služi ocjenjivanju germicidnosti dezinficijensa u vodi u roku od 30 sekundi uspio je uništiti 99,99% od jednog milijuna bakterijskih stanica u 1 ml vode i to vrsta *Streptococcus faecalis* i *Escherichia coli* (Jakovina 1987). Klorirani izocijanurati, a među njima Izosan-G, imaju prednost pred ostalim klornim preparatima jer jedino oni podjednako uspješno djeluju na mikroorganizme u širokom rasponu pH od 4 do 10 (Tablica 7).

Tablica 7. Prednosti Izosana G pred tekućim klorom i hipokloritima (Pliva,1987).

Svojstvo	Izosan G	Tekući klor	Hipokloriti
Djelotvoran germicid	+	+	+
Djelotvoran algicid	+	+	+
Ima brz germicidni učinak	+	-	-
Djelotvoran više sati	+	-	-
Potpuno topljiv	+	+	-
100%-tno aktivan	+	-	-
Stabilan	+	-	-
Ne uzrokuje nepoželjne učinke u vodi	+	-	-
Jednostavan i siguran pri rukovanju i u skladištenju	+	-	-

U istraživanju u ovom diplomskom radu i prethodnim istraživanjima (Marjanović i Tofant 2008) dobiven je 100 % učinak inhibicije ukupnih koliforma, što dovodi do zaključka da su u pokusu dezinfekcije primijenjene odgovarajuće doze. Postotak inhibicije u kući i vodospremi prikazan je za rezultate dobivene 150 minuta i 24 h nakon upotrebe Izosana-G (Tablica 8).

Tablica 8. Usporedba dobivenih rezultata korištenjem natrij dikloroizocijanurata-dihidrata kao klornog dezinficijensa u ovom i istraživanjima drugih autora.

	Kuća		Vodosprema		Marjanović i Tofant
	150 min	24 h	150 min	24 h	24 h
Rezidualni klor (mg/l)	0,08	0,14	0,59	0,28	0,5
Inhibicija ukupnih koliforma (%)	100	100	100	100	100
Inhibicija broja kolonija 37°C (%)	100	89	100	100	33
Inhibicija broja kolonija 22°C (%)	100	92	100	100	100

Prije upotrebe Izosana G u uzorcima vode nisu pronađeni *E.coli* ni enterokoki. Međutim nakon prestanka djelovanja klora u uzorcima vode pronađena je *E.coli* u vodospremi i ukupnih koliforma ima više nego prije kloriranja. Pretpostavljam da do takvih razlika u rezultatima je došlo zbog razlike u vremenu prije i nakon kloriranja. Prije dodavanja klornog dezinficijensa i uzimanja uzoraka bilo je sunčano i suho razdoblje, a tijekom uzorkovanja bilo je nekoliko dana neprestane kiše. Vjerojatno je ispiranjem tla i ulaskom u podzemne vode te u naše ispitivane cisterne dospjela više zagađena voda. Izmjereni slobodni rezidualni klor na dnu rezervoara 150 minuta nakon upotrebe Izosana G bio je 0,59 mg/L, a u privatnoj kući 0,08 mg/L. Sljedećih dana količina slobodnog rezidualnog klora padala je u vodospremi, a u kući rastao što je i normalan slijed jer prvog dana nije mogao stići odmah do kuće. U vodospremi razina slobodnog rezidalnog klora pada zbog trošenja na mikroorganizme i stalnog ulaska nove vode u vodospremu. Osmog dana ispitivanja dolazi do ponovnog pojavljivanja ukupnih koliforma u vodospremi te voda više ne odgovara za piće. Sedmog je dana istraživanja trebalo ubaciti novu dozu Izosana G. Korišteni Izosan- G je granulat koji sadrži 100 % natrij- dikloroizocijanurata dihidrata. Natrij dikloroizocijanurat-dihidrat izvor je slobodno dostupnog klora u obliku hipoklorne kiseline (HOCl) za dezinfekciju vode. Izosanom smo dobili željene rezultate, voda je bila zdravstveno ispravna za piće. Istraživanjima WHO (WHO 2007) dokazano je da natrij- dikloroizocijanurat ima nisku razinu oralne toksičnosti i dozvoljen je u dezinfekciji pitkih voda. Natrij-dikloroizocijanurat dugo se koristio samo u hitnim slučajevima, a 2004. je dozvoljen od WHO za rutinski tretman dezinfekcije vode.

