

KAKVOĆA VODE ZA KUPANJE ZAGREBAČKIH KUPALIŠTA NA JARUNU I BUNDEKU

Galić, Dominik

Master's thesis / Diplomski rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Rijeka, Faculty of Medicine / Sveučilište u Rijeci, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:184:207190>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-08-10**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the University of Rijeka, Faculty of Medicine - FMRI Repository](#)



SVEUČILIŠTE U RIJECI
MEDICINSKI FAKULTET
DIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ
SANITARNOG INŽENJERSTVA

Dominik Galić

KAKVOĆA VODE ZA KUPANJE ZAGREBAČKIH KUPALIŠTA NA JARUNU I BUNDEKU

Diplomski rad

Rijeka, 2019.

SVEUČILIŠTE U RIJECI
MEDICINSKI FAKULTET
DIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ
SANITARNOG INŽENJERSTVA

Dominik Galić

KAKVOĆA VODE ZA KUPANJE ZAGREBAČKIH KUPALIŠTA NA JARUNU I BUNDEKU

Diplomski rad

Rijeka, 2019.

ZAHVALA

Zahvaljujem se prije svega svojoj mentorici, izv.prof.dr.sc. Dariji Vukić Lušić, dipl.sanit.ing. na velikoj pomoći u vidu uloženog truda, vremena te svih stručnih savjeta koji su usmjeravali pisanje ovoga rada.

Također veliko hvala i Odjelu za zdravstvenu ispravnost i kvalitetu voda NZZIZ dr. Andrija Štampar, na čelu s dr.sc. Sonjom Tolić na ustupljenim rezultatima ispitivanja kakvoće vode na kupalištima Jaruna i Bundecka.

Hvala i Ireni Žilić, mag.oecol. et prot. nat. na pomoći oko praktičnog dijela diplomskog rada, upoznavanju s metodama rada u laboratoriju te ustupljenoj literaturi.

Jednako tako, zahvaljujem se i Odjelu za zdravstvenu ekologiju ureda za zdravstvo Grada Zagreba na podacima o profilima voda za kupanje, kao i Državnom hidrometeorološkom zavodu na ustupljenim podacima o temperaturama zraka i oborina za promatrano razdoblje ispitivanja.

Mentor rada: Izv.prof.dr.sc. Darija Vukić Lušić, dipl.sanit.ing.

Diplomski rad obranjen je dana _____ u/na _____

pred povjerenstvom u sastavu:

1. Doc.dr.sc. Željko Linšak, dipl.sanit.ing.
2. Doc.dr.sc. Dražen Lušić, dipl.sanit.ing.
3. Izv.prof.dr.sc. Darija Vukić Lušić, dipl.sanit.ing.

Rad ima 67 stranica, 33 slike, 8 tablica, 41 literaturni navod.

SAŽETAK:

Iako je kupanje na Jarunu i Bundeku dugogodišnja praksa velikog broja stanovnika grada Zagreba, kod određenog se broja potencijalnih kupaca uoči početka kupališne sezone javlja sumnja u mikrobiološku kvalitetu voda na kupalištima navedenih jezera. U ovome radu uspoređeni su rezultati ispitivanja kvalitete vode na Jarunu i Bundeku obzirom na mikrobiološke parametre *E. coli* i crijevne enterokoke kroz petogodišnje razdoblje. U tom je razdoblju na šesnaest lokacija jezera Jarun analizirano 684 uzoraka, a na tri lokacije jezera Bundek 126 uzoraka. Na kupalištima oba jezera najmanji postotak uzoraka izvrsne kakvoće obzirom na *E. coli* zabilježen je 2014. godine, a iznosio je 87 % (Jarun) i 85 % (Bundek). Promatrajući crijevne enterokoke najmanji broj izvrsnih uzoraka zabilježen je na Jarunu 2017. (85 %) te na Bundeku 2015. godine (83 %). Statističkom analizom podataka utvrđeno je kako se rujna statistički značajno razlikuje od ostalih mjeseci obzirom na oba mikrobiološka parametara i to na oba jezera. Značajna negativna korelacija zabilježena je između temperatura zraka i vode te *E. coli* i crijevnih enterokoka, dok su trodnevne količine oborina pokazale značajnu pozitivnu korelaciju s oba mikrobiološka pokazatelja. Uspoređujući kakvoću kopnenih voda na razini cijele Hrvatske u odnosu na EU, Hrvatska je imala 64 % kupališta izvrsne kakvoće u odnosu na 78 % kupališta izvrsne kakvoće na razini EU, uzevši u obzir prosjek svih godina u razdoblju od 2011. – 2018. Analiza navedenih rezultata pokazala je kako je nužno provoditi sustavo praćenje kakvoće vode u svrhu smanjenja rizika po zdravlje ljudi i radi zaštite vodenog okoliša. Također je neophodna edukacija kupaca i posjetitelja jezera o načinu informiranja o kakvoći vode zagrebačkih jezera, kao i o potencijalno negativnim učincima u slučaju nezadovoljavajuće kakvoće.

Ključne riječi: zagrebačka kupališta, jezero Jarun, jezero Budek, kakvoća vode za kupanje,
Escherichia coli, crijevni enterokoki

SUMMARY:

Although swimming in Lake Jarun and Lake Budek has been a long-standing practice of a large number of residents of the City of Zagreb, a certain number of potential swimmers, before the start of the swimming season, have doubts about the microbiological quality of water at swimming areas of these lakes. This thesis compares the results of water quality testing of Jarun and Budek Lakes with regards to microbiological parameters of *E. coli* and intestinal enterococci over a five-year period. During this period, a total of 684 samples were analyzed at sixteen locations of Lake Jarun and 126 samples at three locations of Lake Budek. In swimming areas of both lakes, the lowest percentage of samples of excellent quality with regards to *E. coli* was recorded in 2014, which was 87 % (Jarun) and 85 % (Budek). Regarding intestinal enterococci, the smallest number of excellent specimens was recorded at Jarun in 2017 (85 %) and at Budek in 2015 (83 %). Statistical analysis of the data shows that September is statistically significantly different from other months with regards to both microbiological parameters, and on both lakes. A significant negative correlation was observed between air and water temperatures and *E. coli* and intestinal enterococci, while 3-day precipitation showed a significant positive correlation with both microbial indicators. Comparing inland water quality assessment across Croatia to the EU, Croatia had 64 % of excellent quality swimming areas compared to 78 % of those at EU level, taking into account the average of all years in the period from 2011 to 2018. The analysis of these results has demonstrated that it is necessary to conduct a systematic monitoring of water quality in order to reduce the risks to human health and to protect the aquatic environment. It is also necessary to educate swimmers and visitors of lakes on how to inform about water quality of the Zagreb lakes, as well as about potentially negative effects in case of poor water quality.

Key words: Zagreb lakesides, lake Jarun, lake Budek, water microbiology, *Escherichia coli*, intestinal enterococci

SADRŽAJ:

1	UVOD	1
1.1	Zagrebačka jezera kroz povijest	1
1.2	Zagrebačka jezera danas	1
1.3	Pokazatelji kakvoće vode za kupanje	2
1.3.1	Mikrobiološko onečišćenje voda	2
1.3.2	Indikatorski mikroorganizmi	3
1.3.2.1	<i>Escherichia coli</i>	5
1.3.2.2	Crijevni enterokoki	5
1.4	Zakonska regulativa	6
1.4.1	Uredba o kakvoći voda za kupanje (NN 51/14)	6
1.4.1.1	Monitoring	7
1.4.1.2	Ocjenjivanje i klasifikacija voda za kupanje	7
1.4.1.3	Profili voda za kupanje	8
1.4.1.4	Informiranje javnosti	10
2	CIJ I STRAŽIVANJA	11
3	MATERIJALI I METODE	12
3.1	Opis promatranih lokacija	12
3.1.1	Jarun	12
3.1.2	Bundek	14
3.2	Uzorkovanje	15
3.3	Mikrobiološka analiza	18
3.3.1	Određivanje E.coli MPN metodom (HRN EN ISO 9308-3)	18
3.3.1.1	Princip metode	19
3.3.1.2	Oprema i materijali	19
3.3.1.3	Postupak	20
3.3.1.4	Iskazivanje rezultata	21
3.3.2	Određivanje crijevnih enterokoka metodom membranske filtracije (HRN ISO 7899-2)	24
3.3.2.1	Princip metode	24
3.3.2.2	Oprema i materijali	25
3.3.2.3	Postupak	25
3.3.2.4	Iskazivanje rezultata	28
3.4	Statistička analiza rezultata	28
3.4.1	Mann - Whitney U test	29
3.4.2	Kruskal – Wallis H test	30
3.4.3	Spearmanov koeficijent korelacije (ρ)	31
3.4.4	Percentili	32
3.4.5	Hidrometrološki podaci	33
4	REZULTATI	34
4.1.1	Jarun – <i>Escherichia coli</i>	34
4.1.1.1	Usporedba po godinama	35
4.1.1.2	Usporedba po mjesecima (svibanj – listopad)	35
4.1.2	Jarun – crijevni enterokoki	36
4.1.2.1	Usporedba po godinama	37

4.1.2.2	Usporedba po mjesecima	38
4.1.3	Jarun- vrijednosti percentila.....	38
4.1.4	Bundek – <i>Escherichia coli</i>	39
4.1.4.1	Usporedba po godinama	40
4.1.4.2	Usporedba po mjesecima	41
4.1.5	Bundek – crijevni enterokoki.....	42
4.1.5.1	Usporedba po godinama	43
4.1.5.2	Usporedba po mjesecima	43
4.1.6	Bundek – vrijednosti percentila.....	44
4.2	Korelacija ispitanih pokazatelja	45
4.3	Jarun vs Bundek	46
4.4	Kopnena kupališta na razini RH i EU	48
4.4.1	Broj lokacija	48
4.4.2	Kakvoća vode.....	49
4.4.3	RH vs EU.....	51
5	RASPRAVA	53
6	ZAKLJUČAK	61
7	LITERATURA	63

1 UVOD

1.1 Zagrebačka jezera kroz povijest

Stanovnicima Zagreba zasigurno je poznata činjenica kako je jezero Jarun, popularno „zagrebačko more“ svoj današnji oblik počelo poprimati sedamdesetih godina prošloga stoljeća uslijed odabira grada Zagreba za domaćina Univerzijade 1987. godine. Međutim, zanimljiva je, ali vjerojatno i manje poznata povijest nastanka samog jezera. Naime, do 60-ih godina prošloga stoljeća Jarun je još bio jedan od rukavaca rijeke Save, čije je istoimeno naselje, kao i brojna naselja uz rijeku Savu bilo poplavljeno uslijed svakog njenog izlivanja. Tek nakon 1964. godine i najveće poplave u povijesti grada, pristupilo se izgradnji savskog nasipa, čime je područje današnjeg jezera i fizičko odvojeno od rijeke Save. Kako su se u to vrijeme iz Jaruna vadile velike količine šljunka za potrebe izgradnje nasipa, tadašnja šljunčara se s vremenom produbila, uslijed čega je nastalo današnje jezero [1].

Jezero Bundek, nekoć je bilo prvo i najpopularnije zagrebačko kupalište. Izvori o povijesti ovoga jezera govore kako je nastao 1955.godine iskapanjem i vađenjem šljunka za potrebe izgradnje Zagrebačkog velesajma, a iskopavanje se nastavilo sve do 1960. godine za potrebe izgradnje Mosta slobode. Budući da se kopalo ispod razine podzemnih voda, nastalo je jezero dugačko približno 500 metara te najveće širine oko 200 metara [2]. Uslijed neodgovarajućih sanitarnih uvjeta, Sanitarna inspekcija grada Zagreba sredinom 80-ih godina zatvorila je kupalište, a obnovljeno je i ponovno otvoreno za kupanje 2006.godine. Prema dostupnim izvorima, naziv duguje Josipu Bundeku, prvom utopljeniku na jezeru, tadašnjoj šljunčari [3].

1.2 Zagrebačka jezera danas

Jezero Jarun danas je sastavni dio istoimenog zagrebačkog naselja smještenog u blizini toka rijeke Save, administrativno pripadajući gradskoj četvrti Trešnjevka-jug. Jezero se

nalazi u sklopu sportsko-rekreacijskog centra Jarun koji se prostire na 240 hektara, od čega 30% otpada na vodene površine. Sastoji se od dva jezera – Veliko i Malo te šest otoka – Otok Univerzijade, Otok Trešnjevka, Otok Veslača, Otok Hrvatske mladeži, Otok Divljine i Otok Ljubavi. Jezero Jarun kupalištem je službeno proglašeno 1988. godine te od tada kupačima na raspolaganju stoji pet šljunčanih plaža ukupne dužine oko 2500 metara [4]. Jezero se prirodnim putem napaja podzemnom vodom, prolazeći kroz šljunčane nanose što joj omogućuje prirodno pročišćavanje. Srednja dubina jezera je oko 4 metra, srednja godišnja temperatura iznosi 14°C, a srednja ljetna približno 24°C. Kakvoća vode redovito se ispituje i to na Velikom i Malom jezeru te Otoku Veslača, Otoku Univerzijade i Otoku Trešnjevka.

Obnovom i revitalizacijom 2006. godine, Bundek je, uz Jarun postao omiljeno kupalište i šetalište prvenstveno lokalnog stanovništva, ali i stanovnika šireg gradskog područja. Istoimeni sportsko-rekreacijski centar čine Veliko (istočno) i Malo (zapadno) jezero. Veliko jezero zauzima površinu od otprilike 10 hektara te je uređeno kao kupalište, dok s druge strane Malo jezero predstavlja prirodno stanište brojnih životinjskih i biljnih vrsta.

1.3 Pokazatelji kakvoće vode za kupanje

1.3.1 Mikrobiološko onečišćenje voda

Mikrobiologija vode definirana je kao dio sanitarne mikrobiologije koja se bavi ispitivanjem mikroorganizama u vodi, zraku te ostalim dijelovima čovjekove životne sredine. Kao takva ima važnu ulogu u sprječavanju raznih zaraznih bolesti i očuvanju čovjekova zdravlja. U ovom radu naglasak će biti na ispitivanju glavnih mikrobioloških pokazatelja upravo u vodama na kupalištima Jaruna i Bundeka.

