



STRUČNI RAD / PROFESSIONAL PAPER

Analiza pitke vode na sabiralištima mlijeka Bjelovarsko-bilogorske županije

Marija Denžić Lugomer, Vesna Jaki Tkalec, Damir Pavliček, Maja Kiš, Jadranka Sokolović, Darko Majnarić

Hrvatski veterinarski institut, Veterinarski zavod Križevci, Ivana Zakmardija Dijankovečkog 10, Križevci

Sažetak

U radu je opisana važnost zdravstvene ispravnosti vode za piće koja se koristi na sabiralištima mlijeka Bjelovarsko-bilogorske županije. Kao izvorišta takove vode koriste se vlastiti bunari. Napravljena je osnovna mikrobiološka analiza na sljedeće parametre: ukupni koliformi, *Escherichia coli*, crijevni enterokoki, broj kolonija mikroorganizama na 37°C i 22°C, *Clostridium perfringens* i *Pseudomonas aeruginosa*. Fizičko-kemijska analiza napravljena je na sljedeće parametre: pH, slobodni klor, kloride, nitrite, nitrate, amonijak i utrošak $KMnO_4$.

Od ukupno 147 pretraženih uzoraka voda u razdoblju od 2011. do 2016. prema Pravilniku o zdravstvenoj ispravnosti vode za piće NN 47/2008 odnosno Pravilniku o parametrima sukladnosti i metodama analize vode za ljudsku potrošnju NN 125/2013 mikrobiološki nije bilo sukladno 46,3%, a kemijski 38,1% uzoraka.

Ključne riječi: laktofriz, voda, Bjelovarsko-bilogorska županija, sabirališta mlijeka

Summary

The paper describes the importance of health safety of drinking water which are used in the milk collection points in the Bjelovar-bilogora's district. The water sources used were private wells. Basic microbiological analysis of the following parameters was done: total coliform, *Escherichia coli*, intestinal enterococci, colony count at 37°C and 22°C, *Clostridium perfringens* and *Pseudomonas aeruginosa*. Physical-chemical analysis were made on the following parameters: pH, free chlorine, chlorides, nitrites, nitrates, ammonia and $KMnO_4$ consumption.

Among 147 samples analyzed during period from year 2011 till 2016, 46,3% were microbiologically and 38,1% were chemically unsuitable pursuant to the Croatian water quality regulations (NN 47/2008 and 125/2013).

Keywords: milk tanks, water, Bjelovar- bilogora's district, milk collection points

Uvod

Postojanje vode sigurno je jedan od uvjeta života na našoj planeti, jer je neophodna za odvijanje svih vitalnih procesa u biosferi. Ona danas pokriva 71% površine naše planete i čini 60-70% mase svih živih organizama. Od toga je 97% slana, morska voda, 2,4% su ledenjaci, a svega 0,6% je pitka voda. Njena uloga je nezamjenjiva u razmjeni tvari u čovjekovom organizmu, te za održavanje osobne i opće higijene, u proizvodnji namirnica u poljoprivredi i svim granama industrije. U suvremenoj stočarskoj proizvodnji, kao i u proizvodnji namirnica animalnog podrijetla, u nastojanju ekološke proizvodnje hrane prema standardima EU, sve se veći naglasak stavlja na sustavno istraživanje vode za piće s ciljem postizanja njihove zdravstvene ispravnosti i ekološke prihvatljivosti. Zdravlje ljudi i okoliš, zdravlje, dobrobit i proizvodnost životinja, kakvoća namirnica animalnog podrijetla u uskoj su vezi s kakvoćom pitkih, proizvodnih i otpadnih voda u području veterinarske djelatnosti (Tofant i Vučemilo, 2006). Najčešći i najbrže uočljiviji zdravstveni problemi u vezi s vodom nastaju zbog mikrobiološkog sastava. Vodom prenosivi organizmi mogu biti bakterije, virusi i paraziti. Opasnima se ne smatraju samo mikroorganizmi već i njihovi toksini, koji vrlo često ostaju u vodi

kada mikroorganizama više i nema (Marjanović i sur., 2008). Upravo zato, potrebno je pratiti njenu kakvoću što je i regulirano Zakonom o vodi za ljudsku potrošnju (NN 56/2013).

U Hrvatskoj se kontrola zdravstvene ispravnosti vode provodi prema Pravilniku o parametrima sukladnosti i metodama analize vode za ljudsku potrošnju (NN 125/2013), izmjenama (NN 141/2013, NN 128/2015). Prethodni Pravilnik o zdravstvenoj ispravnosti vode za piće NN 47/2008 definira vodu za piće kao svu vodu koja je u svojem izvornom stanju ili nakon obrade namijenjena za piće, kuhanje, pripremu hrane ili druge kućanske namjene, neovisno o njenom podrijetlu kao i svu vodu koju subjekti u poslovanju s hranom upotrebljavaju za proizvodnju, preradu, konzerviranje ili prodaju proizvoda ili tvari namijenjenih za konzumaciju ljudi.

