**Fizikalno – kemijske i mikrobiološke analize izvorišta općine Cetingrad**

**Physical, chemical and microbiological analyse of water sources in Cetingrad municipality**

**Autori: Katarina Kučinić, Marija Kučinić, Ramiza Munjaković**

**Mentor: Ljiljana Panjević**

**Osnovna škola Cetingrad, Cetingrad**

**Sažetak**

Istraživanje se nadovezuje na prethodno istraživanje fizikalno-kemijskih uvjeta izvorišta općine Cetingrad. Proširili smo istraživanje i napravili smo mikrobiološku analizu izvorišta. Ukupni broj izvora je nepoznat, otprilike ih je 200. Odabrali smo 3 izvora koja su stalna. Velik broj izvora nastaje zbog kiša. Vode vrela slijevaju se niz obronke i čine potoke koji se ulijevaju u potok Grabarska, rijeke Koranu i Glinu. Mnoga domaćinstva u Općini Cetingrad koriste izvorsku vodu za piće i napajanje stoke, a i mnogi učenici naše škole koriste tu vodu za piće. To nas je navelo da se zapitamo kakva je kvaliteta izvorske vode u općini Cetingrad. Postavili smo hipotezu da su vode izvorišta koja smo ispitivali zdravstveno ispravne za piće. Za potrebe našeg projekta određivali smo fizikalno-kemijske i mikrobiološke parametre na svakoj od tri mjerne postaje: Mrzlac, Cijevi, Malo Vrelo. Prvo uzorkovanje i analizu proveli smo 30.11.2015.g., a zadnje uzorkovanje 26.5.2017. Mikrobiološka analiza provedena je u ožujku 2015. i 2016. Ispitivali smo slijedeće parametre prema GLOBE protokolu: prozirnost, temperaturu, pH, otopljeni kisik, nitrati i alkalitet. Izvan GLOBE protokola analizirali smo: bolju, miris, nitrite, ukupnu tvrdoću, amonijak i fosfate. Dokazali smo našu hipotezu da su vode izvorišta ispravne za piće (NN br. 56/13, 64/15, 125/13, 141/13 i 128/15).

**Summary**

Our research has been continuing to our previous research of phisico-chemical conditions of water sources in Cetingrad municipality. We have extended our research and did microbiological analyse of water sources. The total sum of water sources is unknown, but approximately, there are 200 of them. We've chosen 3 sources which are permanent. The great number of them appear because of rain. Water sources flow down the slopes and make streams which flow into the Grabarska stream or the Korana and Glina rivers. Many homes in Cetingrad municipality use spring water for drinking and cattle water supply and also many pupils who attend Primary School Cetingrad use the same water for drinking. That was the reason why we've asked ourselves what's the quality of water sources in Cetingrad municipality. We've set the hypothesis that the water sources we had been tested are healthy for drinking. For the subject to this project, we had determined phisico-chemical and microbiological parameters on every of the three survey stations: Mrzlac, Cijevi, Malo Vrelo. The first sampling and analyse was on 30th November 2015 and the last was on 26th May 2017. The microbiological analyse was carried out in March 2015 and 2016. The following parameters have been tested according to GLOBE protocol; transparency, temperature, pH, melted oxygen, nitrates, alkali metal. Out of GLOBE protocol we have also tested; colour, smell, nitrites, total hardness, ammonia and phosphorus. We have proved our hypothesis that our water sources are uncontaminated and are healthy for drinking (NN no.56/13, 64/15, 125/13, 141/13 and 128/15).

**Istraživačka pitanja/hipoteza**

Cetingrad je općina u Karlovačkoj županiji. Općina je sastavni dio Korduna, a smještena je između rijeke Korane na jugu i rijeke Gline na sjeveru. Između ova dva porječja nalazi se niz gorskih bila, čiji se vrhovi uzdižu od 250 do 450 m nadmorske visine. U ovom području vlada umjereno kontinentalna klima s povoljnom količinom padalina i umjerenim temperaturama. Prevladavaju trijasni vapnenci i dolomiti, prošarani vodenim tokovima. To je zeleni krš. Općina Cetingrad obiluje velikim brojem izvorišta od kojih su samo neki integrirani u vodoopskrbni sustav „Cetingrad“. Područje je slabo pokriveno vodoopskrbnom mrežom. Sustav vodovoda bazira se na izvorištima Krmarevac i Živo Vrelo od kojih se voda preko crpne stanice Grabarska odvodi do vodospreme Glavica.