Mikroorganizmi prisutni u vodi uobičajeno se dijele u dvije osnovne grupe – mikroorganizmi kojima je voda prirodno stanište (saprofiti) te mikroorganizmi koji su u vodu

dospjeli sekundarnim putem, primjerice iz zemlje, kanalizacije ili septičkih jama [5]. Njihov razvoj u vodi ovisi o velikom broju fizikalnih i kemijskih čimbenika koji značajno utječu na sastav mikroorganizama, kao i na njihovu pojavu i životne procese u vodenom mediju. Unutar vodenih ekosustava, dvije su glavne skupine tih faktora – biotički i abiotički. U abiotičke ubrajamo utjecaje nežive prirode poput svjetlosti, temperature, vlage, oborina, strujanja zraka, strujanja vode, protoka vode te kemijske i fizičke osobine tla, kao i reljefne karakteristike. S druge strane, biotički faktori se odnose na sve organizme koji žive u vodi, poput biljaka, životinja i mikroorganizama te na njihove međusobne odnose.

Mikrobiološko onečišćenje vode podrazumijeva prisustvo bakterija, virusa, protozoa i drugih mikroorganizama. Većina mikroorganizama prisutnih u vodi ne predstavlja opasnost za ljudsko zdravlje, a oni koji uzrokuju bolest kod čovjeka nazivamo patogenim mikroorganizmima. U kontekstu mikrobiologije voda, najveća opasnost i rizik po ljudsko zdravlje dolazi od vode kontaminirane ljudskim i životinjskim fecesom, iz razloga što je takva voda izvor mikroorganizama patogenih za ljude. Prema podacima Svjetske zdravstvene organizacije, svake godine više od tri milijuna ljudi umire zbog bolesti povezanih s vodom uzrokovanih mikroorganizmima koji u izvore vode dopijevaju putem neobrađenih otpadnih voda, odnosno od fekalnog zagađenja vode [6].

1.3.2 Indikatorski mikroorganizmi

Mnoge patogene bakterije prisutne su u površinskim vodama u vrlo niskim koncentracijama u odnosu na ostale mikroorganizme, što njihovu detekciju čini znatno otežanom. Naime, upravo zbog njihove karakteristike pojavljivanja u niskim koncentracijama, njihovo rutinsko određivanje smatra se nepraktičnim, skupim, ali i zbog nedostataka specifičnih metoda za određivanje, gotovo nemogućim. Iz tog razloga, u praksu je uvedeno određivanje indikatorskih bakterija čije prisustvo ukazuje na svježe fekalno

zagađenje vode, što za posljedicu može imati kontaminaciju patogenim bakterijama. Drugim riječima, ukoliko se u vodi dokaže prisutnost indikatorskih bakterija, nema sumnje da se dogodila fekalna kontaminacija i iz tog razloga velika je vjerojatnost da su u toj vodi prisutne i patogene bakterije. Važno je naglasiti kako detekcija indikatorskih bakterija u vodi ne znači nužno i prisustvo patogena, već indikatorske bakterije služe kao parametar za njihovu vjerojatnu prisutnost u vodama.

Bakterije koje se koriste kao indikatorski organizmi trebaju biti stalno prisutne u ljudskom i životinjskom probavnom traktu, što omogućuje detekciju zagađenja vode fekalnom tvari. Nadalje, potrebno je da je broj indikatorskih bakterija unutar probavnog trakta visok, da među njima postoje bakterije koje ne stvaraju spore jer to omogućuje detekciju fekalnog zagađenja, njihova identifikacija mora biti laka i dostupna, životni vijek u vanjskom okolišu duži od patogenih bakterija i zaključno, ne smiju biti sposobne razmnožavati se u vodenom okolišu u prirodnim uvjetima [7].

Koliformne bakterije predstavljaju skupinu primarno nepatogenih bakterija koje normalno obitavaju u donjem intestinalnom traktu ljudi i toplokrvnih životinje, gdje su odgovorne za pravilnu probavu hrane [8]. Sam termin „koliformne bakterije“ nije reguliran zakonskim aktima niti postoji u klasifikaciji bakterija, međutim radi se o Gram-negativnim, nesporulirajućim, oksidaza negativnim i laktoza pozitivnim štapićastim bakterijama, sposobnima rasti u aerobnim i fakultativno anaerobnim uvjetima.

Trenutno se najtočnijim i najspecifičnijim skupinama indikatorskih bakterija smatraju koliformne bakterije i crijevni enterokoki. Vode u kojima su detektirane visoke koncentracije ovih bakterije, u riziku su i od prisutnosti patogena, što za posljedicu može imati negativne učinke na ljudsko zdravlje [9]. Upravo se navedene vrste bakterija određuju i

na kupalištima Jaruna i Bundeke, kao parametri na temelju kojih se ocjenjuje kakvoća voda za kupanje na navedenim lokacijama.

1.3.2.1 *Escherichia coli*

Escherichia coli najčešća je i najznačajnija bakterija od nekoliko vrsta bakterija koliko ih sadrži rod *Escherichia*. Radi se o štapičastoj, gram–negativnoj, pokretnoj bakteriji sposobnoj rasti u aerobnim i fakultativno anaerobnim uvjetima [10]. Prirodni je stanovnik gastrointestinalnog trakta ljudi i toplokrvnih životinja gdje sudjeluje u probavi hrane. Postoji velik broj sojeva *E. coli* i iako je većina od njih, obzirom da normalno obitava u crijevima zdravih ljudi i životinja bezopasna, ipak postoje određeni sojevi koji mogu uzrokovati mokraćne i crijevne infekcije, ali i dovesti do težih oblika bolesti. U kontekstu mikrobiologije voda, *E. coli* predstavnik je fekalnih koliformnih bakterija, čije je prisustvo u vodi pokazatelj svježeg, odnosno nedavnog fekalnog zagađenja. Smatra se kako 70-90 % koliformnih bakterija čini upravo *E. coli*, koja je samim time i najbrojnija vrsta u fecesu sisavaca, a ujedno predstavlja i najspecifičnijeg indikatora fekalnog zagađenja. Putem kiša, otapanja snijega ili drugih vrsta padalina, može dospjeti u potoke, rijeke, jezera ili podzemne vode i tako utjecati na kvalitetu i zdravstvenu ispravnost navedenih vodenih površina. Jednako tako, ukoliko se navedene vode koriste kao izvori pitke vode, a voda se ne pročišćava ili se neadekvatno pročišćava i dezinficira, moguća je prisutnost *E. coli* i u vodi za piće.

1.3.2.2 Crijevni enterokoki

Crijevni enterokoki manja su podskupina grupe bakterija pod nazivom fekalni streptokoki [11]. Jednako kao i *E. coli*, u laboratorijskoj se praksi koriste kao indikatori fekalnog zagađenja, a u tom kontekstu upravo se enterokoki i preporučaju kao alternativa za koliforme. U crijevne enterokoke ubrajaju se vrste roda *Enterococcus* kao što su *E.faecalis*, *E.faecium*, *E.avium*, *E.bovis*, *E.equinus*. Prema karakteristikama, enterokoki su gram-

pozitivne, okrugle ili ovalne bakterije, složene u paru ili lancu, različite duljine. Fakultativni su anaerobi, nepokretni su i ne stvaraju spore. Također su prirodno prisutni u gastrointestinalnom traktu ljudi i životinja te njihov nalaz sam po sebi ne predstavlja zdravstveni rizik, već služi isključivo kao indikator fekalnog zagađenja. U vodu dospijevaju ispuštanjem otpadnih voda, iz sustava septičkih jama, otjecanjem otpadnih voda, primjenom gnojiva ili iz kanalizacijskih sustava. Broj ove grupe bakterija za red veličine je manje nego *E. coli* u fecesu, a glavna prednost enterokoka je duže preživljavanje u okolišu te veća otpornost na sušenje i kloriranje u odnosu na *E. coli*.

1.4 Zakonska regulativa

1.4.1 Uredba o kakvoći voda za kupanje (NN 51/14)

Uredbom o kakvoći voda za kupanje propisuje se monitoring, klasifikacija i upravljanje vodama za kupanje na površinskim vodama, kao i informiranje javnosti o kakvoći istih, a sve s primarnim ciljem zaštite i očuvanja ljudskog zdravlja, ali i u svrhu poboljšanja i zaštite kvalitete okoliša. Odredbe navedene Uredbe odnose se na monitoring kakvoće voda za kupanje na površinskim vodama na kojima se očekuje velik broj kupača, a za koje nije izdana trajna zabrana kupanja niti trajna preporuka da se kupanje izbjegava [12].

Mjere upravljanja kakvoćom voda za kupanje u okviru Uredbe podrazumijevaju uspostavljanje i održavanje profila vode za kupanje, klasifikaciju voda za kupanje, uspostavljanje kalendara monitoringa, provedbu monitoringa vode za kupanje te ocjenjivanje kakvoće voda za kupanje. Mjere nadalje uključuju i određivanje i procjenjivanje uzroka onečišćenja koji bi mogli utjecati na vodu za kupanje i narušiti zdravlje kupača, poduzimanje radnji kako bi se smanjio rizik od onečišćenja i izlaganja kupača onečišćenju te informiranje javnosti.

1.4.1.1 Monitoring

Prije početka svake sezone kupanja, grad Zagreb donosi Odluku kojom se utvrđuju lokacije za kupanje na jezerima Jarun i Bundek na kojima će se provoditi monitoring, navodeći i razlog ukoliko je eventualno došlo do promjene određenih lokacija u odnosu na prethodnu sezonu. Nadalje, utvrđuje se trajanje sezone kupanja, određuju se profili vode za kupanje, izrađuju kartografski prikazi te se prikazuje ocjena o kakvoći voda za kupanje za prethodnu sezonu.

Provedbu monitoringa kakvoće vode za kupanje na jezerima Jarun i Bundek obavlja ovlaštenu laboratorij, koji je prije početka svake sezone kupanja dužan izraditi i dostaviti Hrvatskim vodama i gradu Zagrebu kalendar monitoringa kakvoće vode za kupanje.

Samo uzorkovanje i analiza za potrebe monitoringa moraju započeti najkasnije u roku od četiri dana od dana utvrđenog u kalendaru monitoringa, a rezultate samih analiza ovlaštenu je laboratorij također dužan dostaviti Hrvatskim vodama i gradu Zagrebu u roku od sedam dana od završetka analize.

1.4.1.2 Ocjenjivanje i klasifikacija voda za kupanje

Ocjena kakvoće vode za kupanje na kupalištima Jaruna i Bundeke provodi se za svaku vodu za kupanje, odnosno za svaki uzorak uzet tijekom kupališne sezone te se po završetku analize rezultati razvrstavaju u kategoriju izvrsne ili dobre kakvoće u skladu sa standardima za ocjenu kakvoće voda nakon svakog ispitivanja (Tablica 1). Jednako tako, ocjena se provodi i po završetku kupališne sezone i to temeljem skupa podataka o kakvoći vode za kupanje prikupljenih za tu sezonu kupanja, a rezultati se razvrstavaju u kategorije izvrsne, dobre, zadovoljavajuće ili nezadovoljavajuće kakvoće u skladu s utvrđenim

standardima za ocjenu kakvoće voda na kraju sezone kupanja i za prethodne tri sezone kupanja (Tablica 2).

Tablica 1. Standardi za ocjenu kakvoće voda nakon svakog ispitivanja

Pokazatelj	Kakvoća	
	Izvrсна	Dobra
Crijevni enterokoki (bik/100ml)	≤ 200	≤ 400
<i>Escherichia coli</i> (bik/100ml)	≤ 500	≤ 1000

Tablica 2. Standardi za ocjenu kakvoće voda na kraju sezone kupanja i za prethodne tri sezone kupanja

Pokazatelj	Kakvoća			
	Izvrсна	Dobra	Zadovoljavajuća	Nezadovoljavajuća
Crijevni enterokoki (bik/100ml)	≤ 200*	≤ 400*	≤ 330**	> 330**
<i>Escherichia coli</i> (bik/100ml)	≤ 500*	≤ 1000*	≤ 900**	> 900**

(*) Temeljeno na vrijednosti 95-og percentila

(**) Temeljeno na vrijednosti 90-og percentila

1.4.1.3 Profili voda za kupanje

Svrha izrade profila voda za kupanje jest prikaz na jednome mjestu svih relevantnih podataka vezanih uz karakteristike same vode za koju se profil izrađuje, zatim prikaz informacija o potencijalnom onečišćenju u blizini vode, kao i mjera upravljanja u

slučaju eventualnog onečišćenja. Točnije, profil vode za kupanje mora sadržavati opis fizikalnih, hidroloških, hidromorfoloških i geografskih karakteristika voda za kupanje te procjenu izvora onečišćenja koji mogu utjecati na vodu za kupanje, ali i na zdravlje kupaca. Također treba sadržavati i procjenu mogućnosti proliferacije cijanobakterija, lokaciju točke monitoringa te ocjenu kakvoće vode za kupanje. Ukoliko se procjenom dokaže da postoji opasnost od kratkotrajnog onečišćenja, profil mora sadržavati i narav, učestalost i očekivano trajanje onečišćenja, detalje o ostalim uzrocima onečišćenja, kao i poduzete mjere upravljanja i vremenski plan za njihovo uklanjanje. Slika 1 prikazuje Obrazac profila vode za kupanje sa svim podacima koje isti mora sadržavati.

Naziv plaže:.....	
Lokacija:.....	
Točke uzorkovanja:.....	0
Geografske koordinate točke uzorkovanja (° ' ") λ (° ' ") odnosno xy	
Prirodna plaža: da ne	
Uređena plaža: da ne	
Tip plaže: s vegetacijom šljunčana stjenovita pješčana	
Prosječna temperatura vode(za vrijeme sezone):.....	
Klasificiranje vode na plaži: zadovoljavajuće dobro izvrsno nezadovoljavajuće	
Prisutstvo cijanobakterija: ne da (Tip:.....Količina.....)	
Potencijalni izvori onečišćenja: otpadne vode drugi izvori	
Procjena stupnja rizika onečišćenja: vrlo visok visok umjeren nizak vrlo nizak	
Specifikacija tipa nečistoće.....	
Vidljivo onečišćenje plaže: da ne	
Učestalost i trajanje očekivanog onečišćenja	
Postoji li na plaži sustav informiranja o kakvoći plaže? da ne	
Postoje li metode upozoravanja u slučaju opasnosti na plaži? da ne	
Pravna ili fizička osoba koja upravlja plažom ili jedinica lokalne samouprave:	
Kontakt-osoba u slučaju iznenadnog onečišćenja:	
Telefon:.....Mobilni tel.....Faks.....e-mail.....	
Adresa:.....	
Laboratorij u kojem se obavlja analiza:.....	
Vidljivo onečišćenje: navesti vrstu i razmjer;	
Mikrobiološki parametri: crijevni enterokoki (CE) i Escherichia coli (E.coli)	

Slika 1. Obrazac profila vode za kupanje (Obrazac PVK)

1.4.1.4 Informiranje javnosti

Jedinica lokalne samouprave dužna je svim građanima omogućiti pravodobnu i lako dostupnu informaciju vezanu uz stanje voda za kupanje tijekom kupališne sezone. Informacije javnosti moraju biti dostupne na pristupačnom mjestu u neposrednoj blizini svake vode za kupanje, a odnose se prije svega na općeniti opis voda za kupanje, temeljen na profilima voda za kupanje te na trenutnu klasifikaciju voda za kupanje, kao i na svaku zabranu kupanja ili preporuku nekupanja, uz obavezno navođenje razloga zbog kojih su donesene zabrane ili preporuke. U slučaju da je voda za kupanje izložena kratkotrajnom onečišćenju, osim same obavijesti, javnost mora biti informirana i o broju dana tijekom kojih je kupanje zabranjeno ili se ne preporuča, kao i o upozorenju kada se takvo onečišćenje predviđa ili je prisutno. Osim navedenog, informiranje javnosti uključuje i prirodu i očekivano trajanje izvanrednih situacija i iznimnih okolnosti, kao i obavijest da određeno područje više nije voda za kupanje ukoliko je uvedena trajna zabrana kupanja ili trajna preporuka nekupanja.

