

# PERZISTENCIJA KOLIFORMNIH BAKTERIJA U MIKROKOZMOSIMA IZVORSKE VODE

Doris Iličić

Sveučilište u Zagrebu,  
Prirodoslovno-matematički  
fakultet, Biološki odsjek  
Rooseveltov trg 6,  
1000 Zagreb  
dilicic@stud.biol.pmf.hr

doc. dr. sc. Goran Palijan  
Sveučilište Josipa Jurja  
Strossmayera u Osijeku,  
Odjel za biologiju  
Ulica cara Hadrijana 8/A,  
31000 Osijek

Planina Papuk, geološki vrijedno područje Republike Hrvatske, u svojim šumama skriva brojne prirodne izvore. Kako bi odredili kvalitetu odabrane izvorske vode, proveli smo istraživanje u kojem smo određivali prisustvo koliformnih bakterija kao glavnih indikatora zagađenja vode. Također, ispitivali smo mogućnost preživljavanja namjerno dodanih koliforma u mikrokozmose s kvarcnim pijeskom u laboratorijskim uvjetima. Nakon prikupljanja i analiziranja uzorka s četiri odabrana izvora (Jankovac, Kokočak (Vučenović), Muška voda i Žervanjska) rezultati su pokazali kako voda s izvora Kokočak (Vučenović) nije prikladna za piće zbog povećanog ukupnog broja mikroorganizama te koliformnih bakterija, dok su se ostala ispitana izvorišta pokazala prikladna za ljudsku upotrebu. Nadalje, izvor Muška voda pokazao se kao izvor s najvećom kvalitetom vode, kako zbog ispitivanih parametara, tako i zbog nemogućnosti preživljavanja inokuliranih koliforma koji su u mikrokozmosima s ostalih izvora perzistirali. Kako bi potvrđili rezultate, ponovili smo istraživanje na izvoru Muška voda te su isti ovoga puta pokazali mogućnost perzistencije inokuliranih koliforma kao i veći porast aerobnih mezofilnih bakterija u mikrokozmičkim uvjetima.

**Ključne riječi:** izvorska voda, bakterije, biofilm, mikrokozmos, Papuk

## 1. UVOD

Koliformne bakterije kao pokazatelji kvalitete vode koriste se od početka stoljeća. Njihova prisutnost ukazuje na fekalnu kontaminaciju i, za potrošača, mogućnost povećanog rizika od infekcije patogenim enteričkim mikroorganizmima. Koncept koliforma kao pokazatelja zagađenja čest je predmet rasprave, jer nijedna skupina mikroorganizama u potpunosti ne zadovoljava teoretske kriterije kao savršeni pokazatelj: (1) prisutnost u uzorku na višim razinama od patogena, (2) nemaju veću stopu rasta niti odumiru brže od patogena u vodi; (3)

otporniji na dezinficijense nego sami patogeni, (4) lako prepoznatljivi (Fass i sur., 1996.). Koliformne bakterije prirodno su prisutne u gastrointestinalnom sustavu ljudi i životinja te su neophodne za ispravno funkcioniranje probavnog sustava. Velika većina tih bakterija je zapravo bezopasna. Ove bakterije, iako nisu najbrojnija skupina koja nastanjuje debelo crijevo čovjeka, predstavljaju jedan od glavnih indikatora bakterijskog zagađenja vode koje se lako može detektirati u uzorcima čak i nakon razrjeđivanja vodom recipijenta. S obzirom da koliformne

bakterije, koje dijelimo na fekalne koliforme (rastu na 44,5°C) i ukupne koliforme nefekalnog podrijetla, sadrže i patogene predstavnike, općenito je prihvaćeno da odsutnost koliforma u uzorku vode ukazuje na to da je voda sigurna za ljudsku potrošnju i upotrebu (Schuettpelz, 1969.). Točnije, prema Pravilniku o parametrima sukladnosti, metodama analize, monitoringu i planovima sigurnosti vode za ljudsku potrošnju te načinu vođenja registra pravnih osoba koje obavljaju djelatnost javne vodoopskrbe (NN/17), zdravstveno ispravnom vodom za piće smatra se voda koja ne sadrži mikroorganizme, parazite niti njihove razvojne oblike.