Broj izvora je jako velik, ali se ne zna točan broj (oko 200). Vode vrela slijevaju se niz obronke i čine potoke koji se ulijevaju u potok Grabarska, rijeke Koranu i Glinu (Pospišil B. 2011. Plan gospodarenja otpadom općine Cetingrad za razdoblje od 2011. do 2019. godine, Institut IGH, d.d. Zavod za planiranje, studije i zaštitu okoliša). Mnoga domaćinstva u Općini Cetingrad koriste vrela za piće i napajanje stoke. Mnogi učenici naše škole koriste tu vodu za piće. To nas je navelo da se zapitamo kakva je kvaliteta izvorske vode u općini Cetingrad. Postavili smo hipotezu da su vode izvorišta koja smo ispitivali zdravstveno ispravna za piće. U traženju odgovora na istraživačko pitanje postavili smo si sljedeće ciljeve:

1. Odrediti fizikalne, kemijske i mikrobiološke parametre vrela: Mrzlac, Cijevi, Malo Vrelo.
2. Procijeniti kvalitetu vode prema vrijednostima iz Pravilnika o zdravstvenoj ispravnosti vode za piće (NN 46/07).

**Metode istraživanja**

U razdoblju od 30.11.2015. do 26.05.2017. provodili smo istraživanje tako da godišnje ostvarimo 4 uzorkovanja i trudili smo se da imamo jedno uzorkovanje u svakom godišnjem dobu. Za potrebe našeg projekta određivali smo fizikalno-kemijske i mikrobiološke parametre na svakoj od tri mjerne postaje: Mrzlac, Cijevi, Malo Vrelo (slika 1) koje obuhvaćaju udaljenost od oko 30 km.



Slika 1. Područje istraživanja s označenim postajama

Figure 1. Research Area with Marked Stations

Odredili smo geografsku dužinu i širinu postaja, te nadmorske visine GPS-om. Metode koje smo koristili prema GLOBE protokolu (Matoničkin Kepčija, 2002) su određivanje temperature vode, pH, otopljeni kisik, nitrati, alkalitet. Izvan GLOBE protokola analizirali smo ukupnu tvrdoću, nitrite, amonijak i fosfate pomoću kitova Macherey-Nagel. Boju, miris i temperaturu određivali smo na mjernim postajama, a ostale parametre analizirali smo u biološko-kemijskom kabinetu u školi. Boju smo određivali vizualno. Miris smo određivali mirisanjem nakon mućkanja. Za određivanje temperature koristili smo alkoholni termometar i provodili smo dva paralelna mjerenja. pH vrijednosti određivali smo indikator papirom. Nitrati i nitriti su analizirani pomoću indikator trake Quantofix. Koncentraciju otopljenog kisika određivali smo prema uputama proizvođača kita za mjerenje otopljenog kisika. Za određivanje kvalitete vode koristili smo Pravilnik o zdrastvenoj ispravnosti vode za piće (NN 47/08).

U suradnji sa Zavodom za javno zdravstvo Karlovačke županije, Službom za zdravstvenu ekologiju, Odsjekom za pitke vode i vodoopskrbu promatrali smo mikrobiološku analizu vode na trima postajama koju nam je demonstrirala djelatnica Zavoda za javno zdravstvo. Uzorke za mikrobiološku analizu uzimali smo u sterilne plastične boce zapremnine 0,5 L i uzorke smo odnijeli u Zavod za javno zdravstvo.

Ispitivanje koliformnih bakterija i vrste *Escherichia coli* se temelji na membranskoj filtraciji određenog volumena uzorka vode kroz membranski filter veličine pora 0,45 µm što je dovoljno da se bakterije zadrže na površini. Koliformne bakterije su primarno nepatogene i normalno obitavaju u donjem probavnom traktu (debelom crijevu) čovjeka i toplokrvnih životinja, gdje su odgovorne za pravilnu probavu hrane. Koliformne bakterije se izlučuju fekalijama te dospijevaju u sanitarne otpadne vode, a preko njih u prirodne vode recipijente otpadnih voda. *Escherichia coli* pripada porodici Enterobacteriaceae, bakterija koja živi u crijevima ljudi i životinja, a u vodama je indikator fekalnog zagađenja.

Brojanje crijevnih enterokoka temelji se također na filtriranom uzorku.Tipične kolonije su uzdignute, crvene, kestenjaste ili ružičaste boje. Enterokoki su gram-pozitivne bakterije, okrugle do jajolike, poredane u lance. Enterokoki su najpodobnija grupa bakterija za vrednovanje higijenske kvalitete vode.