2 CILJ ISTRAŽIVANJA

Cilj ovog rada bio je usporediti mikrobiološku kakvoću vode za kupanje na zagrebačkim jezerima Jarunu i Bundeku. U tu svrhu promatrane su vrijednosti *E. coli* i crijevnih enterokoka u petogodišnjem razdoblju ispitivanja, od 2014. do 2018. godine. Navedeni su mikrobiološki pokazatelji u spomenutom razdoblju praćeni po godinama, po mjesecima te po lokacijama unutar samih jezera.

Nadalje, cilj rada bio je i utvrditi koji sve prirodni, ali i antropogeni faktori mogu imati utjecaj na koncentracije ranije navedenih bakterija u vodi za kupanje na zagrebačkim jezerima.

Jednako tako, u radu je analizirana i povezanost određenih hidroloških i meteoroloških pokazatelja s s vrijednostima mikrobioloških pokazatelja *E. coli* i crijevnih enterokoka.

3 MATERIJALI I METODE

3.1 Opis promatranih lokacija

Kakvoća vode za kupanje na kupalištima Jaruna i Bundeka u razdoblju od 2014. do 2018. praćena je na ukupno 19 lokacija. Od ukupnog broja, njih 16 odnosi se na lokacije uzorkovanja na Jarunu, dok su ostale 3 lokacije vezane za jezero Bundek. Konkretno, kakvoća vode na Jarunu praćena je na ukupno 5 plaža, a to su Veliko jezero, Malo jezero, Otok veslača, Otok Univerzijade te Otok Trešnjevka. S druge strane, na Bundeku se voda za kupanje pratila isključivo na Velikom jezeru, ali na tri mjesta - njegovoj istočnoj, zapadnoj i južnoj obali. Na koliko se ukupno lokacija provodi uzorkovanje na svakoj pojedinoj plaži oba jezera prikazano je u tablici 3.

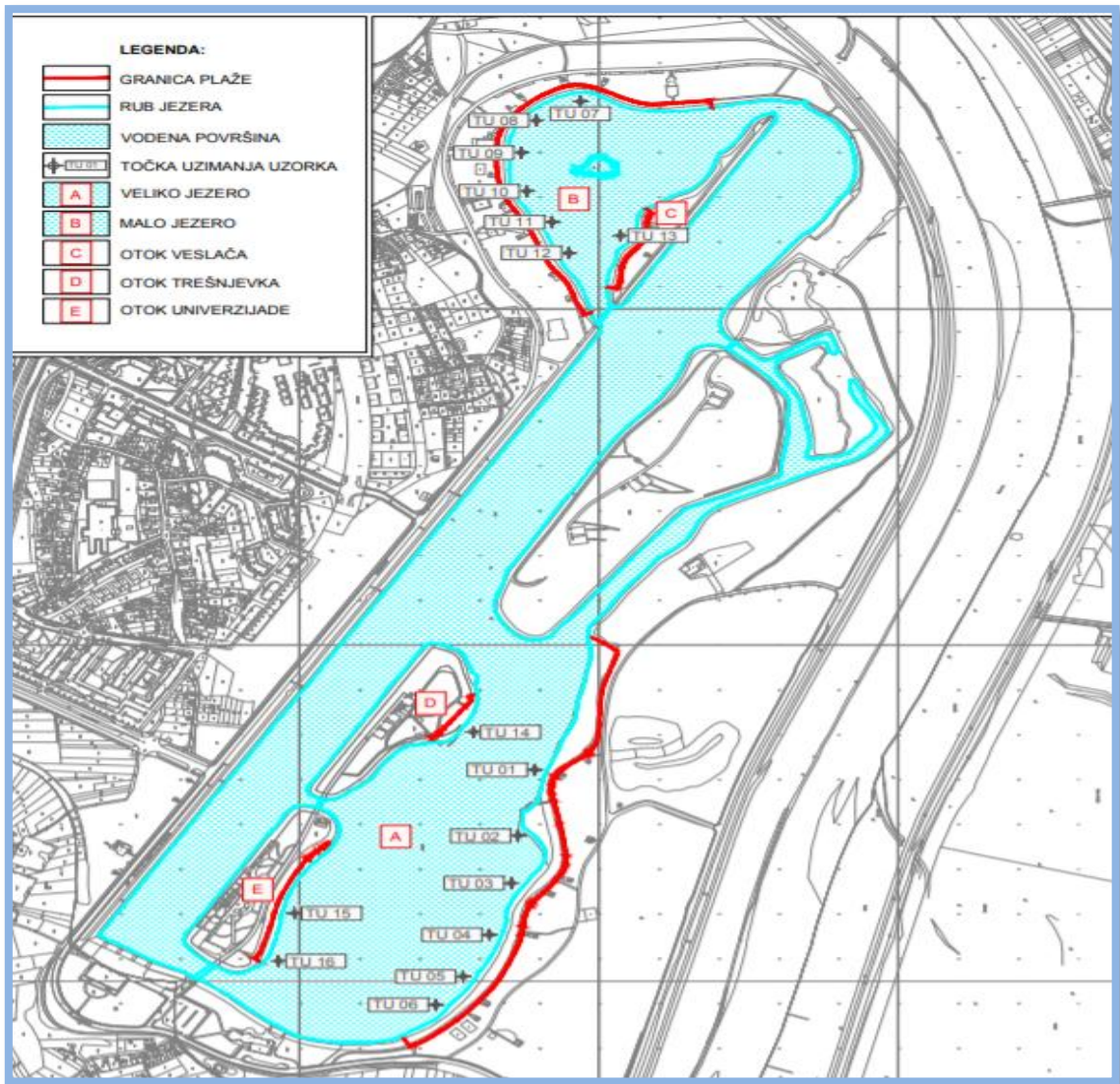
Tablica 3. Lokacije i njihov broj na kojima se provodi uzorkovanje vode za kupanje

		<i>Broj lokacija</i>	<i>Ukupno</i>
Jarun	Veliko jezero	6	16
	Malo jezero	6	
	Otok veslača	1	
	Otok Trešnjevka	1	
	Otok Univerzijade	2	
Bundek	Veliko jezero – istočna obala	1	3
	Veliko jezero – zapadna obala	1	
	Veliko jezero – južna obala	1	

3.1.1 Jarun

Jarunsko Veliko jezero najveća je, a ujedno i najposjećenija plaža tijekom kupališne sezone, što potvrđuje i podatak kako se na ovoj plaži tijekom sezone u prosjeku kupa 800

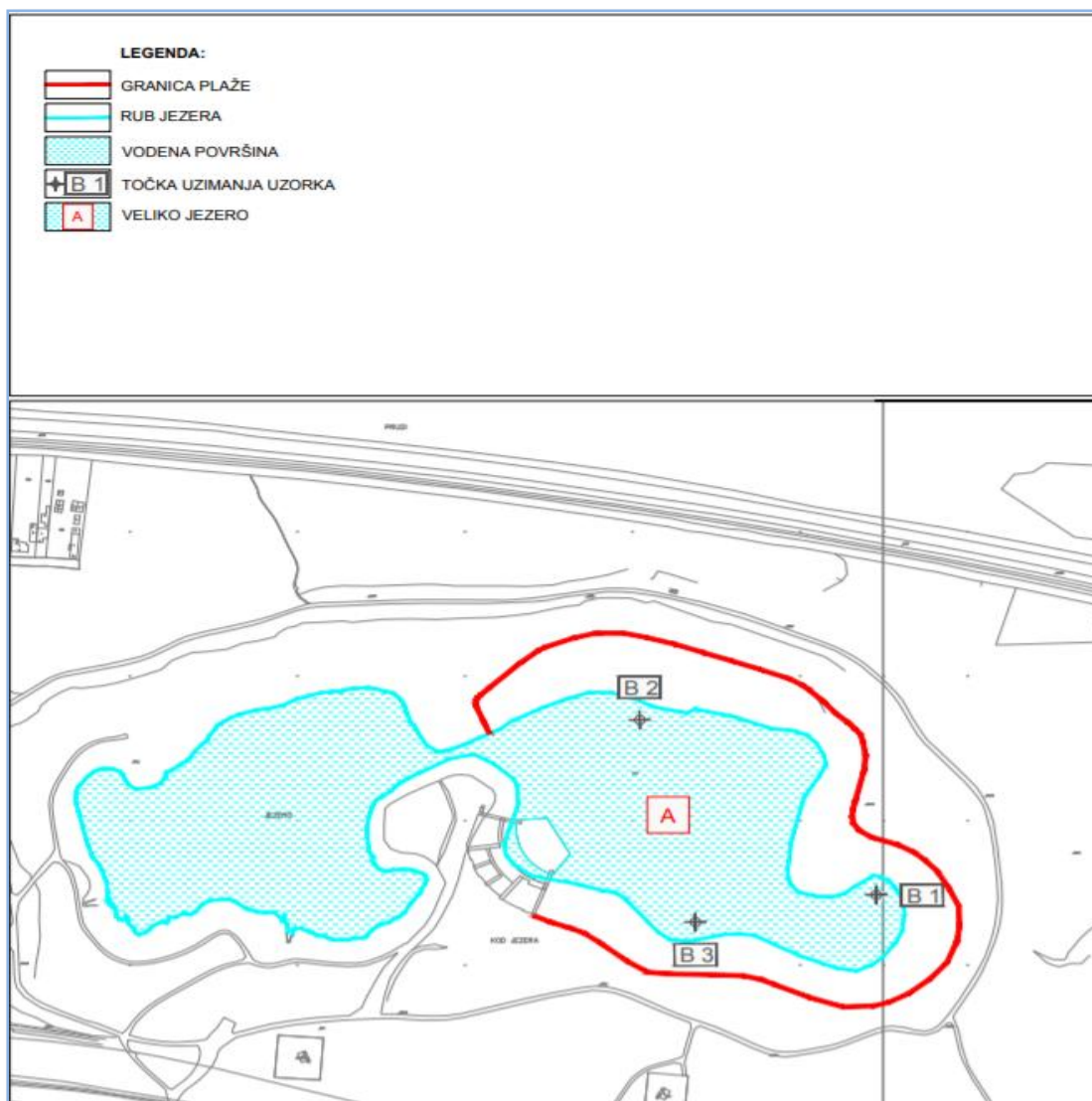
ljudi, dok se smatra kako je maksimalan dnevni broj kupača na ovoj plaži 8000. Obzirom na njegovu površinu, na Velikom jezeru se uzorkovanje vode provodi na šest lokacija. Sljedeća po veličini plaža na Jarunu jest Malo jezero, koje prosječno tijekom sezone dnevno posjeti 600 kupača, dok njihov maksimalni dnevni broj iznosi 6000. Na Malom jezeru voda se također uzorkuje na šest lokacija. Osim navedenih jezera, na Jarunu se za kupanje koriste i tri otoka – Otok Univerzijade, Otok Veslača i Otok Trešnjevka, na kojima prosječni dnevni broj kupača iznosi 100, a maksimalan dnevni broj 500. Sve su navedene plaže prirodne i uređene, a sadrže podlogu od pranog granuliranog šljunka. Jednako tako, na svakoj plaži postoji sustav informiranja o kakvoći vode za kupanje, kao i metode upozorenja u slučaju opasnosti. Na slici 2 prikazane su sve lokacije na kojima se na jezeru provodi uzorkovanje vode za kupanje.



Slika 2. Kartografski prikaz plaža jezera Jarun

3.1.2 Bundeck

Na jezeru Bundeck za kupanje se koristi isključivo Veliko jezero, a voda uzorkuje na tri lokacije: istočna, zapadna i južna obala jezera (Slika 3). Obzirom da je za većinu kupača jezero Jarun prvi izbor zagrebačke kupališne destinacije, prosječan dnevni broj kupača na Bundecku znatno je manji od onoga na Jarunu te se prema podacima kreće oko 100 kupača dnevno, dok je maksimalan dnevni broj kupača 500.



Slika 3. Kartografski prikaz jezera Bundek

3.2 Uzorkovanje

Uzorkovanje vode predstavlja postupak prikupljanja određene količine vode u svrhu provedbe laboratorijskog ispitivanja. Uzorci trebaju što potpunije prikazivati sastav vode koja se analizira i zato treba poznavati i poduzeti sve mjere kako bi se osiguralo da prilikom uzorkovanja, ali i između uzorkovanja i analize ne dođe do promjena u sastavu uzorka.

Uzorkovanje i analiza uzoraka vode za kupanje na jezerima Jarun i Bundeck provedeno je prema Uredbi o kakvoći voda za kupanje (NN 51/14), kojom su definirani pokazatelji, metode i dinamika uzorkovanja.

Uzorci za mikrobiološku analizu voda na kupalištima Jaruna i Bundecka uzorkovani su ručnim uzorkivačem, ulaskom u vodu među kupače na mjestu gdje je dubina vode najmanje 0,6 metara (Slika 4). Dubina zahvaćanja uzoraka je 0,3 metara ispod površinske vode, čime se postiže maksimalno mogući reprezentativni uzorak obzirom na stanje akvatorija u kupališnoj sezoni. Od trenutka uzorkovanja do obrade u laboratoriju uzorci se čuvaju u hladnjaku pri temperaturi od $(4\pm 3^{\circ}\text{C})$. Uzorci su analizirani istog dana kada su i uzorkovani te su kod svakog uzorkovanja vode za kupanje praćeni i meteorološki uvjeti i moguće vidljivo onečišćenje [13].