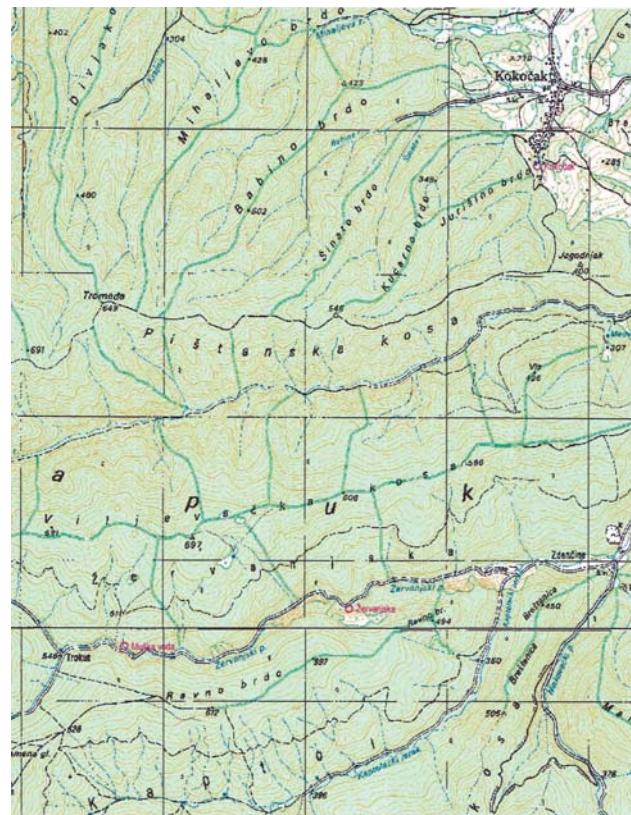
Mikrokozmosi su pojednostavljeni, fizički modeli prirodnih ekosustava koji omogućavaju kontrolirano provođenje laboratorijskih ili *in situ* eksperimenata, ali sa smanjenom heterogenošću i biološkom kompleksnošću (Matheson, 2008., Ellis, 2004.). Oni omogućuju analizu fizikalnih, kemijskih ili pak mikrobioloških podataka u kontroliranim uvjetima. Kao takvi, mikrokozmosi su poslužili u ovom istraživanju s ciljem ispitivanja sposobnosti preživljavanja koliforma, čime se željelo simulirati situaciju kontaminacije samog izvora. Brojna istraživanja, poput istraživanja Cho i sur. (2010.), pokazala su kako sedimenti (tj. supstrati slični korištenim mikrokozmosima), sadržavaju puno veće koncentracije, kako fekalnih koliforma, tako i *Escherichia coli*, u odnosu na stupac vode te također predstavljaju jedan od važnih izvora koliformnih bakterija. Ovakav supstrat predstavlja gostoljubiv okoliš zbog dostupnosti topljivih organskih i hranjivih tvari, zaštite od grabežljivaca, poput protozoa, kao i zaštite od izlaganja UV svjetlosti, te kao takvi podržavaju prisutnost koliforma u većoj koncentraciji u odnosu na stupac vode. Uspješan razvoj koliforma se objašnjava formiranjem biofilma koji im nudi bolju okolinu za preživljavanje (Anderson i sur. 2005.; Kiefer i sur. 2012.).

Cilj ovog istraživanja bio je, na temelju bakterioloških parametara, odrediti je li uzorkovana izvorska voda prikladna za piće, te ispitati preživljavanje dodanih koliforma u mikrokozmičkim sustavima s izvorskom vodom.