Analiziran je i ukupan broj kolonija aerobnih bakterija, kvasaca i plijesni na specificiranoj podlozi pod zadanim uvjetima. Inokulira se izmjereni volumen uzorka ili njegova razrjeđenja u Petrijevu zdjelicu i miješa sa podlogom. Inkubira se jedna ili set ploča na 36 ± 2°C kroz 44 h, a druga ili set ploča na 22 ± 2°C kroz 68 h. Broj jedinica koje formiraju kolonije po mililitru uzorka izračuna se iz broja kolonija poraslih na podlozi. Izolacija i brojanje *Pseudomonas aeruginosa* temelji se na filtriranom uzorku. Filter se polaže na čvrsti selektivni medij CN agar. *Pseudomonas aeruginosa* je gram-negativna, pokretna, štapićasta bakterija.

**Prikaz i analiza podataka**

Rezultati su grafički prikazani u obliku grafikona za svaki analizirani parametar. Rezultati mikrobiološke analize prikazani su tablično.

Tijekom terenskih izlazaka određivali smo fizikalno-kemijske i organoleptičke pokazatelje:boja, miris, temperatura, pH, otopljeni kisik, nitrati, nitriti, alkalitet, ukupna tvrdoća, amonijak i fosfate. Prikupili smo ukupno 30 uzoraka na 3 lokacije.

U svim uzorcima boja je bezbojna i bez mirisa Vrijednosti temperature vode su se kretale od 10 °C do 12 °C na svim lokacijama (slika 2). Temperatura na svim lokacijama ima manja kolebanja temperature vode, zato što je to podzemna voda. Zaključili smo da nema sezonskih razlika u temperaturi vode.

Slika 2. Vrijednosti temperature vode tijekom istraživanja

Figure 2. Water temperature values during the research period

pH je mjera kiselosti neke otopine. pH vrijednosti kretale su se od 6 do 7.5 u svim izvorima (slika 3). Takvi rezultati ukazuju da su izvorske vode slabo kisele do slabo lužnate. Niža vrijednost pH vode je prirodna kiselost koja nastaje otapanjem ugljičnog dioksida iz zraka u kapljicama kiše.

Slika 3. pH vrijednosti

Figure 3. pH value

Koncentracije otopljenog kisika kretale su se od 10.1 mg/l do 12.3 mg/l u istraživanim izvorima (slika 4). Voda je na svim izvorima dobro zasićena kisikom, a to je i zajednička osobina svih krških izvora, jer je aeracija jače izražena, nego na podzemnim vodama nekrških područja.

Slika 4. Koncentracije otopljenog kisika u istraživanim izvorima

Figure 4. Concentrations of dissolved oxygen in the investigated sources

Alkalitet je sposobnost vode da neutralizira dodanu kiselinu. Alkalitet vode izražava se kao sadržaj CaCO3 mg/l vode. Koncentracija alkaliteta se kretala od 300 mg/l do maksimalno 600 mg/l u izvorima (slika 5). Vrijednosti alkaliteta su više na izvorištu Cijevi, a najniže na izvorištu Malo Vrelo.

Slika 5. Vrijednosti alkaliteta na istraživačkim postajama

Figure 5. Alkalinity values at research stations

Ukupnu tvrdoću čine razni otopljeni ioni metala, uglavnom kalcija i magnezija. Ukupna tvrdoća kretala se od minimalno 250 mg/l do maksimalno 430 mg/l (slika 6). Vrijednosti ukupne tvrdoće više su na izvorištu Cijevi a najniže na izvorištu Malo Vrelo.

Slika 6. Vrijednosti ukupne tvrdoće izvorišta

Figure 6. Values of total hardness of the source

Ni u jednom uzorku nismo pronašli nitrate, nitrite, amonijak niti fosfate.Broj kolonija pri 37˚C kretao se od 9 do 180 mg/l. Broj kolonija pri 22 ˚C kretao se od 15 do 736.U prvoj mikrobiološkoj analizi vode, napravljene 11.03.2015., broj kolonija pri 37 ˚C i 22 ˚C je veći na lokaciji Mrzlac i Malo Vrelo. U drugoj analizi vode najveći broj kolonije je na lokaciji Malo Vrelo. Ukupni koliformi nisu pronađeni ni u jednom uzorku prve analize. U drugoj analizi pronađeno je 5 ukupnih koliforna u 100 ml. U prvoj analizi pronađena je 1 E.Coli u 100 ml na lokaciji Cijevi i 4 Enterokoka u 100 ml na lokaciji Cijevi. P. aeruginosa nije pronađena ni na jednom izvorištu. U drugoj analizi je pronađena 1 E.coli u 100 ml na lokaciji Mrzlac.