Slika 4. Uzorkovanje vode za kupanje

Rezultati obrađeni u ovome radu odnose se na petogodišnje razdoblje ispitivanja kvalitete voda na kupalištima zagrebačkih jezera Jaruna i Bundeke. Točnije, rezultati ispitivanja na mikrobiološke parametre *Escherichia coli* i crijevne enterokoke prikazani u ovome radu odnose se na period od 2014. do 2018. godine. U navedenom je razdoblju na kupalištima jezera Jarun analizirano ukupno 684 pojedinačna uzorka, a na kupalištima Bundeke njih 126. Uzorci su kroz sve godine u navedenom razdoblju analizirani u mjesecima kupališne sezone (od lipnja do rujna), ali i u određenim mjesecima predsezone, ovisno o svakoj godini pojedinačno.

U tablici 4 prikazan je ukupan broj analiziranih uzoraka po pojedinim godinama, ali i ukupan broj kroz cjelokupno razdoblje ispitivanja, dok je u tablici 5 prikazana dinamika uzorkovanja, odnosno točni datumi uzimanja uzoraka za svaku godinu ispitivanja.

Tablica 4. Ukupan broj uzoraka na obje lokacije za razdoblje od 2014. do 2018.

Broj analiziranih uzoraka		
GODINA	JARUN	BUNDEK
2014.	144	27
2015.	128	24
2016.	128	24
2017.	156	27
2018.	128	24
Ukupno (2014.-2018.)	684	126

Tablica 5. Dinamika uzorkovanja u razdoblju od 2014.do 2018. godine

	2014.	2015.	2016.	2017.	2018.
Ožujak	/	/	/	3.3.	28.3.
Travanj	2.4.	14.4.	12.4.	/	/
Svibanj	21.5	/	/	/	/
Lipanj	10.6., 30.6.	9.6., 23.6.	9.6., 24.6.	6.6., 9.6., 14.6., 20.6.	8.6., 21.6.
Srpanj	7.7., 21.7.	7.7., 21.7.	7.7., 19.7.	4.7., 11.7., 14.7., 18.7.	9.7., 25.7.
Kolovoz	11.8., 26.8.	3.8., 24.8.	9.8., 23.8.	1.8., 16.8., 31.8.	8.8., 22.8.
Rujan	8.9.	7.9.	9.9.	14.9.	7.9.

3.3 Mikrobiološka analiza

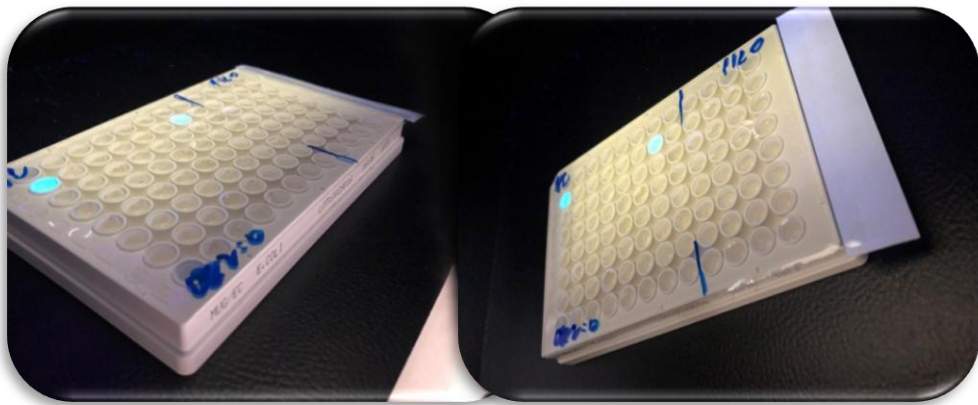
3.3.1 Određivanje *E.coli* MPN metodom (HRN EN ISO 9308-3)

Određivanje koncentracija *E.coli* na kupalištima Jaruna i Bundeka provodi se metodom najvjerojatnijeg broja bakterija (eng. MPN method – „Most probable number method“). Navedena metoda koristi se za detekciju i brojanje *E.coli* u površinskim vodama, a smatra se prikladnom za sve tipove površinskih i otpadnih voda, osobito onih bogatih suspendiranom tvari [14]. S druge strane, smatra se kako metoda nije pogodna za vodu za piće, kao ni za brojanje i detekciju drugih koliformnih bakterija, osim isključivo *E. coli*.

E. coli sposobna je stvarati, odnosno proizvoditi enzim β -D-glukoronidazu, a njen rast u analiziranim uzorcima očekuje se nakon inkubacije na 44°C u specifičnom tekućem mediju koji sadrži komponentu 4-metilumbeliferil- β -D-glukoronid (MUG). MUG komponenta sastavni je dio dehidrirane podloge prisutne na dnu svake jažice u mikrotitarskoj ploči. Dodavanjem razrijeđenih uzoraka u jažice, postiže se rehidracija navedene podloge.

3.3.1.1 Princip metode

Metoda se bazira na određivanju najvjerojatnijeg broja bakterija u analiziranim uzorcima. Razrijeđeni uzorak inokulira se u mikrotitarsku ploču koja sadrži dehidriranu hranjivu podlogu, a sastoji se od ukupno 96 jažica (Slika 5). Mikrotitarska ploča stavlja se pod UV lampu pri valnoj duljini od 366 nm nakon prethodno provedene inkubacije u trajanju od 36 do 72 sata pri temperaturi od $44^{\circ}\text{C}\pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Prisutnost *E. coli* dokazuje se pojavom plave fluorescencije, nastale kao rezultat hidrolize 4-metilumbeliferil- β -D-glukoronida (MUG). Rezultati se iskazuju kao najvjerojatniji broj bakterija na 100 ml uzorka.



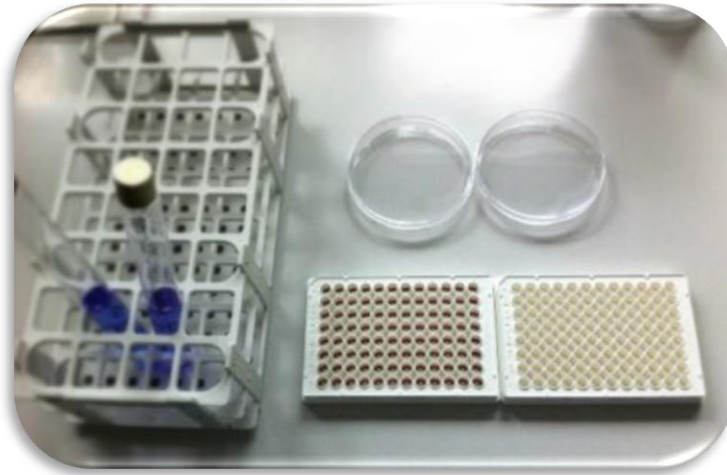
Slika 5. Mikrotitarska ploča s 96 jažica

3.3.1.2 Oprema i materijali

Za potrebe rutinskog određivanja koncentracija *E. coli* MPN metodom od uređaja potrebni su aparat za sterilizaciju (sterilizator vrućim zrakom ili autoklav), zatim termostatski inkubator reguliran na temperaturu $44^{\circ}\text{C}\pm 0,5^{\circ}\text{C}$, UV lampa, prijenosni refraktometar te pH metar. Od ostale opreme za analizu su potrebne i epruvete, 8-kanalna mikropipeta za prenošenje uzoraka, sterilne tipse za mikropipete, sterilna mikrotitar ploča s 96 jažica (svaka jažica je kapaciteta 350ul), zatim sterilni adhezivni ljepljivi pokrov za zatvaranje mikrotitarske ploče te sterilne Petrijeve ploče promjera 90mm (Slika 6).

3.3.1.3 Postupak

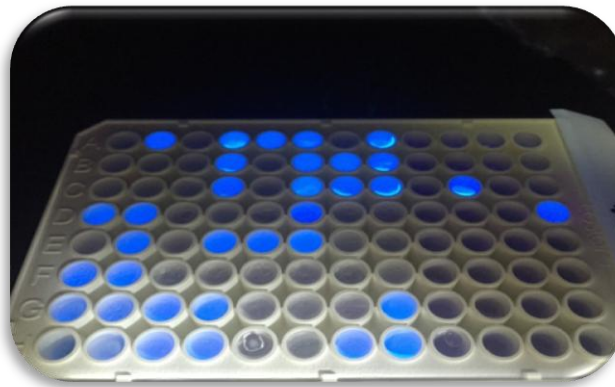
Broj razrjeđenja za inokulaciju u mikrotitarsku ploču ovisi o pretpostavljenoj razini kontaminacije vode koja se analizira. U svrhu analize voda za kupanje na jezerima Jarun i Bundek rade se dva razrjeđenja: 1:2 i 1:20.



Slika 6. Priprema uzoraka za analizu

Razrjeđenja se pripremaju dodavanjem određene količine uzorka vode u specijalno otapalo, sastavljeno od sintetičke morske soli, destilirane vode i bromfenol plave otopine. Navedeno se otapalo čuva u epruvetama u volumenu od 9ml i prilikom pripreme prvog razrjeđenja dodaje mu se 9ml homogeniziranog uzorka, kako bi se dobio ukupni volumen od 18 ml, od čega uzorak čini polovicu, odnosno 9ml čime se dobije razrjeđenje 1:2. Kako bi se dobilo razrjeđenje 1:20, 1 ml iz prvog razrjeđenja (1:2) prenese se u sljedeću epruvetu s također 9ml otapala. Nakon pripreme razrjeđenja, sadržaj prve epruvete (razrjeđenje 1:2) prenese se u sterilnu Petrijevu ploču promjera 90 mm te se koristeći 8-kanalnu pipetu 200 μ l uzorka inokulira u jažice na mikrotitarskoj ploči. Točnije, od ukupno 96 jažica, njih 64 ispuni se razrjeđenjem 1:2 (8 vertikalnih redova na mikrotitar ploči). Opisani postupak jednak je i za sadržaj druge epruvete (razrjeđenje 1:20), čime se ostale jažice, njih 32 ispune ovim razrjeđenjem (4 vertikalna reda na mikrotitar ploči). Mikrotitarska ploča

potom se zatvori sterilnim samoljepljivim pokrovom čime se ograničava dehidracija hranjive podloge u jažicama i štiti ploča od vanjske kontaminacije. Nakon toga, slijedi inkubacija mikrotitarske ploče pri temperaturi od $44 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ u trajanju od minimalno 36 sati do maksimalno 72 sata. Po završetku inkubacije, mikrotitarska ploča stavlja se pod UV lampu pri valnoj duljini od 366 nm te se broje jažice koje fluoresciraju plavo po pojedinom razrjeđenju (Slika 7). Pojava fluorescencije rezultat je hidrolize 4-metilumbeliferil- β -D-glukoronida (MUG), što dokazuje prisutnost *E. coli* u analiziranim uzorcima.



Slika 7. Fluorescencija kao dokaz prisutnosti *E.coli* u uzorcima vode

3.3.1.4 Iskazivanje rezultata

Nakon očitavanja broja jažica koje fluoresciraju plavom bojom pod UV lampom, dobivene podatke potrebno je pravilno i iskazati, odnosno interpretirati. U tu svrhu koristi se MPN metoda, odnosno metoda najvjerojatnijeg broja bakterija, a rezultat se izražava kao najvjerojatniji broj bakterija u 100 ml uzorka. Bitno je napomenuti kako se zasebno broje jažice inokulirane s razrjeđenjem 1:2, kao i one inokulirane s razrjeđenjem 1:20. Primjerice, ukoliko se izbroji kako 32 jažice koje su inokulirane razrjeđenjem 1:2 fluoresciraju plavom bojom te ukoliko je to slučaj kod 5 jažica inokuliranih razrjeđenjem 1:20, kombinacija navedenih vrijednosti daje tzv. karakteristični broj koji u ovome slučaju iznosi 32/5 i upravo

se za tu kombinaciju pomoću MPN tablica odredi najvjerovatniji broj bakterija u 100 ml uzorka. U ovome slučaju, najvjerovatniji broj bakterija iznosio bi 756 u 100 ml analiziranog uzorka (Tablica 6).

Tablica 6. Primjer MPN tablice

CN		MPN	LL	UL
30	1	612	429	874
30	2	633	445	901
30	3	654	462	927
30	4	676	479	954
30	5	697	495	980
30	6	718	512	1007
30	7	740	529	1034
30	8	761	546	1061
30	9	783	563	1088
30	10	805	581	1116
31	0	619	434	882
31	1	640	451	909
31	2	661	467	936
31	3	683	484	963
31	4	704	501	990
31	5	726	518	1017
31	6	748	536	1044
31	7	770	553	1071
31	8	792	570	1099
31	9	814	587	1127
31	10	836	605	1155
32	0	647	456	917
32	1	668	473	944
32	2	690	490	972
32	3	712	507	999
32	4	734	525	1027
32	5	756	542	1054
32	6	778	559	1082
32	7	800	577	1110
32	8	823	595	1138
32	9	845	612	1166
32	10	868	630	1195
33	0	675	479	953
33	1	697	496	981
33	2	720	513	1009

CN - Characteristic Number (karakterističan broj)

MPN - Most Probable Number (najverojatniji broj)

LL - Lower limit (donja granica)

UL - Upper Limit (gornja granica)

3.3.2 Određivanje crijevnih enterokoka metodom membranske filtracije (HRN ISO 7899-2)

Metoda membranske filtracije propisana je normom HRN EN ISO 7899-2 za detekciju i brojanje crijevnih enterokoka u uzorcima vode i upravo se ona koristi za određivanje navedenog mikrobiološkog pokazatelja u vodama za kupanje na kupalištima Jaruna i Bundeka. Iako se navedena metoda primjenjuje i za ispitivanje vode za piće te bazenskih voda, primjenjiva je za sve tipove voda, izuzev voda bogatih suspendiranom tvari.

Crijevni enterokoki bakterije su sposobne reducirati 2,3,5 – trifeniltetrazolium klorid nakon inkubacije u netopiv crveni formazin. Njihov rast očituje se u obliku crvenih, smeđih ili ljubičastih kolonija na membrani Slanetz Bartley agara (SB agar). [15].