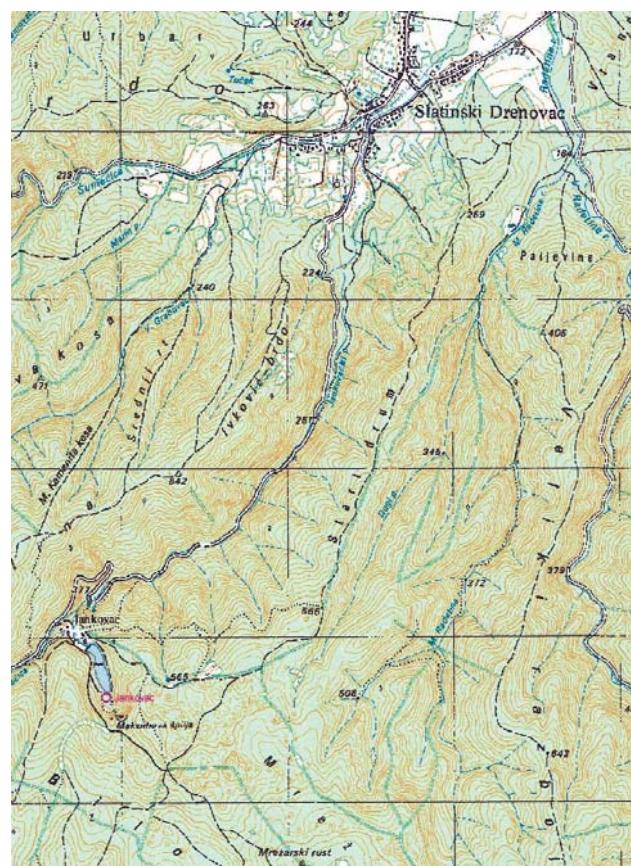
## 2. MATERIJALI I METODE

### 2.1. Prikupljanje uzoraka

Uzorci izvorske vode prikupljeni su 18.02.2018. s četiri odabrana izvora na području planine Papuk ([slika 1](#) i [slika 2](#)): izvor Jankovac – 432 m.n.v. ([slika 3](#)) koji se nalazi na istoimenom izletištu unutar Parka prirode Papuk, izvor Kokočak (Vučenović) – 215 m.n.v. ([slika 4](#)) koji se nalazi u samom naselju Kokočak, izvor Muška voda – 549 m.n.v. ([slika 5](#)) te izvor Žervanska – 428 m.n.v. ([slika 6](#)). Drugo uzorkovanje izvora Muška voda uslijedilo je 16.09.2018. Uzorci su prikupljeni u sterilne staklene boce od 1 L, bez sedimenta i transportirani u laboratorij u izoliranoj kutiji.



Slika 1: Topografska karta s označenim izvorima Kokočak (Vučenović), Muška voda i Žervanska



Slika 2: Topografska karta s označenim izvorom Jankovac



Slika 3: Izvor Jankovac na istoimenom izletištu unutar Parka prirode Papuk koji izvire kroz pukotine karbonatnih stijena



Slika 4: Kaptiran izvor Kokočak (Vučenović) unutar naselja Kokočak



Slika 5: Kaptiran izvor Muška voda koji izvire iz karbonatnih stijena šume Papuka



Slika 6: Izvor Žervanjska nedaleko istoimenog eksploatacijskog polja karbonatnih stijena (dijabaza)

## 2.2. Bakteriološka analiza

Ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija određen je iz 1 ml uzorka izvorske vode na hranjivom agaru (Biolife) tehnikom izljevanja. Inkubacija je trajala 72 h na 21°C. Broj ukupnih koliforma određen je iz 100 ml uzorka izvorske vode metodom membranske filtracije. Uzorak vode profiltriran je kroz membranske filtre promjera pora 0,2 µm (Dekić i Hrenović, 2017.). Oni su zatim stavljeni na Endoagar (Liofilchem), selektivnu i diferencijalnu podlogu za uzgoj koliforma. Uzgoj bakterija na Endoagaru predstavlja potvrđni test u kolimetriji, tj. testu za određivanje prisutnosti koliformnih bakterija. Slijedila je inkubacija od 48 h na 36°C. Tijekom inkubacije koliformi razvijaju tamno crvene kolonije s metalnim zelenim sjajem, dok bakterije koje ne fermentiraju laktuzu ne stvaraju metalni sjaj. Stoga su kao sigurna indikacija prisutnosti koliforma u uzorcima brojane kolonije s metalnim zelenim sjajem.

## 2.3. Mikrokozmosi

Kako bi ispitali preživljavanje koliforma u slučaju zagađenja izvora, pripremljeni su mikrokozmosi. Staklene bočice s plastičnim čepom (35 ml) napunjene su s 15 ml kvarcnog pijeska veličine zrna 0,1 do 0,4 mm. U svrhu uklanjanja nečistoća, pijesak je natopljen s 5 ml 0,1 M HCl-a te nakon 24 h ispiran je destiliranim vodom u pet ponavljanja. Nakon toga, pijesak je steriliziran autoklaviranjem.

Čista kultura koliforma korištena za obogaćivanje mikrokozmosa je izolirana iz kolektorskog sustava kanalizacije grada Osijeka. Uzorak iz kolektora je nasaden na Endoagar i nakon inkubacije jedna izolirana kolonija s metalnim zelenim sjajem je presaćena na hranjivi agar na kojem je razmnožena. Ovaj materijal je korišten za izradu suspenzije za nasadivanje mikrokozmosa. Suspenzija koliforma optičke gustoće pri 600 nm od 0,1, u izvorskoj vodi, nasaden je na pijesak. Također, na pijesak je nasaden originalni uzorak izvorske vode te sterilna destilirana voda kao kontrola.