Dezinfekcija vode značajno je smanjila broj bolesti koje se prenose vodom. Međutim, u posljednih nekoliko desetljeća, velika pozornost i brojna istraživanja usmjerena su ka mogućim zdravstvenim rizicima uzrokovanim kemijskom dezinfekcijom vode za piće. Većina nusproizvoda dezinfekcije su bioakumulativni spojevi, jer nisu razgradivi u tkivu. To su organske i anorganske tvari koje nastaju za vrijeme dezinfekcije reakcijama dezinficijensa i u vodi prisutnih tvari. Spojevi klora nastali kloriranjem vode za piće ne izazivaju akutne toksične učinke, no mogu se očekivati ireverzibilni mutanogeni i kancerogeni dugoročni učinci. Od spojeva koji se stvaraju u procesu kloriranja vode po svojoj mutagenosti i kancerogenosti izdvajaju se trihalometani (kloroform, diklorbrommetan, bromoform), ali su također značajni i ostali lako hlapivi halogenirani ugljikovodici, fenoli, aromatski ugljikovodici, aldehidi i ketoni (Rogić 2001). Čimbenici koji utječu na nastajanje nusproizvoda ovise o kemijskom sastavu dezinficijensa, dozi

odnosno koncentraciji i reziduama. Kada su doze i rezidue dezinficijensa veće, nastaje i više nusproizvoda dezinfekcije (Tofant i Vučemilo 2006). Kako bi se u cilju dobivanja zdravstveno ispravne vode uz provođenje dezinfekcije izbjeglo stvaranje nusproizvoda koji su zdravstveno upitni, najbolje rješenje i preporuka su provođenje mjera kondicioniranja vode s ciljem uklanjanja što više organske tvari. Razlog čestom korištenju klornih preparata u dezinfekciji vode je relativno jednostavan, jeftin i pouzdan postupak dezinfekcije.

U Hrvatskoj se putem sustava organizirane komunalne opskrbe opskrbi oko 80% ljudi, a putem lokalnih vodovoda oko 260 000 korisnika ili 6% ukupne populacije. Najveći broj lokalnih vodovoda nalazi se u Krapinsko-zagorskoj i Varaždinskoj županiji. Postavlja se pitanje kontrolira li se voda na lokalnim vodovodima dovoljno i je li ta voda zdrastveno ispravna za piće. Lokalni vodovodi nemaju riješen pravni status, nisu javna poduzeća, već njima upravlja grupa građana - vodovodni odbori ili u nešto boljem slučaju jedinice lokalne samouprave. Trenutno su osnovni problem u upravljanju vodama i proizvodnji vode za piće mala materijalna sredstva te bi stoga veću pažnju trebalo posvetiti upravo zaštiti onoga što imamo. Društvo bi trebalo ulagati u edukaciju i organizaciju sanitarne službe da bi ona dalje educirala građane (Vitale i sur. 2010). Krapinsko – zagorska županija iznimno je bogata vodom, što rezultira nastajanjem preko 200 lokalnih vodovoda. U 2006. god. počelo je ispitivanje lokalnih vodovoda, ispitana su 122 vodovoda, od toga je 92% zdrastveno neispravnih uzoraka (Marković 2011). Razlog neispravnosti u čak 98% slučajeva bila je isključivo mikrobiološka kontaminacija. Intenzivno se radi na senzibilizaciji i edukaciji ljudi s ciljem poboljšanja stanja. Zbog neznanja ljudi su pokazivali strah i otpor prema kloriranju. U 2010. godini broj neispravnih uzoraka se smanjio na 66 %, no i dalje je visok zbog čega je potrebno nastaviti rad na poboljšanju stanja (Marković 2011). Jednako loše stanje je i na ostalim lokalnim vodovodima u Hrvatskoj gdje su rezultati u 2008. godini pokazali da oko 20% uzoraka ne zadovoljava kemijsko-fizikalne, dok 64% njih ne zadovoljava mikrobiološke standarde (Vitale i sur. 2010).

6. ZAKLJUČAK

Nakon provedenih istraživanja na vodi iz lokalnog vodovoda došla sam do sljedećih zaključaka.

1. Na temelju rezultata provedenih testova uzorci vode koja služi za ljudsku uporabu prije korištenja Izosana-G nisu bili zdravstveno ispravni prema Pravilniku o zdravstvenoj ispravnosti vode za piće (NN, 47/08).
2. Izosan-G kao klorni dezinficijens postigao je očekivane rezultate. Nakon njegovog dodavanja voda je sedam dana bila ispravna za piće. Izosan-G je pogodan za korištenje zbog lake uporabe i dostupnosti.
3. Metoda MPN s reagensima Colilert i Enterolert pokazala se kao učinkovita i brza metoda dokazivanja ukupnih koliforma, *E. coli* i enterokoka u pitkim vodama.
4. Lokalni vodovod još je uvijek veliki problem u Krapinsko – zagorskoj županiji, potrebna je veća edukacija ljudi od strane sanitarne službe i radi zdravstvene sigurnosti korisnika.