3.3.2.1 Princip metode

Detekcija crijevnih enterokoka bazira se na filtraciji specifičnog volumena uzorka vode kroz membranski filter veličine pora 0,45 μm (veličina pora manja je od veličine bakterijske stanice, što omogućava zadržavanje bakterija na filteru). Potom se membranski filter pažljivo prenese na hranjivu selektivnu podlogu. Ukoliko se uoči porast tipičnih kolonija na membrani agara (crvene, smeđe ili ljubičaste kolonije), potrebno je izvršiti i potvrdni test. U tu se svrhu membranski filter prenese na hranjivu podlogu, žučni eskulin-azid agar (eng. Bile Aesculin (BA) i inkubira pri temperaturi $44\pm 0,5^\circ\text{C}$ u trajanju od 2 sata, pri čemu crijevni enterokoki hidroliziraju eskulin do krajnjeg produkta 6,7-dihidroksikumarina koji s Fe^{3+} daje tamno do crno obojenu tvar koja difundira u medij. Po završetku inkubacije promatraju se tipične kolonije koje pokazuju žućkastosmeđu do crnu boju (crni halo) te ih se broji kao crijevne enterokoke.

3.3.2.2 Oprema i materijali

Kada je riječ o neophodnoj opremi i materijalima potrebnim za rutinsko određivanje crijevnih enterokoka metodom membranske filtracije, prije svega treba izdvojiti ispravnu aparaturu za sami postupak membranske filtracije (Slika 8) kao i sterilne membranske filtere veličine pora 0,45 μm . Od ostale opreme, potrebni su i inkubator za održavanje temperature na $36\pm 2^\circ\text{C}$, inkubator za održavanje temperature na $44\pm 0,5^\circ\text{C}$, autoklav za održavanje temperature pri $121\pm 3^\circ$, sterilne pincete, kao i vodena kupelj održavana na temperaturi od 100°C .

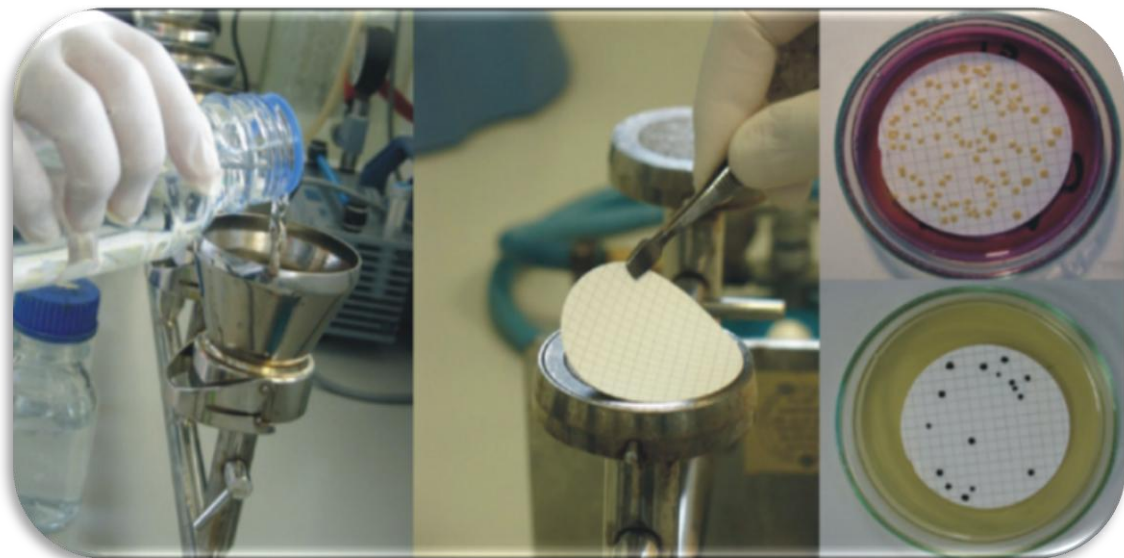


Slika 8. Uređaj za membransku filtraciju

3.3.2.3 Postupak

Sam postupak ispitivanja crijevnih enterokoka u uzorcima vode najbolje je započeti neposredno nakon završenog uzorkovanja. Nadalje, ukoliko su uzorci držani na temperaturi okoliša, ispitivanje je potrebno započeti unutar 6 sati od uzimanja uzoraka. Također, u izvanrednim situacijama dopušteno je čuvanje uzoraka pri temperaturi od $5\pm 3^\circ\text{C}$, najdulje 24 sata prije početka ispitivanja.

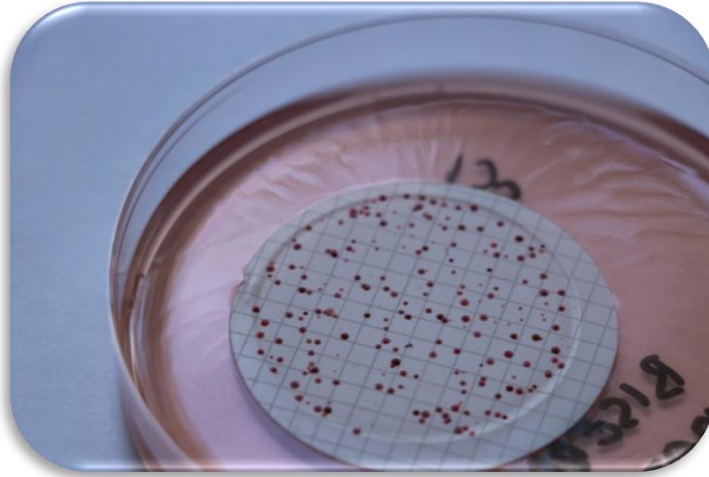
Prvi korak u postupku filtracije je postavljanje sterilne membrane na porozni disk uređaja za filtriranje, s mrežastim dijelom okrenutim prema gore i na način da se samo vanjski dio membrane prihvati sterilnom pincetom s ravnim krajevima. Zatim je potrebno sterilni lijevak čvrsto postaviti na bazu filtra i pri uključenom vakuumu u lijevak naliti odgovarajući volumen uzorka. Po završetku filtracije, lijevak treba ukloniti i membranu sterilnom pincetom pažljivo prenijeti na Slanetz Bartley agar (Slika 9). Navedeni je agar hranjiva podloga koja se sastoji od natrijevog azida (sprječava rast gram-negativnih bakterija) i 2,3,5-trifeniltetrazolium klorida, bezbojne tvari, koju su crijevni enterokoki sposobni reducirati u crveni formazan [16]. Prilikom prijenosa membrane na SB agar, važno je voditi računa o tome da ne zaostanu mjehurići zraka između membrane i hranjive podloge.



Slika 9. Tehnika membranske filtracije

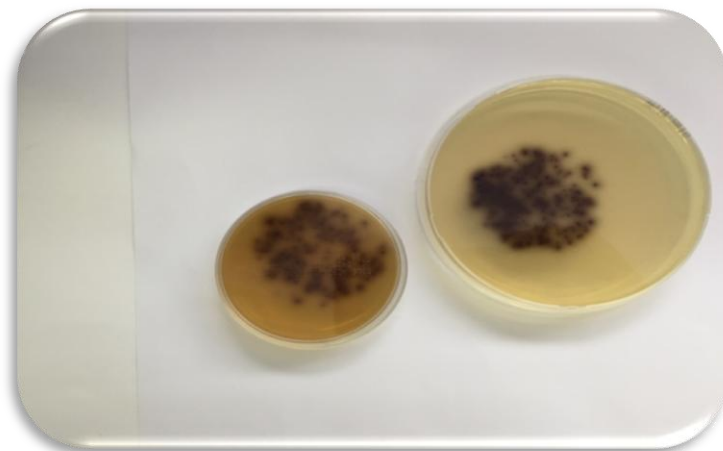
Slijedeći korak je inkubacija pri temperaturi $36\pm 2^{\circ}\text{C}$ u trajanju od 44 ± 4 sata. Nakon provedene inkubacije, sve porasle kolonije crvene, smeđe ili ljubičaste boje smatraju se sumnjivim na crijevne enterokoke (Slika 10). Razlog pojave takvog obojenja sposobnost je

crijevnih enterokoka da reduciraju 2,3,5 trifeniltetrazolium klorid u formazan. Ukoliko su takve kolonije prisutne, pristupa se provedbi potvrdnog testa.



Slika 10. Porasle kolonije enterokoka na Slanetz Bartly

Membrana se sterilnom hvataljkom prenese sa SB (Stanley Bartley) podloge na BA (Bile Aesculin) podlogu, prethodnu zagrijanu na 44°C. Slijedi inkubacija pri temperaturi od $44\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ kroz 2 sata, a odmah zatim i očitavanje. Pozitivnom reakcijom smatraju se sve tipične kolonije koje pokazuju žućkastosmeđu do crnu boju te se upravo njih broji kao crijevne enterokoke (Slika 11).



Slika 11. Porasle kolonije enterokoka na Bile Aesculin

3.3.2.4 Iskazivanje rezultata

Rezultati analiza na crijevne enterokoke izražavaju se brojčano, kao broj izraslih kolonija u 100 ml uzorka vode prema slijedećoj formuli:

$$\text{broj kolonija / 100ml} = \frac{\text{broj izraslih kolonija}}{\text{volumen filtriranog uzorka (ml)}} \times 100$$

3.4 Statistička analiza rezultata

U svrhu jasnijeg i preglednijeg prikaza rezultata analiza na mikrobiološke parametre *E. coli* i crijevne enterokoke na kupalištima Jaruna i Bundeka, izvršena je statistička analiza svih rezultata dobivenih u petogodišnjem razdoblju (2014. – 2018.) ispitivanja kakvoće voda na kupalištima navedenih jezera.

Homogenost varijance te broj i distribucija podataka osnovni su faktori na temelju kojih se određuje hoće li se prilikom statističke analize podataka koristiti parametrijski ili neparametrijski testovi. Obzirom da podaci korišteni u ovome radu nisu slijedili normalnu, odnosno Gaussovu distribuciju podataka, u svrhu statističke analize korišteni su neparametrijski testovi – Mann Whitney U test i Kruskal Wallis H test. Jednako tako, statistički pokazatelji na temelju kojih je izvršena analiza i prikazana usporedba rezultata jesu medijan, kao vrijednost koja se nalazi točno na sredini nekog niza brojčanih podataka te aritmetička sredina, kao vrijednost dobivena zbrojem svih rezultata podijeljena s ukupnim brojem tih rezultata.

Nadalje, pomoću Spearmanovog koeficijenta korelacije prikazan je stupanj povezanosti između hidrometeoroloških pokazatelja (temperatura zraka, temperatura vode, količina oborina) i vrijednosti *E. coli* i crijevnih enterokoka. Točnije, pomoću navedenog postupka izračunavanja korelacije utvrđeno je postoji li povezanost između spomenutih klimatskih pokazatelja i mikrobioloških parametara i ukoliko postoji, je

li ta povezanost između određenih pokazatelja statistički značajna i je li taj odnos proporcionalan ili obrnuto proporcionalan.

Jednako tako, za potrebe ovog rada izračunati su i 90-i i 95-i percentili svih vrijednosti *E. coli* i crijevnih enterokoka po pojedinim godinama kako bi se grafički jednostavnije i preglednije prikazala usporedba navedenih parametara.

3.4.1 Mann - Whitney U test

Mann – Whitney U test neparametrijski je test statističke obrade podataka najčešće korišten kako bi se odredilo postoji li statistički značajna razlika između dvije skupine nezavisnih podataka [17]. Kako bi se navedeni test uopće mogao primijeniti, vrijednosti podataka moraju biti mjerljive na ordinalnoj skali i usporedive veličine. Test se provodi na način da se uspoređuju vrijednosti medijana između dviju skupina podataka [18]. Medijan ili centralna vrijednost jedna je od mjera centralne tendencije koja označava vrijednost u nizu elemenata poredanih od najmanjeg do najvećeg koja dijeli skup na dva jednaka dijela, i to na način da prvih 50% elemenata ima vrijednost manju od medijana, a preostalih 50% elemenata ima vrijednost veću od medijana [19]. Prednost primjene medijana u odnosu na aritmetičku sredinu (vrijednost dobivena zbrojem svih rezultata podijeljena s ukupnim brojem tih rezultata) leži u činjenici što je medijan manje osjetljiv na pojedine ekstremne rezultate, čime se smatra izuzetno pogodnim za primjenu kod nepravilne raspodjele podataka [20].

Prilikom izračuna vrijednosti obje skupine podataka svrstavaju se u zajednički niz te im se pridodaje odgovarajući rang na način da se najmanjoj vrijednosti pridružuje prvi rang, a najvećoj maksimalan rang. Potom slijedi zbrajanje rangova dobivenih u obje skupine, nakon čega se prema formuli Mann Whitney U testa izračunava z-vrijednost.

Ukoliko je dobivena z-vrijednost veća od 1,96 na razini od 5% statističke značajnosti, dvije se ispitivane grupe podataka statistički značajno razlikuju.

U ovome radu navedenim je testom promatrano razlikuju li se statistički značajno jezera Jarun i Bundeck u koncentracijama *E. coli* i crijevnih enterokoka dobivenim kroz petogodišnje razdoblje ispitivanja kakvoće vode (2014. – 2018.)

3.4.2 Kruskal – Wallis H test

Kruskal – Wallis H test neparametrijski je statistički test kojim se određuje postoji li statistički značajna razlika između dvije ili više nezavisnih skupina podataka, zbog čega se smatra svojevrsnim proširenim testom, odnosno nastavkom Mann – Whitney U testa [21].

Prvi korak u provedbi ovoga testa jest rangiranje podataka od najmanjeg prema najvećem, nakon čega se izračuna suma rangova. Potom slijedi izračun H-vrijednosti. Ako su uzorci dovoljno veliki, odnosno ako svaki uzorak sadrži više od 5 rezultata, tada H-vrijednost ima jednaku distribuciju kao i hi-kvadrat (χ^2), stoga se značajnost može očitati iz χ^2 tablica uz pomoć stupnjeva slobode, k-1, gdje je „k“ broj grupa [22]. Ukoliko je izračunata H-vrijednost veća od tablične vrijednosti χ^2 tada između promatranih skupina postoji statistički značajna razlika.

Ovim je testom u radu promatrano postoji li statistički značajna razlika u analiziranim mikrobiološkim parametrima između pojedinih godina ispitivanja na oba jezera, između pojedinih mjeseci ispitivanja te postoje li razlike između pojedinih lokacija unutar samih jezera.

3.4.3 Spearmanov koeficijent korelacije (ρ)

Korelacija općenito predstavlja statistički postupak izračunavanja međusobne povezanosti dviju varijabli. Vrijednost korelacije brojčano se iskazuje koeficijentom korelacije koji se kreće u rasponu od -1 do 1, a može imati pozitivan (+) ili negativan (-) predznak, što nam govori o smjeru povezanosti. Negativan predznak koeficijenta korelacije znači da su dvije varijable povezane na način da ako je jedna varijabla u porastu, druga pada. Analogno tomu, pozitivan predznak znači da se obje varijable kreću u istom smjeru [23].