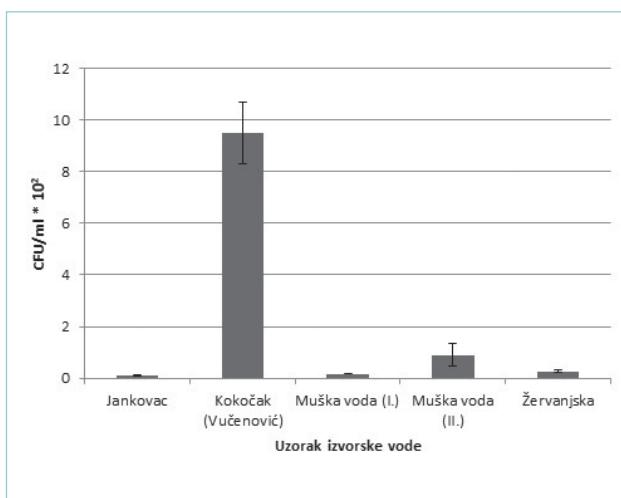
Nakon devetodnevne inkubacije na 22°C pripremljene su suspenzije 0,5 g pjeska i 4,5 ml destilirane vode. Broj mezofilnih aerobnih bakterija određen je iz 1 ml suspenzije na hranjivom agaru tehnikom izljevanja, a nakon inkubacije od 96 h na 21°C. S druge strane, broj ukupnih koliforma određen je iz 0,1 ml suspenzije na Endoagaru tehnikom razmazivanja, a nakon inkubacije od 96 h na 36°C.

#### 2.4. Analiza fizikalno-kemijskih parametara vode

Fizikalno-kemijski parametri određeni su u laboratoriju. pH vrijednost vode određena je pH-metrom, dok je konduktivitet određen konduktometrom.

### 3. REZULTATI I RASPRAVA

U ovom se istraživanju određivala prisutnost aerobnih mezofilnih bakterija, kao i prisutnost koliforma u pojedinim izvorskim vodama te mogućnost perzistencije koliforma u mikrokozmosima s izvorskom vodom. Analizom dobivenih podataka, nakon nasadijanja vode na hranjivu podlogu, aerobne mezofilne bakterije su zabilježene na svim izvorima (slika 7), dok je porast koliformnih bakterija zabilježen samo na izvoru Kokočak (Vučenović). Porast broja kolonija aerobnih mezofilnih bakterija s ovoga izvora premašuje minimalni dopušteni broj kolonija po 1 ml uzorka propisan Pravilnikom (NN/17). Također, prisutnost koliforma u ovom uzorku (porast koliforma na Endoagaru je bio pregust da bi se brojao), čini vodu s ovoga izvora neprihvatljivom za piće.

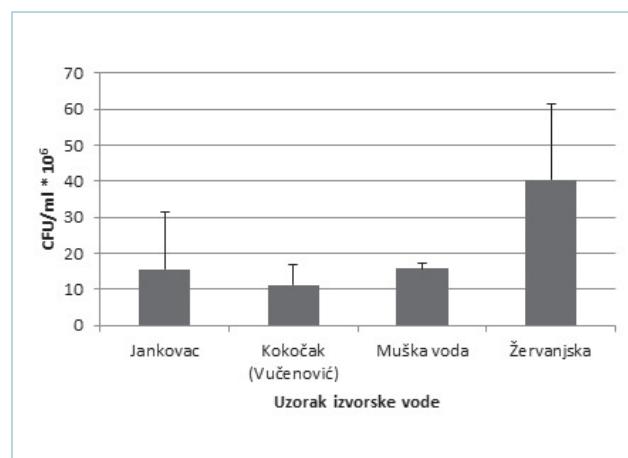


Slika 7: Broj kolonija aerobnih mezofilnih bakterija u uzorcima izvorske vode

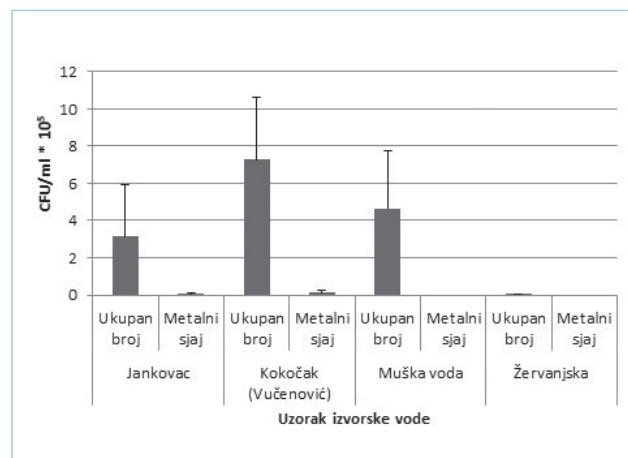
#### 3.1. Mikrokozmosi

Inkubacijom uzorka vode u mikrokozmosima zabilježen je nešto veći porast aerobnih mezofilnih bakterija u odnosu na porast nakon direktnog