7. LITERATURA

1. American Public Health Association (1992): Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, Section 9060 A. APHA**.**
2. Duraković S. (1991): Prehrambena biologija. Medicinska naklada Zagreb: 166-167.
3. Environment Agency (2002): The Microbiology of drinking water Part 1- Water Quality and public health. Environment Agency: 13-17.
4. Eckner F.K. (1998): Comparison of Membrane Filtration and Multiple-Tube Fermentation by the Colilert and Enterolert Methods for Detection of Waterborne Coliform Bacteria, *Escherichia coli*, and Enterococci Used in Drinking and Bathing Water Quality Monitoring in Southern Sweden. Applied and Environmental Microbiology **64** (8): 3079-3083.
5. Fotadar U., Zaveloff P. i Terracio L. (2005): Growth of *Escherichia coli* at elevated temperatures. Journal Basic Microbiol. **45** (5): 403-404**.**
6. Galal-Gorchev H. (1996): Chlorine in water disinfection. Pure & Appl. Chem. **68** (9): 1731-1735.
7. Gereš D. (2004): Kruženje vode u zemljinom sustavu. Građevinar **56**: 355-356.
8. Gross M., Farrell-Poe K. (2004): Disinfection. 1-35.
9. Hach Company (2000): The Use of Indicator Organisms to Assess Public Water Safety. Hach company Colorado: 1-48.
10. Hrenović J., Šimunović S. (2009): Pogodnost komercijalnih krutih hranjivih podloga za kultivaciju ukupnih koliformnih bakterija iz površinskih voda, Hrvatske vode **71**, 35-40.
11. Jakovina M. (1987): Doprinos poznavanju baktericidnosti preparata Izosan-G u vodi. Pliva- Paleta proizvoda za dezinfekciju: 33-36.
12. Marković B. (2011): Zdravstvena ispravnost vode iz lokalnih vodovoda na području Krapinsko-zagorske županije. HČJZ **7** (26).
13. Mead PS., Griffin PM (1998): *Escherichia coli* 0157:H7. Lancet **352**: 1207-1212.
14. Pliva (1987), Izosan- G. Pliva- Paleta proizvoda za dezinfekciju: 5-7.
15. Polanović Ž. (1993): Neka saznanja o dezinfekciji vode klornim preparatima. Diplomski rad, Veterinarski fakultet.

16. Rogić Z. (2001): Kvaliteta vode za piće moguća opasnost za zdravlje. Diplomski rad, Veterinarski fakultet.
17. Šojat A. (1999): Učinkovitost klornih i oksidacijskih dezinficijensa na higijensku ispravnost vode za piće. Magistarski stručni rad, Veterinarski fakultet.
18. Tofant A., Marjanović S. (2008): Kvaliteta vode za napajanje goveda- čimbenik dobrobiti. Meso **2**: 127-131.
19. Tofant A., Vučemilo M. (2006): Dezinfekcija voda u veterinarskoj djelatnosti- zdravstveni i ekološki aspekti. Zbornik radova 31. stručnog skupa s međunarodnim sudjelovanjem „Zdravstvena ekologija u praksi“: 53-62.
20. Tryland I., Fiksdal L. (1998): Enzyme Characteristics of β- D- Galaktosidase and β-D- Glukoronidase Positive Bacteria and Their Interference in Rapid Methods for Detection of Waterborne Coliforms and *Escherichia coli*. Applied and Environmental MicroBiology **64** (3): 1018-1023.
21. Vitale K., Afrić I., Šuljić P. i Pavić T. (2010): Uloga sanitarno-inspekcijskog nadzora vode u osiguranju javnozdravstvene zaštite u Republici Hrvatskoj. Med Jad **40** (3-4): 75-83.
22. WHO (2007): Sodium Dichloroisocyanurate in Drinking-water. WHO: 1-15.

INTERNET IZVORI

23. Narodne novine, broj 47/08: http://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/339082.html (01.02.2011)
24. Idexx, Water Microbiology: http://www.idexx.com/view/xhtml/en_us/water/colilert.jsf?conversationId=1622215 (10.02.2011)
25. Idexx, Water Microbiology: http://www.idexx.com/view/xhtml/en_us/water/enterolert.jsf (10.02.2011)
26. Merck Chemicals: http://www.merck-chemicals.com/croatia/r2a-agar/MDA_CHEM-100416/p_uuid (15.02.2011)

27. Chlorine as disinfectant for water, Lenntech: http://www.lenntech.com/processes/disinfection/chemical/disinfectants-chlorine.htm (10.05.2011)
28. Pliva, Izosan-G: http://www.pliva-sept.hr/izosan.html (10.02.2011)
29. Google maps: http://maps.google.com/ (05.06.2011)