Vrijednost korelacije najčešće se iskazuje Spearmanovim ili Pearsonovim koeficijentom korelacije. Obzirom da se potonji koristi u slučajevima kada postoji normalna raspodjela podataka, za potrebe ovog rada korišten je Spearmanov koeficijent korelacije kako bi se odredila eventualna povezanost i statistički značajna razlika između određenih meteoroloških parametara i koncentracija promatranih mikrobioloških pokazatelja.

Spearmanov koeficijent korelacije (ρ) ili korelacija ranga izračunava se kada jedan od skupa podataka slijedi ordinalnu ljestvicu ili kada raspodjela podataka značajno odstupa od normalne distribucije [24]. Za ispravno tumačenje rezultata dobivenih korelacijom obavezno se navode koeficijent korelacije (r ili ρ) te značajnost tog koeficijenta (P). Ukoliko je koeficijent korelacije značajan obzirom na postavljenu granicu značajnosti ($P < 0.05$), tada se on smije tumačiti. U suprotnom, ako je $P > 0.05$, koeficijent korelacije nije značajan te se bez obzira na njegovu vrijednost ne smije tumačiti. Ovisno o vrijednostima koeficijenta korelacije, određuje se povezanost dviju varijabli (Tablica 7).

Tablica 7. Pravilno tumačenje vrijednosti koeficijenta korelacije

Vrijednost koeficijenta korelacije	Povezanost
Od 0 do $\pm 0,25$	Nema povezanosti
Od $\pm 0,25$ do $\pm 0,50$	Slaba povezanost
Od $\pm 0,50$ do $\pm 0,75$	Umjerena do dobra povezanost
Od $\pm 0,75$ do ± 1	Vrlo dobra do izvrsna povezanost

3.4.4 Percentili

Radi jednostavnijeg grafičkog prikaza velikog broja rezultata mikrobioloških analiza dobivenih u određenom vremenskom razdoblju, računaju se 90-i i 95-ti percentili navedenih rezultata. Percentili se računaju na način da se najprije izračunaju vrijednosti logaritma iz broja izraslih kolonija dobivenih pojedinom mikrobiološkom metodom u 100 ml uzorka. Slijedi izračun aritmetičke sredine logaritmiranih vrijednosti broja izraslih kolonija (μ), a potom i standardne devijacije logaritamskih vrijednosti (σ). Od navedenih se parametara zatim izračunaju 90-i i 95-i percentili prema sljedećim formulama:

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

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

Standardi za ocjenu kakvoće voda na kraju sezone kupanja određeni su temeljem vrijednosti 90-ih i 95-ih percentila te se na temelju njih voda po završetku sezone kupanja svrstava u kategoriju izvrsne, dobre, zadovoljavajuće ili nezadovoljavajuće. Ovaj način statističke obrade podataka uzima u obzir apsolutne vrijednosti svih koncentracija, što rezultira preciznijom procjenom graničnih koncentracija te pruža uvid u vremenske varijacije kakvoće jezera.

3.4.5 Hidrometeorološki podaci

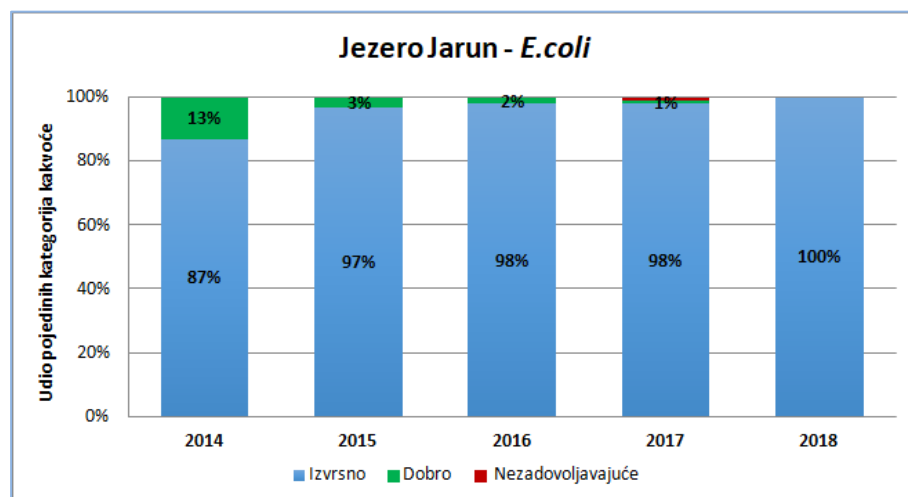
Podaci o količini oborina i temperaturi zraka u istraživanom razdoblju ustupljeni su od strane Državnog hidrometeorološkog zavoda, a odnose se na vrijednosti izmjerene na meteorološkoj postaji Zagreb – Grič.

4 REZULTATI

Tijekom petogodišnjeg razdoblja (2014. – 2018.) ispitivanja kakvoće vode na kupalištima Jaruna i Bundecka analizirano je ukupno 810 uzoraka na mikrobiološke parametre *E. coli* i crijevne enterokoke. Od tog broja, 684 uzorka uzeto je na šesnaest lokacija na jezeru Jarun, dok je ostalih 126 uzoraka uzeto na tri lokacije na jezeru Bundeck. Na temelju rezultata ispitivanja navedenih mikrobioloških pokazatelja, voda za kupanje svrstava se u jednu od četiri kategorije kakvoće, sukladno Uredi o kakvoći vode za kupanje (NN 51/2014).

4.1.1 Jarun – *Escherichia coli*

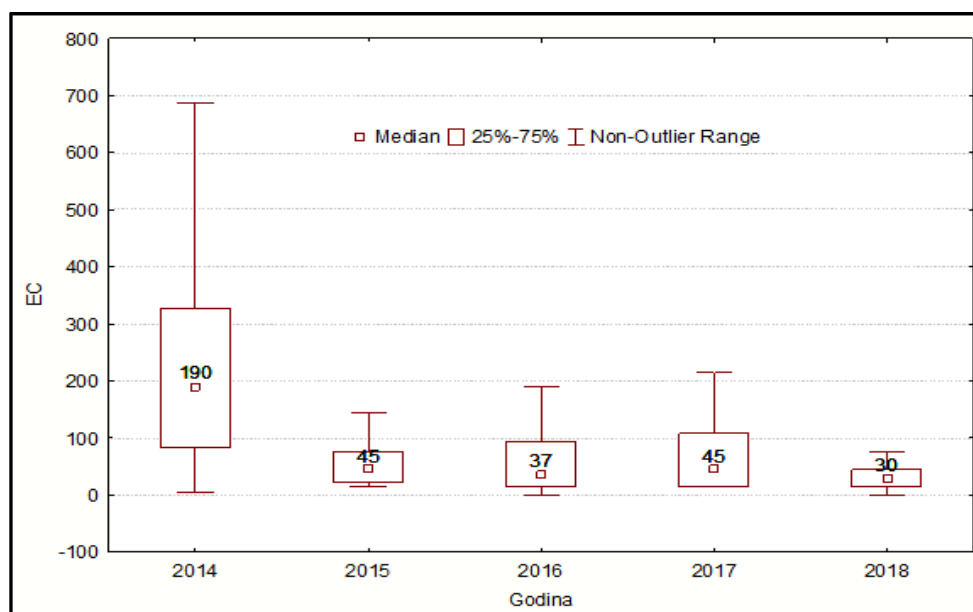
Postotak uzoraka izvrsne kakvoće u 2014. godini promatrajući samo *E. coli* kao parametar iznosio je 87 %. Iduće godine taj je postotak bio znatno veći i iznosio je 97 %. 2016. i 2017. godine od ukupnog broja analiziranih uzoraka, čak 98 % je bilo izvrsne kakvoće, dok je u zadnjoj godini promatranog razdoblja taj postotak bio 100 %, odnosno svi analizirani uzorci zadovoljavali su kriterij izvrsne kakvoće. Ukupan broj analiziranih uzoraka, kao i broj uzoraka izvrsne kakvoće prikazan je na slici 12. Analizirani uzorci koji nisu bili izvrsne kakvoće zadovoljavali su kriterij dobre kakvoće vode, izuzev dva uzorka 2017. godine kada su vrijednosti navedenih uzoraka prelazile granične vrijednosti dobre kakvoće vode za parametar *E. coli*.



Slika 12. Udio pojedinih kategorija kakvoće vode prema *E. coli* na jezeru Jarun

4.1.1.1 Usporedba po godinama

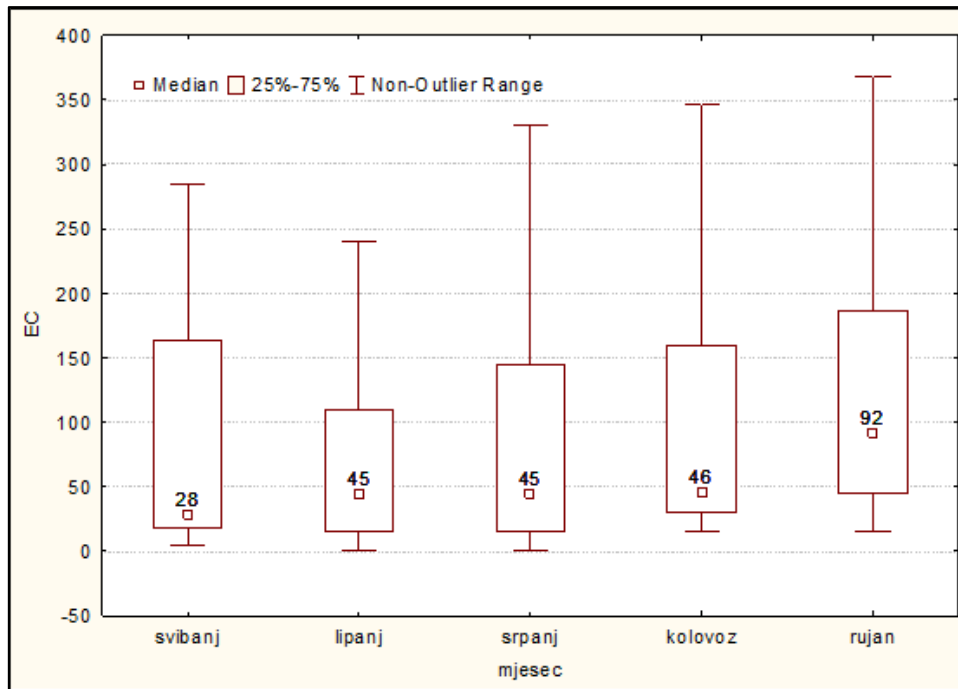
Koristeći Kruskal-Wallis H test provedena je usporedba vrijednosti medijana parametra *E. coli* dobivenih na lokacijama uzorkovanja na jezeru Jarun po pojedinim godinama. Prema vrijednostima isticala se 2014. godina, koja se statistički značajno razlikovala od ostalih godina ($H(4, N=684)=139,321, p<0,0001$) (Slika 13).



Slika 13. Vrijednosti medijana *E. coli* po godinama – jezero Jarun

4.1.1.2 Usporedba po mjesecima (svibanj – listopad)

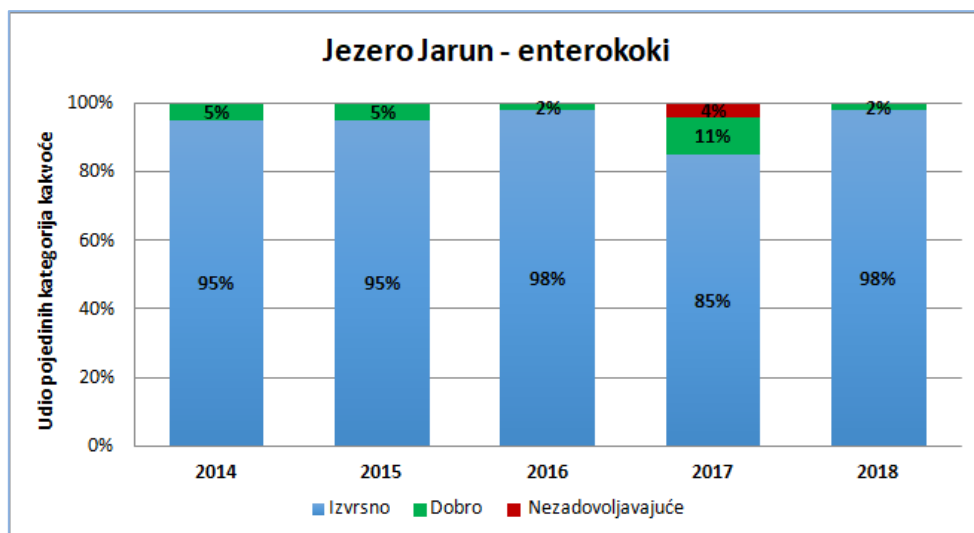
Uspoređujući vrijednosti medijana *E. coli* po mjesecima u razdoblju od svibnja do rujna, utvrđeno je (Kruskal –Wallis H test) da su vrijednosti u rujnu statistički značajno veće od vrijednosti u lipnju i srpnju (Slika 14), dok između ostalih mjeseci razlika u vrijednostima nije statistički značajna ($H(4, N=650)=22,823, p=0,0001$).



Slika 14. Vrijednosti medijana *E. coli* po mjesecima – jezero Jarun

4.1.2 Jarun – crijevni enterokoki

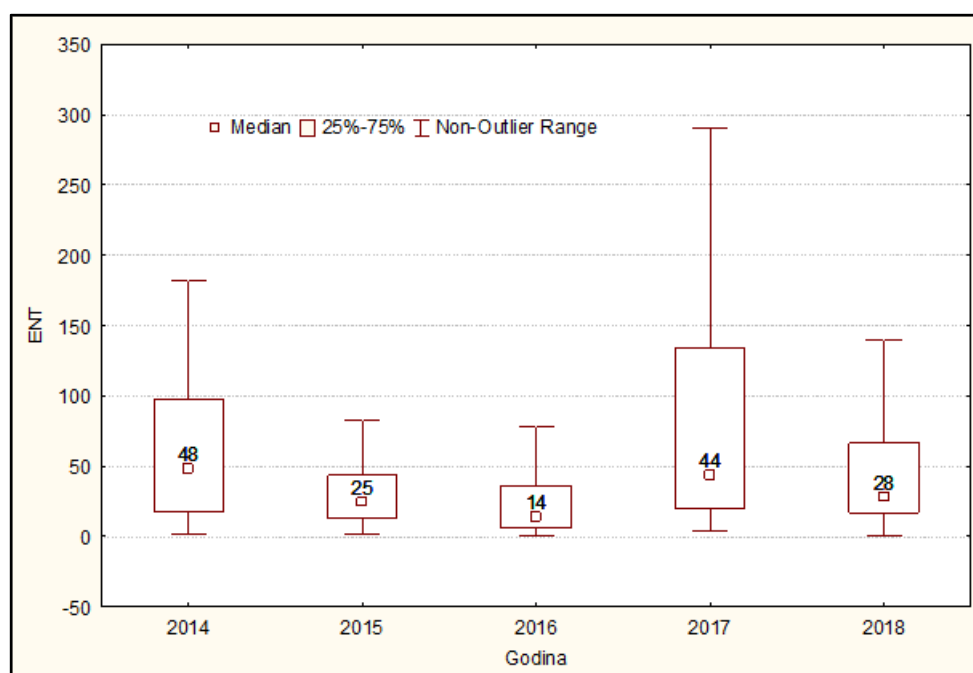
Promatrajući zasebno crijevne enterokoke kao pokazatelj kakvoće vode, postotak uzoraka izvrsne kakvoće u prve dvije godine promatranog razdoblja (2014. i 2015.) iznosio je 95 % od ukupnog broja uzoraka. 2016. i 2018. godine izvrsne kakvoće bilo je 98 % analiziranih uzoraka, dok je 2017. godine taj postotak bio znatno manji i iznosio je svega 85 % (Slika 15). Preostali postotak analiziranih uzoraka tijekom navedenih godina zadovoljavao je kriterij dobre kakvoće, s iznimkom 2017. godine kada su vrijednosti šest analiziranih uzoraka prelazile granične vrijednosti dobre kakvoće vode.