Cilj rada bio je istraživanje kakvoće voda uzorkovanih na sabiralištima mlijeka Bjelovarsko-bilogorske županije, koja se koristi za ljudsku konzumaciju, napajanje stoke te za kućanske namjene u domaćinstvu, između ostalog i za pranje laktofriza, suđa i pribora koji se koriste kod sakupljanja mlijeka. Najčešći izvor zdravstvene neispravnosti sirovog mlijeka i njegovih prerađevina leži u vodi korištenoj za pranje suđa i pribora za sakupljanje mlijeka (Perkins i sur., 2009). Doprinos kvalitete korištene vode na kvalitetu sirovog mlijeka je malen, ali značajniji od onog koji se pripisuje samom mlijeku.



jan. Cilj ispitivanja bio je utvrditi «sukladnost» vode tj. usklađenost dobivenih vrijednosti za pojedine parametre s propisanim maksimalno dopuštenim koncentracijama (MDK) prema važećem Pravilniku. Budući da u Hrvatskoj nije objavljen niti jedan rad na tu temu, bilo je zanimljivo provjeriti kakvoću tih voda i ocijeniti njihovu «sukladnost».

Materijali i metode

Uzorkovanje voda

Uzorci voda uzorkovani su na sabiralištima mlijeka od strane stručnog osoblja, čime je dobiven reprezentativni uzorak. Uzorci su sakupljeni u sterilne boce i transportirani u hladnim kutijama do laboratorija unutar 6 sati od uzorkovanja. Neposredno nakon dolaska u laboratorij, podvrgnuti su mikrobiološkom i fizikalno-kemijskom pretraživanju. Analizirano je ukupno 147 uzoraka vode u razdoblju od 2011. do 2016.g. Tijekom 2011.godine uzorkovan je 31 uzorak na različitim sabirnim mjestima područja Bjelovarsko-bilogorske županije. Drugo uzorkovanje bilo je tijekom 2012.godine prilikom čega je uzorkovano 14 uzoraka na različitim sabirnim mjestima. Tijekom 2013.g. bila su dva uzorkovanja tijekom kojih je uzorkovano 56 uzoraka. Posljednje uzorkovanje provedeno je tijekom 2016.g. u tri navrata pri čemu je ukupno uzorkovano 46 različitih uzoraka. 2011.g. odabrano je 10 uzoraka čije je uzorkovanje ponovljeno tijekom 2013. i 2016.godine.

Fizikalno-kemijska analiza

Mjerenje pH vrijednosti vode

Koncentracija vodikovih iona ili pH vode određivan je potenciometrijski tj. mjerenjem pH vrijednosti na instrumentu pH metru SevenCompact S220 tvrtke Mettler Toledo. Postupak rada sa pH metrom i sama procedura mjerenja pH vrijednosti vršila se prema normi: HRN ISO 10523:2012.

Određivanje otopljenih aniona

Otopljeni anioni (kloridi, nitriti, nitriti) određivani su metodom ionsko-tekućinske kromatografije prema normi: HRN EN ISO 10304 -1:2009. Treba napomenuti da je tu metodu laboratorij akreditirao 2007.godine. Metoda je postavljena na instrumentu za ionsku kromatografiju tvrtke DIONEX, a detekcija je rađena uz konduktometrijski detektor sa supresijom. Kao eluent korištena je otopina 4,5 mmol/L Na₂CO₃ i 1,4 mmol/L NaHCO₃. Korištena je kolona Dionex IonPac AS22, 4 × 250 mm termostatorirana na 30°C. Protok je 1,2 mL/min. Za pripremu eluenta korištena je demineralizirana voda koja mora imati vodljivost < 0,1 μS/cm. Uzorak je prije injektiranja filtriran kroz membranski filter Ø 45 μm.

Određivanje otopljenih kationa

Otopljeni kationi (natrij- Na⁺; amonijak- NH₄⁺; kalij- K⁺; kalcij- Ca²⁺; magnezij- Mg²⁺) u vodi određivani su metodom ionsko-tekućinske kromatografije prema normi HRN EN ISO 14911:2001. Laboratorij je metodu akreditirao 2008. godine. Metoda je postavljena na instrumentu za ionsku kro-

matografiju tvrtke DIONEX, a detekcija je rađena uz konduktometrijski detektor sa supresijom. Kao eluent korištena je otopina 20 mM metansulfonske kiseline uz protok od 1 mL/min. Za pripremu eluenta korištena je demineralizirana voda koja mora imati vodljivost < 0,1 μS/cm. Korištena je kolona Dionex IonPac CS12, 4 × 250 mm, termostatorirana na 22°C. Uzorak je prije injektiranja filtriran kroz membranski filter Ø 45 μm.

Određivanje slobodnog klora

Metoda određivanja slobodnog klora temelji se na direktnoj reakciji sa N,N-dietil-1,4-fenilendiaminom (DPD-a) i stvaranju ružičasto obojenog spoja kod pH 6,2 do 6,5. Mjerenje inteziteta boje postiže se džepnim mjeracem klora tzv. kolorimetrom tvrtke HACH.