Tablica 1:Rezultati mikrobiološke analize vode na lokacijama uzorkovanja tijekom proljeća

Table 1: Microbiological Analyse Of Water

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 11.03.2015. | Mrzlac | Cijevi | Malo vrelo |
| Broj kolonija pri 37°C /1 ml | 180 | 19 | 23 |
| Broj kolonija pri 22°C /1 ml | 300 | 80 | 160 |
| Ukupni koliformni/100 ml | 0 | 0 | 0 |
| *E.coli*/100 ml | 0 | 1 | 0 |
| Enterokoki/100 ml | 0 | 4 | 0 |
| *P. aeruginosa*/100 ml | 0 | 0 | 0 |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 16.03.2016. | Mrzlac | Cijevi | Malo vrelo |
| Broj kolonija pri 37°C /1 ml | 9 | 9 | 82 |
| Broj kolonija pri 22°C /1 ml | 33 | 15 | 736 |
| Ukupni koliformni/100 ml | 5 | 0 | 0 |
| *E.coli*/100 ml | 1 | 0 | 0 |
| Enterokoki/100 ml | 0 | 0 | 0 |
| *P. aeruginosa*/100 ml | 0 | 0 | 0 |

**Rasprava i zaključci**

Nakon uzorkovanja i analiziranja voda na našim mjernim postajama došli smo do zaključaka da je voda u svim uzorcima bezbojna, bez mirisa, prozirna i bistra, što znači da ta voda ima kemijsku i biološku stabilnost.

Temperatura vode kretala se od 10°C do 12°C. Nema velikih temperaturnih razlika jer su to podzemne vode koje karakterizira stalna temperatura. Vrijednosti pH vode kretala se od 6 do 7.5, što znači da su vode slabo kisele do slabo lužnate. Koncentracija otopljenog kisika kretala se od 10.6 do 12.3 mg/l, razlike koncentracije otopljenog kisika su male jer su i temperaturne razlike male. Koncentracija alkaliteta kretala se od 300 mg/l do 600 mg/l. Ukupna tvrdoća kretala se od 250 mg/l do 430 mg/l. Na osnovu toga zaključili smo da su izvorske vode umjereno tvrde do tvrde vode. Ni u jednom od uzoraka nismo pronašli nitrate, nitrite, amonijak ni fosfate. U vodi se amonijak (NH3) ne nalazi slobodan, nego se veže na ugljičnu kiselinu. Amonijak nastaje iz organskih spojeva pod utjecajem enzima te pod aerobnim uvjetima prelazi u nitrite i nitrate. Zaključili smo da voda nije zagađena.

Mikrobiološku analizu vode smo napravili dva puta, 30.11..2015. i 16.03.2016. Zavod za javno zdravstvo nam je 2015. i 2016. omogućio besplatnu analizu pa zbog visoke cijene mikrobiološke analize nismo bili u mogućnosti provesti analizu 2017. godine. Broj kolonija je u prvoj analizi vode veći na lokacijama Mrzlac i Malo Vrelo, a na lokaciji Cijevi je u granicama dozvoljenog (MDK: broj kolonija 37 C je 20/1ml, broj kolonija 22 C je 100/1 ml). U drugoj analizi vode broj kolonija je veći na lokaciji Malo Vrelo. Na ostalim lokacijama vrijednosti su u granicama dozvoljenog. S obzirom da u našim vodama nemamo koliformnih bakterija, u izvorišta ne dospijevaju otpadne vode. U izvorištima nema *Escherichie coli*, što upućuje da je voda ispravna za piće (NN 77/13). Enterokoka nema u vodama, što govori o kvaliteti izvorišta općine Cetingrad (NN 77/13). Ni u jednom uzorku nismo pronašli bakteriju Pseudomonas *aeruginosa* što je pokazatelj da je voda higijenski kvalitetna. (NN 77/13).

Ovim projektom dokazali smo našu hipotezu da su vode izvorišta općine Cetingrad zdravstveno ispravna za piće.

**Literaturni izvori**

* GLOBE hidrološki protokoli
* Pospišil B., 2011. Plan gospodarenja otpadom općine Cetingrad za razdoblje od 2011. do 2019. godine, Institut IGH, d.d. Zavod za planiranje, studije i zaštitu okoliša
* [www.globe.gov](file:///D%3A%5CDokumenti%5CDownloads%5Cwww.globe.gov)
* Matoničkin Kepčija R. 2002., Istraživanje vode, Program GLOBE – Priručnik za mjerenja
* [www.voda.hr](http://www.voda.hr)
* Uredba o standardu kakvoće vode NN 73/13
* <http://e-skola.biol.pmf.unizg.hr>
* <http://hr.wikipedia.org/wiki/Kupa>
* Zakonom o vodi za ljudsku potrošnju NN br. 56/13 i 64/15
* Pravilnik o parametrima sukladnosti i metodama analize vode za ljudsku potrošnju ( NN br. 125/13, 141/13 i 128/15)
* [http://e-skola.biol.pmf.unizg.hr/odgovori/odgovor258.htm](#_top)