Slika 15. Udio pojedinih kategorija kakvoće vode prema enterokokima na jezeru Jarun

4.1.2.1 Usporedba po godinama

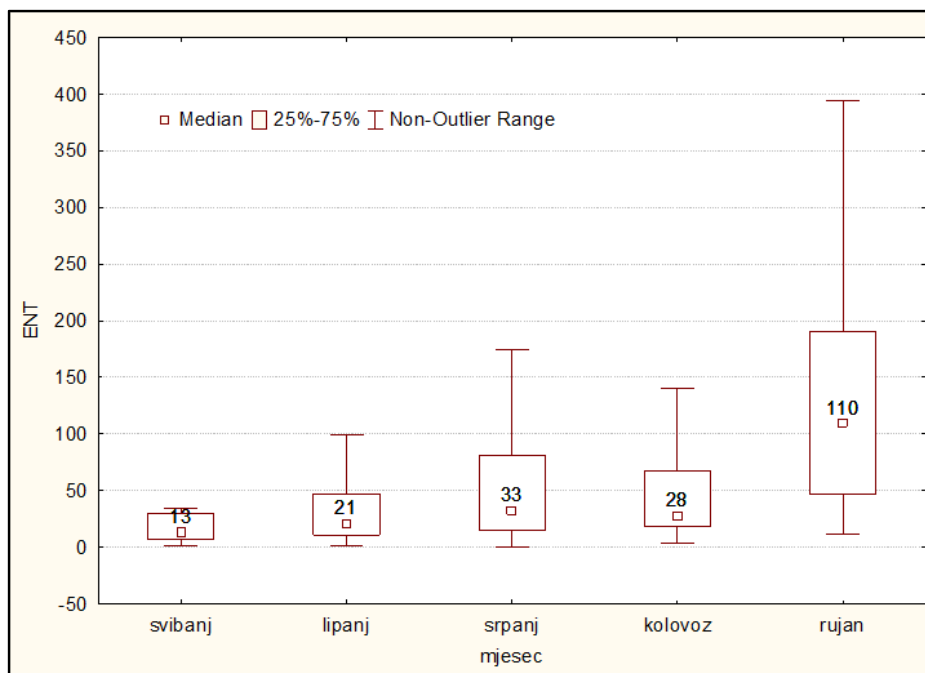
Pomoću Kruskal-Wallis H testa dokazano je kako između vrijednosti medijana crijevnih enterokoka postoje razlike ($H(4, N=684)=75,258, p<0,0001$) u godinama u promatranom razdoblju. Koncentracijama crijevnih enterokoka najopterećenije bile su 2014. i 2017. godina (Slika 16), dok su najmanje vrijednosti zabilježene 2016. godine.



Slika 16. Vrijednosti medijana crijevnih enterokoka po godinama – jezero Jarun

4.1.2.2 Usporedba po mjesecima

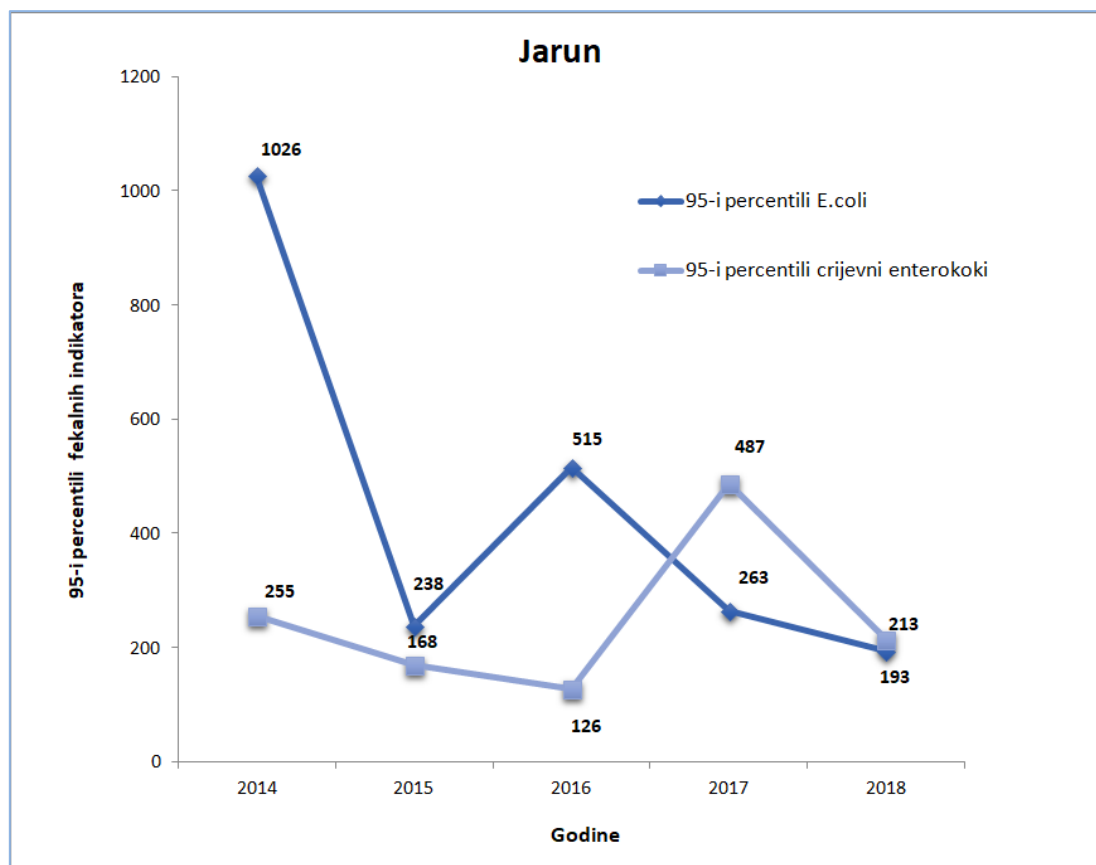
Uspoređujući vrijednosti medijana crijevnih enterokoka po mjesecima (od svibnja do rujna), vidljiv je pik koncentracije u rujnu što je potvrđeno i provedbom Kruskal-Wallis H testa ($H(4, N=650)=84,426, p<0,0001$) (Slika 17).



Slika 17. Usporedba medijana crijevnih enterokoka po mjesecima – jezero Jarun

4.1.3 Jarun- vrijednosti percentila

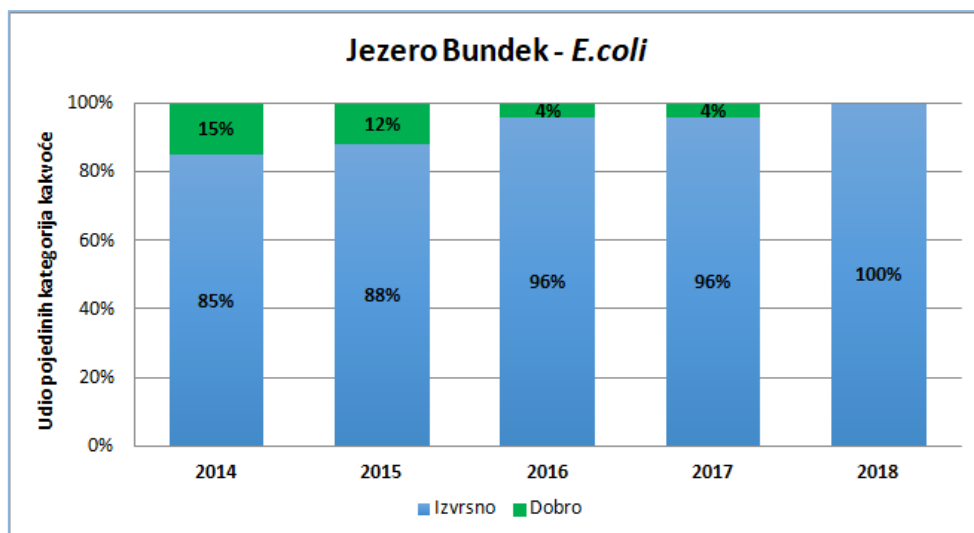
Promatrajući vrijednosti 95-ih percentila dobivenih iz svih vrijednosti *E. coli* i crijevnih enterokoka po pojedinim godinama, jasno je uočljiv trend pada ili rasta (ovisno o godini) vrijednosti percentila navedenih mikrobioloških parametara. Tako je primjerice u slučaju *E. coli* 2015. godine primjetan znatan pad vrijednosti u odnosu na prethodnu godinu, nakon čega 2016. ponovno slijedi rast. Posljednje dvije godine promatranog razdoblja primjetan je pad vrijednosti 95-ih percentila *E. coli*. S druge strane, u slučaju crijevnih enterokoka u prve je tri godine primjetan blagi, gotovo neznatan pad vrijednosti 95-ih percentila nakon čega je 2017. uslijedio značajan porast, dok je posljednju godinu u promatranom razdoblju karakterizirao pad vrijednosti percentila navedenog mikrobiološkog pokazatelja (Slika 18).



Slika 18. Vrijednosti 95-ih percentila *E. coli* i crijevnih enterokoka – jezero Jarun

4.1.4 Budek – *Escherichia coli*

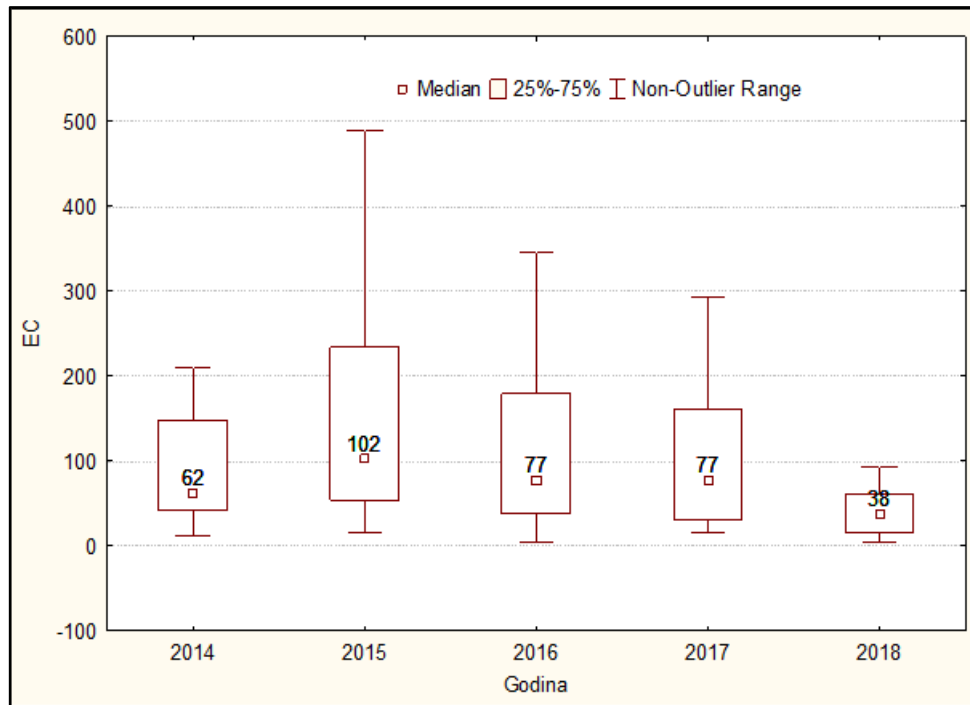
Promatrajući zasebno *E. coli* kao parametar kakvoće vode na kupalištima jezera Budek, jedina godina u kojoj su svi uzorci zadovoljavali kriterij izvrsne kakvoće vode bila je posljednja godina u promatranom razdoblju, odnosno 2018. 2016. i 2017. godine taj je postotak iznosio 96 %, 2015. 88 %, a najmanji postotak uzoraka izvrsne kakvoće zabilježen je 2014. godine i iznosio je svega 85 % (Slika 19). Također treba naglasiti kako niti jedan uzorak u svih pet godina promatranog razdoblja ispitivanja nije prelazio granične vrijednosti dobre kakvoće vode obzirom na parametar *E. coli*.