Određivanje utroška kalijeva permanganata (KMnO₄) vode

Metoda za određivanje utroška kalijeva permanganata tj. permanganatnog indeksa bazira se na određivanju količine kisika koja je potrebna da se oksidiraju otopljene organske tvari u vodi nekim jakim oksidacijskim sredstvom (KMnO₄). Utrošak KMnO₄ određuje se u skladu sa normom HRN EN ISO 8467:2001. Metoda se temelji na zagrijavanju uzorka u kipućoj vodenoj kupelji sa poznatom količinom kalijeva permanganata i sumporne kiseline na fiksni vremenski period (10 min). Redukcija dijela permanganata s oksidirajućim tvarima u uzorku i određivanje utrošenog permanganata dodatkom viška oksalne kiseline, praćena je titracijom s permanganatom.

Mikrobiološka analiza

U svrhu dokazivanja i određivanja broja ukupnih koliformnih bakterija i bakterije *Escherichia coli* u vodi korištena je metoda membranske filtracije prema standardnom postupku HRN EN ISO 9308 - 1: 2000 / Ispr. 1: 2008 i HRN EN ISO 9308-1:2014, dok je za dokazivanje i određivanje broja crijevnih enterokoka korišten postupak prema HRN EN ISO 7899-2:2000. Za dokazivanje bakterijske vrste *Pseudomonas aeruginosa* korišten je postupak prema HRN EN ISO 16266:2008, a detekcija i broj spora *Clostridium perfringens* nakon membranske filtracije i anaerobne inkubacije na 44°C i 37°C tijekom 24 sata određen je na m-CP agaru (*Clostridium perfringens* agar base, Merck, Njemačka) i na TSC agaru (Trypton sulfit cikloserin agar, Biokar, Francuska). Za određivanje broja kolonija mikroorganizama nacijeppljivanjem na hranjivi agar korištena je metoda HRN EN ISO 6222:2000.

Postupak pretraživanja uzoraka proveden je sukladno zahtjevima navedenih standarda pri čemu je postupkom membranske filtracije filtrirano po 100 mL uzorka vode kroz membranu veličine pora 0,45 μm te inkubirano na čvrstim selektivnim agarima, TTC agar za ukupne koliforme, TTC i TBX agar za *Escherichia coli*, te Slanetz i Bartley agar za crijevne enterokoke. Za potvrđivanje i identifikaciju poraslih mikroorganizama korištene su morfološke osobine i bioke-mijska svojstva. Koliformne bakterije potvrđene su produkcijom indola iz triptofanana te negativnom oksidazom. Bakterijska vrsta *Escherichia coli* raste kao plavo-zelene kolonije na TBX agaru, indol je pozitivna i oksidaza negativna. Crijevni enterokoki hidroliziraju eskulin iz žučno eskulin azid agara, a krajnji proizvod 6,7-dihidroksikumarin sa ionima



željeza daje tamno (žutosmeđe) do crno obojenje medija oko kolonije enterokoka. *Pseudomonas aeruginosa* je mikroorganizam koji raste na selektivnom mediju sa cetrimidom i koji producira pyocyanin, ili mikroorganizam koji raste na selektivnom mediju sa cetrimidom, oksidaza je pozitivan, fluorescira pod UV svjetlom (360±20) nm i sposoban je producirati amonijak iz acetamida.

Za određivanje broja kolonija mikroorganizama u 1 mL uzorka vode korišten je Yeast extract agar metodom nalijeivanja te inkubacija ploča na dvije temperature, 22°C kroz 68 sati inkubacije te 37°C kroz 44 sata.

Rezultati i rasprava

Rezultati mikrobiološkog i fizikalno-kemijskog pretraživanja 147 uzorka voda prikazani su u tablici 1 kao udio mikrobiološki ili kemijski nesukladnih uzoraka unutar broja pretraženih, obzirom na MDK vrijednosti propisane u Pravilniku, a rezultati uzoraka koji ne odgovaraju propisanim MDK vrijednostima Pravilnika u odnosu na pojedini parametar pretraživanja prikazani su u tablici 2.

Voda je zdravstveno ispravna kada su ustanovljene/dokazane/ vrijednosti ispitivanih svojstava ispod MDK vrijednosti. Laboratorijski nalazi ocjenjuju se usporedbom s graničnim vrijednostima. Budući da ne postoji posebna zakonska regulativa koja propisuje kvalitetu vode na sabiralištima mlijeka, preporuča se da kvaliteta takove vode bude jednaka kvaliteti vode za piće. Granične vrijednosti za RH do 12.10.2013. propisane su Pravilnikom o zdravstvenoj ispravnosti vode za piće (NN 47/2008), a nakon toga u Pravilniku o parametrima sukladnosti i metodama analize vode za ljudsku potrošnju (NN 125/2013). Ako koncentracija bilo koje od analiziranih parametara prelazi dopuštenu granicu, analizirana voda se ocjenjuje kao zdravstveno nesukladna.