nasađivanja uzorka vode na podlogu (slika 8). S druge strane, porast broja ukupnih bakterija na Endoagaru također je zabilježen kao i broj kolonija metalnog sjaja čiji je porast zabilježen na izvorima Jankovac (316,7 CFU/ml) i Kokočak (Vučenović) (1183,3 CFU/ml) (slika 9). Ovakav je rezultat važan jer su u vodi s izvora koliformi bili zabilježeni samo u izvoru Kokočak (Vučenović), ali ne i na izvoru Jankovac. Drugim riječima, koliformi su bili prisutni u vodi s ovoga izvorišta, ali u količini koja je premala da bi ju se detektiralo membranskom filtracijom. Nakon inkubacije u mikrokozmosima taj se broj povećao do razine koju je bilo moguće detektirati. Kako se izvor Jankovac nalazi na često posjećivanom istoimenom izletištu, ovakav rezultat upozorava na potencijalnu prijetnju po zdravlje ljudi. Ipak, treba naglasiti da je opasnost zapravo mala, jer se radi o uzorcima vode iz mikrokozmosa, dok izletnici konzumiraju svježu izvorsku vodu u kojoj koliformi nisu zabilježeni. Usپoredimo li pjesak u mikrokozmosima sa sedimentom, ovakav rezultat možemo objasniti činjenicom da su stope preživljavanja bakterija u supstratu veće nego u stupcu vode (Alm i sur. 2003.;



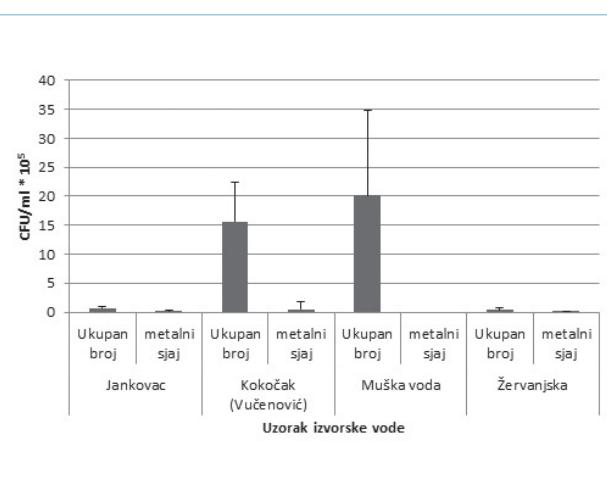
Slika 8: Broj kolonija aerobnih mezofilnih bakterija u uzorcima iz mikrokozmosa



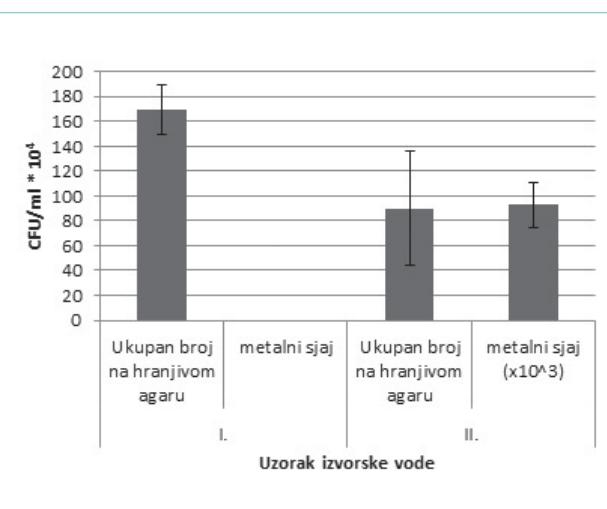
Slika 9: Ukupan broj kolonija i broj koliforma metalnog sjaja na Endoagaru u uzorcima iz mikrokozmosa

Zhang i sur. 2015.). Pijesak je mogao stimulirati razvoj bakterija u mikrokozmosima osiguravajući površinu potrebnu za naseljavanje mikroorganizama na kojoj su se mogli neometano razviti.