Od ukupno 147 pretražena uzorka voda, mikrobiološki je sukladno 79 (53,7%), a kemijski 91 (61,9%) uzorak. Dobiiveni rezultati u suglasju su sa sličnim istraživanjima provedenim na uzorcima voda uzetih iz privatnih zdenaca s područja grada Zagreba. Od 34 uzoraka uzeta iz privatnih zdenaca 21 (61,8%) je bio zdravstveno nesukladno, (Senta i Marijanović Rajčić, 2007). Kontrolom zdravstvene ispravnosti vode za piće u 5 -godišnjem razdoblju, od 2004. do 2008. u Međimurskoj županiji, 83% uzoraka vode iz individualnih vodoopskrbnih objekata (bunara i sl.) bilo je zdravstveno nesukladno, od toga 32,5% odnosi se na mikrobiološko onečišćenje (Smilović i sur., 2010). Nadziranjem nitrata u vodi za piće na području Koprivničko-križevačke županije utvrđeno je da je 25% uzoraka iznad maksimalno dozvoljene koncentracije (Nemčić i Vadla, 2010).

Od ukupno 31 uzorka uzorkovanih tijekom 2011.g. kemijski je sukladno 14 (45,2%) uzoraka, a mikrobiološki 15 (48,4%) uzoraka. Nitrati su pronađeni u koncentracijama iznad dopuštene u 17 od 147 uzoraka ili u 54,8 % uzoraka. Ostali analizirani kemijski parametri nisu prelazili dopuštene koncentracije. U 12 uzoraka dokazano je postojanje ukupnih koliformnih bakterija, što iznosi 38,7%, a *Escherichia coli* je bila pozitivna u 9, odnosno 29,1% uzoraka. Enterokoki su dokazani u 13 (41,9%) uzoraka, a bakterija *Clostridium perfringens* nije dokazana ni u jednom istraživanom uzorku voda. Aerobne

bakterije uzgajane na temperaturi inkubacije 22 °C nađene su iznad maksimalno dopuštene vrijednosti u 13 (41,9%), a na 37 °C u 15 (48,4%) uzoraka. Nakon navedenog prvog uzorkovanja, odabrano je 10 sabirališta mlijeka na kojima je ponovljeno uzorkovanje pitke vode tijekom 2013. i 2016.godine. Od 10 odabranih uzoraka, tijekom 2011.g. 7 je bilo kemijski, a 8 mikrobiološki nesukladno.

Tijekom 2012.g. analizirano je 14 uzoraka. Mikrobiološki nesukladnim pokazalo se 78,6% uzoraka, a kemijski 57,1% uzoraka. Prisutnost ukupnih koliformnih bakterija dokazana je u 2 uzorka voda, crijevnih enterokoka u 5, dok *Escherichia coli* i *Clostridium perfringens* nisu dokazani niti u jednom uzorku. Aerobne bakterije uzgajane na temperaturi inkubacije 22 °C nađene su iznad maksimalno dopuštene vrijednosti u 8, a na 37 °C u 10 uzoraka. U jednom uzorku voda nitrit je pronađen u koncentracijama iznad MDK, dok su povišene koncentracije nitrata pronađene u 8 odnosno 57,1% uzoraka. Ostali analizirani kemijski parametri nisu prelazili dopuštene koncentracije.

Tijekom 2013.g. uzorkovanje je provedeno dva puta godišnje. U prvom uzorkovanju od ukupno 32 uzorka mikrobiološki bilo je sukladno 9, a kemijski 14 uzorka. U 10 uzoraka voda dokazana je prisutnost ukupnih koliformnih bakterija, što iznosi 31,2%, *Escherichia coli* pozitivna u 7 (21,9%), crijevnih enterokoka u 23 (71,9%) uzoraka, dok bakterija *Clostridium perfringens* nije dokazana ni u jednom analiziranom uzorku. Aerobne bakterije uzgajane na temperaturi inkubacije 22 °C nađene su iznad maksimalno dopuštene vrijednosti u 21 (65,6%) uzoraka, a na 37 °C u 23 (71,9%) uzoraka. Povišene koncentracije nitrata pronađene u 18 (56,2%) uzoraka. U prvom uzorkovanju svih 10 odabranih uzoraka bilo je mikrobiološki nesukladno (100%), a kemijski nesukladno bilo je 7 (70,0%) uzoraka. U prvom uzorkovanju 2013. godine od ukupno 24 uzoraka mikrobiološki je sukladno bilo 24 (100%) uzoraka. Kemijski sukladno bilo je 21 (87,5%) uzoraka. U jednom uzorku (4,2%) voda povećana je koncentracija nitrata, a koncentracija amonijaka povećana je u 2 (8,3%) uzoraka. Ostali analizirani kemijski parametri nisu prelazili dopuštene koncentracije. Drugim uzorkovanjem svi odabrani uzorci (10) bili su mikrobiološki sukladni, a svega 1 uzorak bio je kemijski nesukladan zbog povećane koncentracije amonijaka.

U 2016.g. analizirano je 46 uzoraka, od kojih je 28 (60,9%) mikrobiološki sukladno, a kemijski 35 (76,1%) uzoraka. U 18 uzoraka voda dokazana je prisutnost ukupnih koliformnih bakterija (39,1%), *Escherichia coli* dokazana je u 16 (34,8%) uzoraka, dok su crijevni enterokoki dokazani su u 14 (30,4%) uzoraka. Bakterija *Clostridium perfringens* dokazana je u 11 (23,9%) uzoraka. Aerobne bakterije uzgajane na temperaturi inkubacije 22 °C nađene su iznad maksimalno dopuštene vrijednosti u 15 (32,6%) uzoraka, a na 37 °C u 16 (34,8%) uzoraka. Analiza na 10 uzoraka voda uzrokovanim tijekom 2016.g. na istim sabiralištima mlijeka kao i prethodnih godina, ukazala je na 3 kemijski i 7 mikrobiološki nesukladna uzoraka. Na slici 1. prikazan je broj mikrobiološki i kemijski nesukladnih uzoraka, izraženih kao % u odnosu na ukupan broj uzoraka, kroz godine uzorkovanja. Izuzev druge godine uzorkovanja prilikom kojeg je obuhvaćen manji broj analiziranih uzoraka, vidljiv je trend smanjivanja udjela kemijski i mikrobiološki nesukladnih uzoraka. Slika 2. prikazuje broj mikrobiološki i kemijski nesukladnih uzoraka između 10 odabranih

uzoraka uzetih na istim sabirališta mlijeka u 2011., dva puta u 2013. i 2016. godini. Iz slike je vidljivo kako prilikom drugog uzorkovanja u 2013. godine je došlo do drastičnog pada u broju nesukladnih uzoraka nakon što su odgovorne osobe na sabiralištima mlijeka obaviještene o rezultatima analize prvog uzorkovanja u 2013. g.

Određivanje pH vrijednosti je vrlo važno zbog utjecaja na kemijska i biološka svojstva. Na pH utječu: huminske tvari koje mijenjaju karbonatnu ravnotežu, biološka aktivnost biljaka, a u nekim slučajevima i soli koje se mogu hidrolizirati. Tijekom svih uzorkovanja niti jedan uzorak nije se pokazao nesukladnim na ovaj analizirani parametar.

Određivanje utroška KMnO_4 (oksidativnost) tj. permanganatni indeks pokazatelj je sadržaja otopljenih organskih tvari u vodi. U prirodnim vodama povećane količine organske tvari najčešće predstavljaju sekundarno zagađenje izvorišta (posljedica ispiranja poljoprivrednih površina ili pak raspadanja raznih uginulih biljnih i/ili životinjskih vrsta) i upravo zato, određivanje tog parametra u vodi za piće je važan pokazatelj mogućeg zagađenja izvorišta organskim tvarima.

Čišćenje i dezinfekcija u procesu proizvodnje mlijeka na farmi je od presudne važnosti za kvalitetu mlijeka. Kemijska otapala koja sadrže klor se koriste kao učinkovita i ekonomska sredstva za čišćenje i dezinfekciju muznih objekata, uključujući i primjenu kod dezinfekcije vode. Prilikom uporabe takovih otapala može doći do nenamjernih nuspojava. Naime, kada klor dolazi u kontakt s mlijekom, dolazi do formiranja triklorometanskih rezidua (TCM) osobito u mliječnoj hrani sa visokim udjelom masti kao što je npr. maslac. Stoga je vrlo važno pratiti koncentraciju slobodnog klora u korištenoj vodi.

Otopljeni kloridi uglavnom čine najveći udio otopljenih aniona u vodi. Uglavnom je njihova koncentracija u izvorištima stalna i svaka značajna promjena može ukazati na sekundarno zagađenje izvorišta fekalijama i/ili otpadnim vodama. Svi analizirani uzorci voda pokazali su se sukladnim na ovaj parametar.

U cilju ispitivanja i procjene kakvoće voda, utvrđivanje prisustva tvari koje nastaju kao posljedica raspadanja otpadaka biljnog i/ili životinjskog podrijetla je od velike važnosti. Uzgoj stoke utječe na pogoršanje kvalitete vode kroz točkaste (farme, deponiji organskih gnojiva, septičke jame) i difuzne (primjena mineralnih gnojiva na poljoprivrednim površinama) izvore onečišćenja (Nemčić-Jurec i Valda, 2010). Kao produkti razlaganja tvari biološkog podrijetla nastaju spojevi dušika: amonijak, nitriti i nitrati. Svi navedeni oblici dušika mogu u vodu doći i zagađivanjem izvorišta otpadnim vodama. Nalaganje nitrata u vodi za piće upućuje na «svježije zagađenje» najčešće nastalo razlaganjem bioloških tvari koje su dospjele u nezaštićena izvorišta ili bunare ili ako je došlo do prodora zagađenih industrijskih otpadnih voda. Nitriti su vrlo toksični.