Nadalje, dodavanjem koliformnih bakterija u mikrokozmosu pretpostavljen je porast broja aerobnih mezofilnih bakterija, kao i određen porast kolonija metalnoga sjaja na Endoagaru, a u odnosu na broj kolonija nakon tretiranja mikrokozmosa originalnom izvorskom vodom. Analiza dobivenih podataka potvrdila je predviđanje o porastu broja kolonija aerobnih mezofilnih bakterija (slika 10). Tako je na svim izvorima zabilježen određeni porast ukupnog broja kolonija na Endoagaru, dok porast broja kolonija metalnog sjaja nije zabilježen samo u uzorku s izvora Muška voda, unatoč velikom porastu ukupnog broja kolonija na Endoagaru ( $2,02 \times 10^5$  CFU/ml) (slika 11). Ovaj podatak sugerira kako koliformne bakterije ne mogu preživjeti na ovom izvoru. Rezultati ponovljene analize izvora Muška voda koja je uslijedila u mjesecu rujnu, nakon uzgoja u mikrokozmosima, pokazali su manji porast aerobnih mezofilnih bakterija (90 CFU/ml) u odnosu na rezultate analize u veljači ( $170$  CFU/ml) (slika 12). S druge strane, dodani koliformi su perzistirali, što nije bio slučaj u analizi provedenoj u veljači. LeChevallier i McFeters (1985.) istraživali su interakcije između heterotrofnih bakterija i koliforma te navode smanjenje broja ili potpuno odumiranje koliforma ovisno o broju ukupnih heterotrofnih bakterija. U skladu s idejom prehrambenih interakcija navode kompeticiju između heterotrofnih bakterija i koliformnih mikroorganizama za ograničene esencijalne hranjive tvari. Rezultatima su prikazali kako heterotrofne bakterije mogu rasti i pri nižim vrijednostima dostupne hranjive tvari, za razliku od koliforma, što im daje prednost u kompeticiji. Također navode kako neke vrste heterotrofnih bakterija stvaraju letalne interakcije s koliformima, dok druge pak stvaraju subletalne interakcije koje će dovesti



Slika 11: Ukupan broj kolonija i broj koliforma metalnog sjaja na Endoagaru u uzorcima iz mikrokozmosa s dodanim koliformima

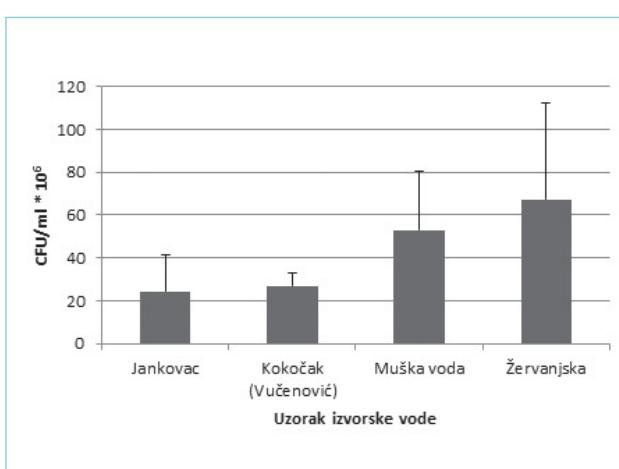


Slika 12: Usporedba analiza vode sa izvora Muška voda provedene u mjesecu veljači (I) i mjesecu rujnu (II) koja pokazuje broj aerobnih mezofilnih bakterija te broj koliforma metalnog sjaja na Endoagaru u uzorcima iz mikrokozmosa s dodanim koliformima

samo do redukcije u njihovom broju. Prethodno navedenom hipotezom kompeticije možemo objasniti nemogućnost preživljavanja koliforma na izvoru Muška voda. Točnije, u prvoj je analizi zabilježen veći broj ukupnih, heterotrofnih bakterija, dok je u drugoj analizi taj porast manji. Shodno s time, u prvoj analizi nije zabilježen porast (perzistencija) koliforma, za razliku od ponovljene analize provedene u mjesecu rujnu u kojoj je perzistencija zabilježena.

### 3.2. Fizikalno – kemijski parametri vode

U ovom je istraživanju također mjerena vrijednost električnog konduktiviteta vode te iz tablice 1 možemo zaključiti kako izvor Muška voda ima značajno nižu vrijednost od ostalih. Električni konduktivitet odražava ukupni stupanj mineralizacije i daje informacije o slanosti. Slanost je faktor koji uzrokuje stres kod



Slika 10: Broj kolonija aerobnih mezofilnih bakterija u uzorcima iz mikrokozmosa s dodanim koliformima