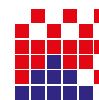
Nitrata kao spojeva dušika, najvišeg stupnja oksidacije u kruženju dušika u prirodi, u površinskim vodama ima malo (najčešće od 1 - 30 mg/L), ali u dubinskim vodama mogu se naći i veće količine. Povećana koncentracija nitrata u vodi za piće može potencijalno uzrokovati zdravstvene probleme ljudi i životinja. Budući iz nitrata pod utjecajem mikroorganizama nastaju nitriti i nitrozamini njihov unos u organizam može biti vrlo opasan čak što više i toksičan. Poznato je da nitriti u krvi reagiraju s hemoglobinom koji je nosilac kisika kroz naše tijelo i time je njegova uloga kao prenosioca kisika znatno umanjena.

Kod vezivanja nitrata za hemoglobin, hemoglobin se pretvara u methemoglobin i smanjuje se kapacitet prijenosa kisika što može biti vrlo opasno naročito kod male djece. To je tzv. «blue baby syndrome» ili methemoglobinemija. Također je poznato da se nitrati u organizmu vežu s organskim spojevima te stvaraju nitrozamine koji mogu modificirati određene komponente DNA čime mogu uzrokovati tumore (Nemčić-Jurec i sur., 2009). Od svih gore navedenih kationa praćene su samo koncentracije amonijaka, budući prisustvo amonijaka u vodi ukazuje na «svježije» zagađenje vode fekalijama i predstavlja opasnost za korisnika takove vode. Ponekad kišnica, a vrlo često voda dubinskih bunara može sadržavati tragove amonijaka koji je u dubinskim bunarima geološkog podrijetla i ne predstavlja opasnost za korisnike takovih voda.

Kretanje broja nesukladnih uzoraka po pojedinom mikrobiološkom parametru i najzastupljenijem kemijskom parametru kroz godine uzorkovanja prikazano je na slici 3. Onečišćenje vode bakterijom *Escherichia coli* i crijevnim enterokokima najčešće su dokaz fekalne kontaminacije, jer su normalna mikroflora crijeva ljudi i toplokrvnih životinja. One mogu dugo preživjeti u okolišu, a ima ih toliko da se lako mogu dokazati i u velikim razrjeđenjima. Zato se koriste kao indikatori fekalne kontaminacije vode i stoga je velika vjerojatnost da su u vodi prisutni i patogeni koji žive u probavnom sustavu. Rezultati skorašnjih istraživanja povezuju mikobakterije podrijetla iz voda s infekcijama u osoba sa smanjenom otpornošću (Duračić i sur., 2002). Do onečišćenja vode dolazi najčešće prodorom organske tvari iz septičkih jama, nepravilno građenih ili dotrajalih kanalizacijskih sustava, stočarskih staja i farma s nepravilnim odlaganjem stajskog gnoja. Organska otpadna tvar je mogući nosilac patogenih mikroorganizama i parazita te toksičnih, kancerogenih i po zdravlje opasnih tvari. Prema podacima iz Državnoga epidemiološkog zavoda, o hidričnim epidemijama za 1993.-2000. godinu može se zaključiti da je broj izloženih osoba epidemijama velik, a uzrok je virusnog ili bakteriološkog podrijetla: *Shigella*, *Leptospira*, *Legionella*, *Rota virus* (Alebić i sur., 2002).

Zaključci

Analiza vode na sabiralištima mlijeka u Bjelovarsko-bilogorskoj županiji dovodi do zaključka kako je riječ o velikom postotku kemijski i mikrobiološki nesukladnih voda. U odnosu na rezultate analize prvih uzorkovanja 2011. g., došlo je do smanjenja postotka nesukladnih uzoraka voda što ukazuje na činjenicu kako se počelo voditi računa o kontroli kvalitete na takovim mjestima. Budući da je kakvoća bunarske vode promjenjiva jer može sadržavati onečišćenja zbog neodgovarajuće odvodnje iz vlastitih ili obližnjih objekata (staja, septičkih jama) ili poslije oborina, kada se površinske vode ulijevaju u bunare, a rezultati laboratorijskih ispitivanja pokazuju stanje vode samo u trenutku kad je uzorak uzet, prava slika o zdravstvenoj ispravnosti bunarske vode i njezinim promjenama može se odrediti samo češćim ponavljanjem analiza i odgovarajućim nadzorom što bi bilo potrebno zakonski regulirati. Kao jedno od rješenja preporuča se korištenje javne vodoopskrbe kao najsigurniji način korištenja vode jer se redovito kontroliraju osnovna mikrobiološka, kemijska i organoleptička svojstva vode.