**Tablica 1:** Vrijednosti pH i konduktiviteta vode na pojedinim izvorima

	Jankovac	Kokočak (Vučenović)	Muška voda		Žervanjska
			I. uzorkovanje	II. uzorkovanje	
pH	7,29	6,76	7,49	6,93	7,74
KONDUKTIVITET	528 µS/cm	457 µS/cm	70 µS/cm	95 µS/cm	171 µS/cm

fekalnih bakterija, jer one moraju uspostavljati osmotski balans između vanjske sredine i citoplazme (Salama i sur., 2013.). Niske vrijednosti električnog konduktiviteta znače i nizak salinitet, koji jednako kao i visoki salinitet mogu predstavljati nepovoljne osmotske uvjete za razvoj mikroorganizama. Time bi konduktivitet mogao objasniti nemogućnost perzistencije dodanih koliforma u mikrokozmosima s vodom iz izvora Muška voda u prvom uzorkovanju, ali ne i u ponovljenom uzorkovanju kada je konduktivitet vode bio sličan prvom uzorkovanju, a koliformi su perzistirali. S druge strane, mjerena je i pH vrijednost izvorske vode koja je u svim uzorcima bila približno neutralne vrijednosti (**tablica 1**). Najveća pH vrijednost je zabilježena na izvoru Žervanjska (7,74), a najmanja na izvoru Kokočak (Vučenović) (6,76). Armah (2014.) u svom istraživanju navodi kako pH vrijednost utječe na bakteriološki rast i razvoj. U tom istraživanju povećanjem pH vode za 10 % povećana je detekcija broja ukupnih koliformnih bakterija. Naši rezultati nisu u skladu sa spomenutim istraživanjem, jer smo najveći broj koliforma ustanovili u vodi s najmanjim pH. Također, sve su vrijednosti pH u optimumu za razvoj mikroorganizama, pa je teško donijeti zaključak o utjecaju pH na razvoj mikroorganizama u testiranim uzorcima. Shodno tome, smatramo da su potrebna daljnja istraživanja kako bi mogli utvrditi povezanost preživljavanja koliforma s fizikalno – kemijskim parametrima vode.

#### 4. ZAKLJUČAK

Prema provedenim mikrobiološkim analizama, a prema Pravilniku o parametrima sukladnosti, metodama analize, monitoringu i planovima sigurnosti vode za ljudsku potrošnju te načinu vođenja registra pravnih osoba koje obavljaju djelatnost javne vodoopskrbe (NN/17), voda je prikladna za ljudsku potrošnju na izvorima Jankovac, Muška voda (prilikom oba uzorkovanja) i Žervanjska. Na izvoru Kokočak (Vučenović) ustanovljena je prisutnost koliformnih bakterija kao i prekomjeran broj aerobnih mezofilnih bakterija, što ovaj izvor čini neprihvatljivim za piće. Inkubacija vode u mikrokozmosima rezultirala je povećanjem broja bakterija od više redova veličine u svim testiranim izvorskim vodama. Koliformne bakterije su zabilježene u mikrokozmosima u vodi izvora Kokočak (Vučenović), ali i na izvoru Jankovac, što je neočekivano, jer na tom izvoru koliformi nisu bili prisutni u vodi. Stoga bi dublja analiza prisutnosti koliforma u uzorcima vode mogla obuhvatiti i inkubaciju vode u mikrokozmičkim sustavima. Nadalje, dodani koliformi su u mikrokozmosima povećali broj aerobnih mezofilnih bakterija kao i ukupan broj na Endoagaru. Perzistirali su u mikrokozmosima s vodom iz izvora Jankovac, Kokočak (Vučenović) i Žervanjska, a u ponovljenom uzorkovanju i s vodom iz izvora Muška voda. ■