Tablica 1. Udio mikrobiološki i kemijski nesukladnih uzoraka unutar broja pretraženih obzirom na MDK vrijednosti propisane u Tablici 4. Pravilnika o parametrima sukladnosti i metodama analize vode za ljudsku potrošnju (NN 125/2013)

Table 1. The percentage of microbiological and chemical unsuitable samples among analyzed samples pursuant to the exposure levels set out in Table 4. of the Croatian water quality regulations (NN 125/2013)

Vrsta analize/ Type of analysis	Broj pretraženih uzoraka/ Number of analyzed samples	Broj nesukladnih uzoraka/ Number of unsuitable samples	Izraženo u % / Expressed as %
Mikrobiološka/ Microbiological	147	68	46,3
Kemijska/ Chemical	147	56	38,1

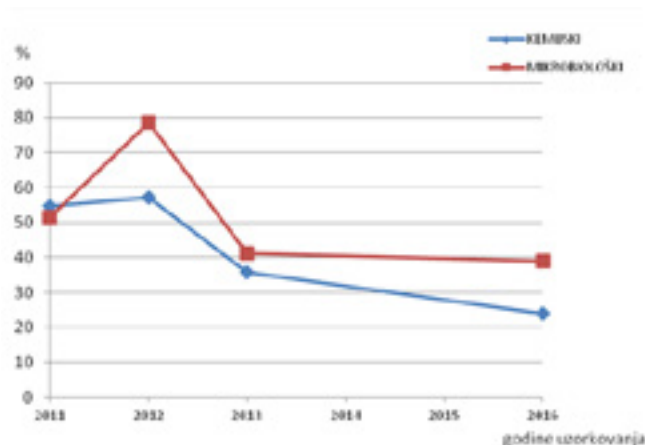
Tablica 2. Rezultati uzoraka koji ne odgovaraju propisanim MDK vrijednostima Pravilnika o parametrima sukladnosti i metodama analize vode za ljudsku potrošnju (NN 125/2013), odnosu na pojedini parametar pretraživanja

Table 2. Results of unsuitable samples pursuant to the exposure levels set out in Table 4. of the Croatian water quality regulation (NN 125/2013), compared to a individual analyzed parameter

Parametar pretraživanja/ Analyzed parameter	Broj uzoraka koji ne odgovara Pravilniku o parametrima sukladnosti i metodama analize vode za ljudsku potrošnju (NN 125/2013)/ Number of unsuitable samples pursuant to Croatian water quality regulation (NN 125/2013)	%
Broj kolonija mikroorganizama na 37°C	64	43,5
Broj kolonija mikroorganizama na 22°C	59	40,1
Crijevni enterokoki	56	38,1
Nitrati	52	35,4
Ukupni koliformi	41	27,9
Escherichia coli	32	21,8
Clostridium perfringens	11	7,5
Pseudomonas aeruginosa	3	2,0
Amonijak	2	1,4
Nitriti	1	0,7
Slobodni klor	1	0,7
Utrošak KMnO4	1	0,7

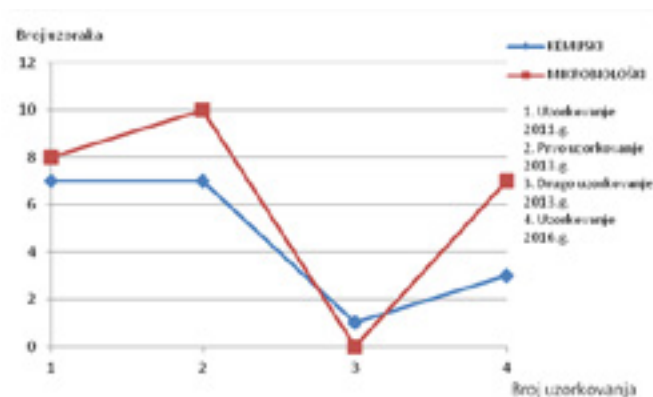
Slika 1. Pregled kemijski i mikrobiološki nesukladnih uzoraka kroz godine uzorkovanja

Figure 1. Overview of the chemical and microbiological unsuitable samples through the sampling years



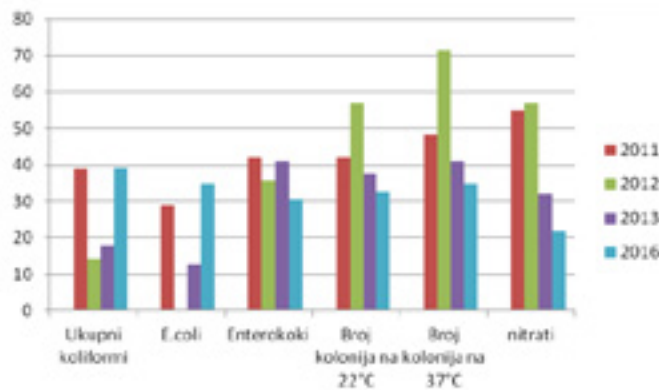
Slika 2. Pregled kemijski i mikrobiološki nesukladnih uzoraka unutar 10 odabranih uzoraka kroz nekoliko uzorkovanja

Figure 2. Overview of the chemical and microbiological unsuitable samples among 10 selected samples through several sampling



Slika 3. Prikaz rezultata mikrobiološki i kemijski nesukladnih uzoraka po pojedinačnom parametru pretraživanja kroz godine uzorkovanja

Figure 3. Results microbiological and chemical unsuitable samples per individual analyzed parameter through the sampling years



Literatura

Alebić P., Papa M., Čepić L. (2002) Protočni otopinski klorinator AS 82. *Hrvatska vodoprivreda*, 120, 46-47.