## LITERATURA

- Alm E. W.; Burke J.; Spain A. (2003.): Fecal indicator bacteria are abundant in wet sand at freshwater beaches. *Water Research* 37, 3978–3982.
- Anderson K. L.; Whitlock J. E.; Harwood V.J. (2005.): Persistence and Differential Survival of Fecal Indicator Bacteria in Subtropical Waters and Sediments. *Applied and Environmental Microbiology* 71, 3041–3048.
- Armah, F. A., (2014) Relationship Between Coliform Bacteria and Water Chemistry in Groundwater Within Gold Mining Environments in Ghana. *Water Qual Expo Health* 5(4): 183–195.
- Cho K.H.; Pachepsky Y.A.; Kim J.H.; Guber A.K.; Shelton D.R.; Rowland R. (2010.): Release of *Escherichia coli* from the bottom sediment in a first-order creek: experiment and reach-specific modeling. *Journal of Hydrology* 391, 322–332.
- Dekić S.; Hrenović J. (2017.): Bakteriološka analiza izvorske vode uz najpoznatija izletišta Parka prirode Medvednica. *Hrvatske vode* 25 (99), 13–16.
- Ellis, R., (2004) Artificial soil microcosms: a tool for studying microbial autecology under controlled conditions. *Journal of Microbiological Methods* 56, 287–290.
- Fass S.; Dincher M. L.; Reasoner D. J.; Gatel D.; Block J. C. (1996.): Fate of *Escherichia coli* experimentally injected in a drinking water distribution pilot system. *Water Research* 30, 2215–2221.
- Kiefer L.A.; Shelton D.R.; Pachepsky Y.; Blaustein R.; Santin-Duran M. (2012.): Persistence of *Escherichia coli* introduced into streambed. *Letters in Applied Microbiology* 55, 345–353.
- LeChevallier M. W.; McFeters G.A. (1985.): Interactions between heterotrophic plate Count Bacteria and Coliform Organisms. *Applied and Environmental Microbiology* 49(5), 1338–1341.
- Matheson F.E. (2008.): Encyclopedia of Ecology, Microcosms, 545–549, National Institute of Water & Atmospheric Research, Hamilton, New Zealand.
- Pravilnik o parametrima sukladnosti, metodama analize, monitoringu i planovima sigurnosti vode za ljudsku potrošnju te načinu vođenja registra pravnih osoba koje obavljaju djelatnost javne vodoopskrbe (NN/17).
- Salama Y.; Chennaoui M.; Mountadar M.; Rihani M. and Assobhei O. (2013.): Evaluation of faecal coliform levels in the discharges from the city of El Jadida, Morocco. *African Journal of Microbiology Research* 8(2), 178–183.
- Schuettelpelz, H. D. (1969.): Fecal and total coliform tests in water quality evaluation. *Department of Natural Resources, Madison, Wisconsin*.
- Zhang Q.; He X. and Yan T. (2015.): Differential Decay of Wastewater Bacteria and Change of Microbial Communities in Beach Sand and Seawater Microcosms. *Environmental Science & Technology* 49, 8531–8540.

## Persistence of coliform bacteria in spring water microcosms

**Abstract.** Mount Papuk is a geologically valuable area of the Republic of Croatia, with numerous natural springs hidden in its forests. In order to determine the quality of selected spring water, we carried out an investigation where we were determining the presence of coliform bacteria as the main indicators of water pollution. Additionally, we examined the survival possibility of deliberately added coliforms into the microcosms with quartz sand in laboratory conditions. After collecting and analysing samples from four selected springs (Jankovac, Kokočak (Vučenović), Muška voda and Žervanjska), the results showed that water from the spring Kokočak (Vučenović) was unsuitable for drinking due to increased total number of microorganisms and coliform bacteria, whereas the other tested springs were shown as suitable for human use. Furthermore, the spring Muška voda proved to be the spring with the highest quality of water, both with respect to tested parameters and survival inability of inoculated coliforms that persisted in the microcosms of the other springs. In order to verify the results, we repeated the investigation of the spring Muška voda. This time, the persistence of inoculated coliforms, including a larger increase in aerobic mesophilic bacteria in microcosmic condition, proved possible.

**Key words:** spring water, bacteria, biofilm, microcosm, Papuk

## Persistenz coliformer Bakterien in Mikrokosmen des Quellwassers

**Zusammenfassung.** In den Wäldern des Berges Papuk, einer geologisch wertvollen Lokalität der Republik Kroatien, befinden sich zahlreiche natürliche Quellen. Mit dem Ziel die Qualität des Quellwassers zu bestimmen, wurde eine Untersuchung durchgeführt, in welcher die Anwesenheit der coliformen Bakterien als Hauptindikatoren für die Wasserverschmutzung bestimmt wurde. Die Überlebensfähigkeit der coliformen Bakterien, die absichtlich in die Mikrokosmen mit Quarzsand zugegebenen wurden, wurde in Laborbedingungen auch untersucht. Nachdem die Proben an vier Quellen (Jankovac, Kokočak (Vučenović), Muška voda und Žervanjska) gesammelt und analysiert wurden, zeigten die Ergebnisse, dass das Quellwasser von Kokočak (Vučenović) eigentlich Nichttrinkwasser ist wegen einer erhöhten Gesamtzahl von Mikroorganismen und coliformen Bakterien, während an allen anderen Quellen das für den menschlichen Genuss geeignete Trinkwasser austritt. An der Quelle Muška voda tritt das Wasser höchster Qualität aus, was auf Grund von untersuchten Parametern festgestellt werden konnte sowie wegen der Tatsache, dass inokulierte coliforme Bakterien hier nicht überlebten und in den Mikrokosmen anderer Quellen persistierten. Zur Verifizierung der Ergebnisse wurde die Untersuchung an der Quelle Muška voda wiederholt. Die Ergebnisse zeigten diesmal die Persistenz der inokulierten coliformen Bakterien sowie eine Erhöhung von aeroben mesophilen Keimen in mikrokosmischen Bedingungen.

**Schlüsselwörter:** Quellwasser, Bakterien, Biofilm, Mikrokosmos, Papuk