Asaj A. (1974) Zoohigijena u praksi. Školska knjiga, Zagreb, Hrvatska.

Duraković S., Delaš F., Duraković, L. (2002) Moderna mikrobiologija namirnica. Udžbenici Sveučilišta u Zagrebu.

HRN EN ISO 9308 – 1 : 2000. / Ispr. 1 : 2008. - Detekcija i brojenje *Escherichia coli* i koliformnih bakterija – 1. dio : Metoda membranske filtracije (izvornik: International Organization for Standardization, ISO 9308-1:2000/Cor 1:2007; EN ISO 9308-1:2000/AC:2008)

HRN EN ISO 9308 – 1 : 2014 - Brojenje *Escherichia coli* i koliformnih bakterija – 1. dio: Metoda membranske filtracije za vode s niskom pozadinom bakterijske flore (izvornik: International Organization for Standardization, ISO 9308-1:2014; EN ISO 9308-1:2014)

HRN EN ISO 6222 : 2000. – Brojenje uzgojenih mikroorganizama – Broj kolonija naciepljivanjem na hranjivi agar (izvornik: International Organization for Standardization, ISO 6222:1999; EN ISO 6222:1999)

HRN EN ISO 7899 - 2 : 2000. – Detekcija i brojenje crijevnih enterokoka – 2. dio : Metoda membranske filtracije (izvornik: International Organization for Standardization, ISO 7899-2:2000; EN ISO 7899-2:2000)

HRN EN ISO 16266:2008 - Detekcija i brojenje *Pseudomonas aeruginosa* – Metoda membranske filtracije (izvornik: International Organization for Standardization, ISO 16266:2006; EN ISO 16266:2008)

HRN ISO 10523:2009 Kakvoća vode - Određivanje pH vrijednosti (ISO 10523:2008)

HRN EN ISO 10304 -1:2009 Kakvoća vode – Određivanje otopljenih aniona ionskom kromatografijom –1.dio:Određivanje bromida, klorida,fluorida, nitrata, nitrita, fosfata i sulfata (ISO 10304-1:2007; EN ISO 10304-1:2009).

HRN EN ISO 14911:2001. Kakvoća vode - Određivanje otopljenih Li^+ , Na^+ , NH_4^+ , K^+ , Mn^{2+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Sr^{2+} i Ba^{2+} ion-

skom kromatografijom-metoda za vode i otpadne vode (ISO 14911:1998; EN ISO 14911:1999)

HRN EN ISO 8467:2001 Kakvoća vode-Određivanje permanganatnog indeksa (ISO 8467:1993; EN ISO 8467:1995)

Marjanović S., Tofant A.(2008) Kvaliteta vode za napajanje goveda-čimbenik dobrobiti. *Meso*. X, 127-131.

Nemčić-Jurec J., Vadla D., Mesić M., Bašić F. (2009) Porijeklo nitrata u vodi za piće iz plitkih bunara Koprivničko-križevačke županije. XIII.Znanstveno- stručni skup «Voda i javna vodoopskrba». Gradac, Hrvatska.

Nemčić-Jurec J., Vadla D.(2010) Nadziranje nitrata u vodi za piće na području Koprivničko-križevačke županije. *Acta Medica Croatica*, 64, 375-381.

Perkins N.R., Kelton D.F., Hand K.J., Macnaughton G., Berke O., Leslie K.E. (2009) An analysis of the relationship between bulk tank milk quality and wash quality on dairy farms in Ontario, Canada. *Journal of Dairy Science*, 92, 3714-3722.

Pravilnik o zdravstvenoj ispravnosti vode za piće, Narodne novine, NN 47/2008

Pravilnik o parametrima sukladnosti i metodama analize za ljudsku potrošnju, Narodne novine, NN 125/2013

Pravilnik o izmjenama Pravilnika o parametrima sukladnosti i metodama analize vode za ljudsku potrošnju, Narodne novine, NN141/2013

Pravilnik o izmjenama i dopunama Pravilnika o parametrima sukladnosti i metodama analize vode za ljudsku potrošnju NN128/2015

Tofant A., Vučemilo M. (2006) Dezinfekcija voda u veterinarskoj djelatnosti- zdravstveni i ekološki aspekti. 31. stručni skup s međunarodnim sudjelovanjem “Zdravstvena ekologija u praksi». Šibenik, Hrvatska.

Senta A., Marijanović Rajčić M. (2007) Zdravstvena ispravnost pitke vode iz privatnih zdenaca u Zagrebu. *Liječnički Vjesnik*, 129, 39-43.

Zakon o vodi za ljudsku potrošnju, Narodne novine, NN 56/2013.