Slika 19. Udio pojedinih kategorija kakvoće vode prema *E. coli* na jezeru

4.1.4.1 Usporedba po godinama

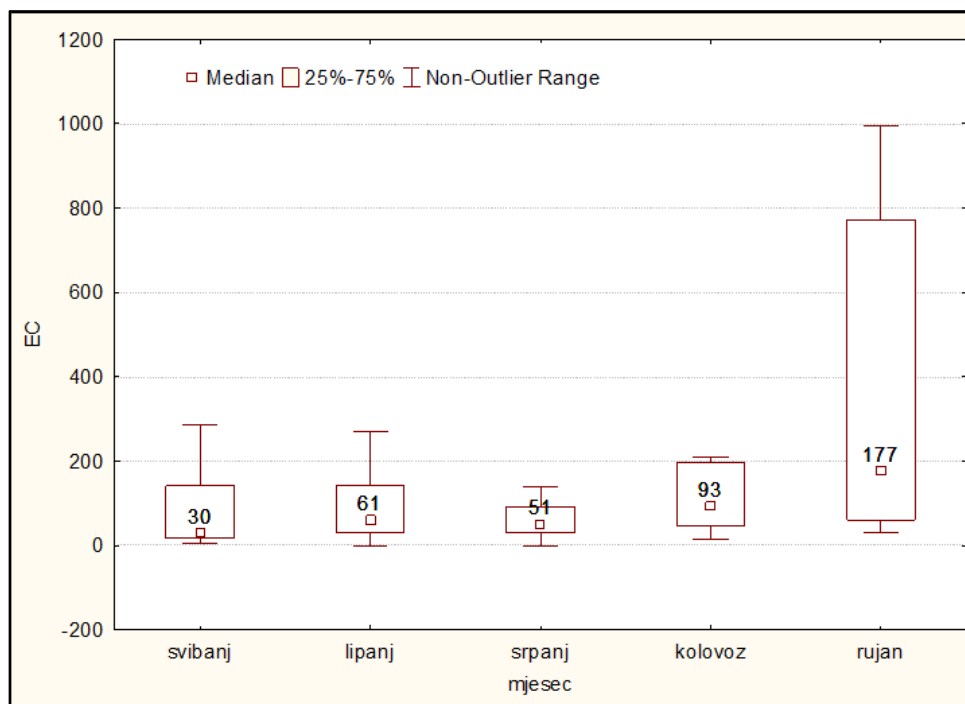
Promatrajući vrijednosti medijana *E. coli* za pojedinu godinu, vidljivo je kako je ta vrijednost bila najveća 2015., a najmanja 2018. godine (Slika 20). Provedbom Kruskal-Wallis H testa utvrđeno je kako između pojedinih godina postoje razlike u vrijednostima medijana *E. coli* ($H(4, N=126)=16,493, p=0,0024$). Također je utvrđeno kako je 2018. godina bila statistički značajno manje opterećena vrijednostima *E. coli* od prve tri godine u promatranom razdoblju (2014., 2015., 2016.), dok se od 2017. godine statistički značajno nije razlikovala.



Slika 20. Vrijednosti medijana *E. coli* po godinama – jezero Bundek

4.1.4.2 Usporedba po mjesecima

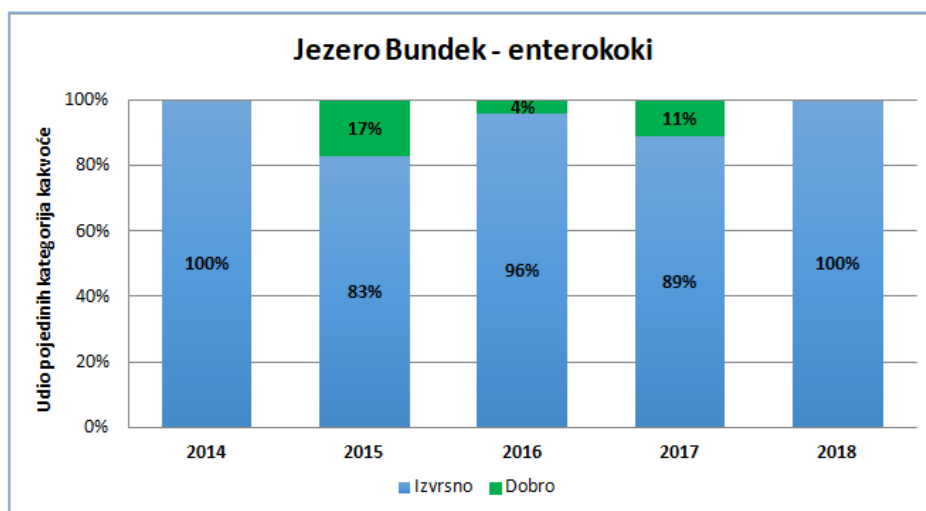
Uspoređujući vrijednosti medijana *E. coli* za pojedini mjesec u razdoblju od svibnja do rujna, analizom rezultata (Kruskal-Wallis H test) utvrđeno je kako je mjesec rujna statistički značajno opterećeniji od svibnja (Slika 21), dok razlika u vrijednostima između ostalih mjeseci nije statistički značajna ($H(4, N=79)=12,232, p=0,0157$).



Slika 21. Usporedba medijana *E. coli* po mjesecima - jezero Budek

4.1.5 Budek – crijevni enterokoki

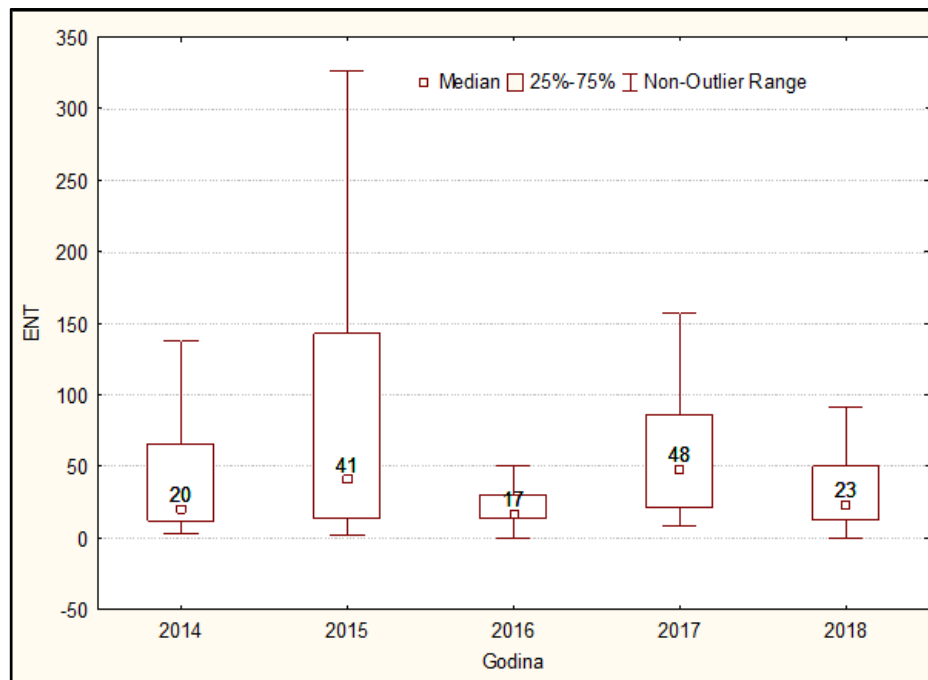
Uspoređujući postotak uzoraka izvrsne kakvoće gledajući samo crijevne enterokoke kao parametar za ocjenu kakvoće vode, 2014. i 2018. taj je postotak iznosio 100 %, odnosno svi analizirani uzorci zadovoljavali su kriterij izvrsne kakvoće vode. 2015. godine taj je postotak uzoraka iznosio 83 %, a godinu poslije 96 %. 2017. godine izvrsne kakvoće bilo je 89 % od ukupnog broja analiziranih uzoraka (Slika 22).



Slika 22. Udio pojedinih kategorija kakvoće vode prema enterokokima na jezeru Budek

4.1.5.1 Usporedba po godinama

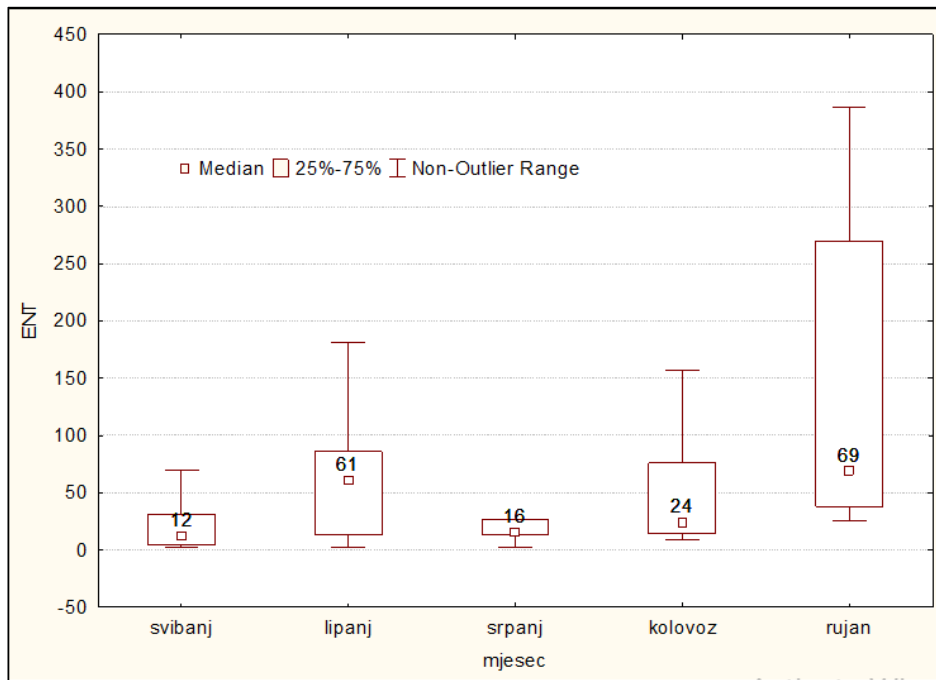
Promatrajući dobivene vrijednosti medijana crijevnih enterokoka vidljivo je kako je najveća vrijednost medijana dobivena 2017., a najmanja 2016. godine (Slika 23). Međutim, upotrebom Kruskal-Wallis H testa utvrđeno je kako u promatranom petogodišnjem razdoblju ispitivanja razlike između pojedinih godine nisu statistički značajne.



Slika 23. Usporedba medijana crijevnih enterokoka po godinama – jezero Budek

4.1.5.2 Usporedba po mjesecima

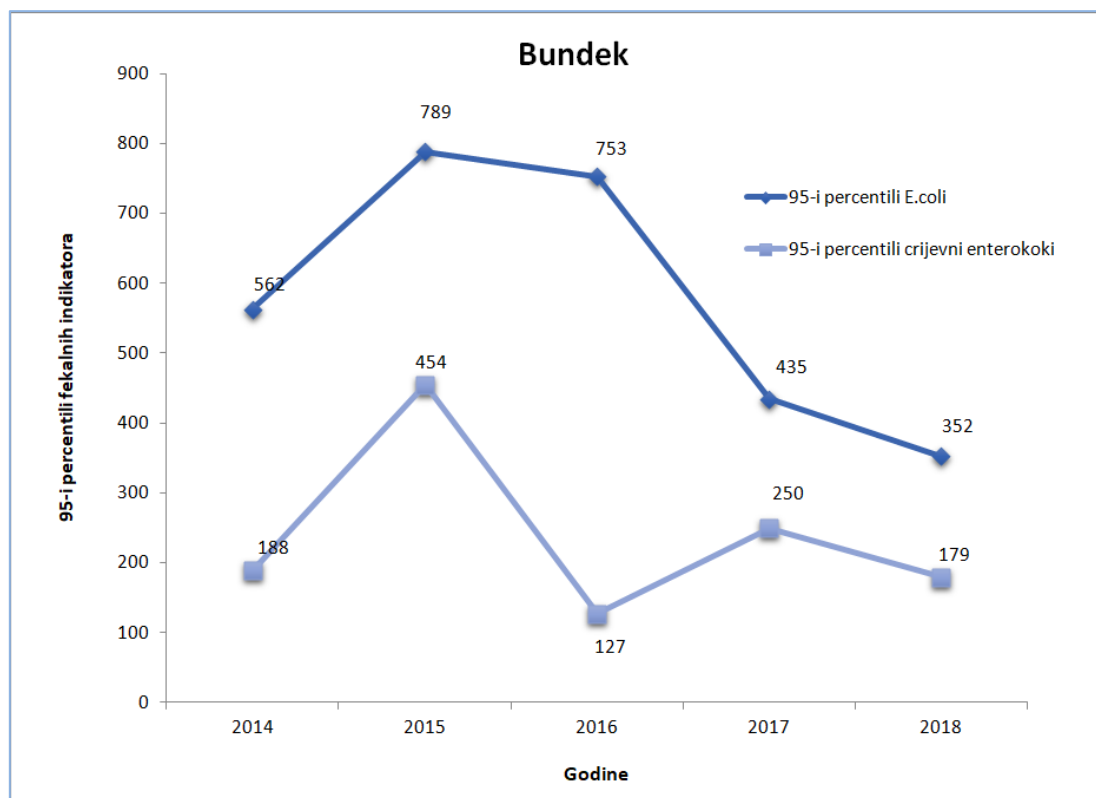
Pomoću Kruskal-Wallis H testa provedena je i usporedba vrijednosti medijana crijevnih enterokoka po mjesecima u razdoblju od svibnja do rujna na kupalištima jezera Budek. Navedenim je testom utvrđeno kako između svibnja i rujna te srpnja i rujna postoji statistički značajna razlika u rezultatima (Slika 24), dok između ostalih mjeseci ta razlika nije statistički značajna.



Slika 24. Vrijednosti medijana crijevnih enterokoka po mjesecima - jezero Budek

4.1.6 Budek – vrijednosti percentila

Uspoređujući vrijednosti 95-ih percentila izračunatih iz svih dobivenih vrijednosti oba mikrobiološka pokazatelja na jezeru Budek, kroz grafički se prikaz vrlo jasno može uočiti kako se vrijednosti percentila mijenjaju iz godine u godinu. Primjerice, 2015. godine kod oba je mikrobiološka pokazatelja primjetan rast u odnosu na prethodnu godinu, nakon čega 2016. godine slijedi blagi pad u vrijednostima *E. coli* te intenzivan pad u vrijednostima crijevnih enterokoka (Slika 25).



Slika 25. Vrijednosti 95-ih percentila *E. coli* i crijevnih enterokoka - jezero Bundek

4.2 Korelacija ispitanih pokazatelja

Pomoću Spearmanovog koeficijenta korelacije ispitan je stupanj povezanosti između promatranih mikrobioloških parametara (*E. coli* i crijevnih enterokoka) te određenih hidrometeoroloških čimbenika koji potencijalno mogu imati utjecaj na vrijednosti navedenih mikrobioloških pokazatelja u vodama zagrebačkih jezera. Tako su u obzir uzeti temperatura zraka, temperatura vode na jezerima, količina oborina na dan uzorkovanja te količina oborina u razdoblju od tri dana prije uzorkovanja.

Spearmanovom korelacijskom analizom utvrđena je značajna negativna korelacija između temperatura zraka i vode i *E. coli* ($r_s = -0,2$) i enterokoka ($r_s = -0,1$), uz razinu značajnosti $p < 0,05$. Za količine oborina na dan uzorkovanja, utvrđena je pozitivna značajna korelacija s *E. coli* ($r_s = 0,1$), a s trodnevnom količinom oborina značajnu pozitivnu korelaciju pokazuju oba

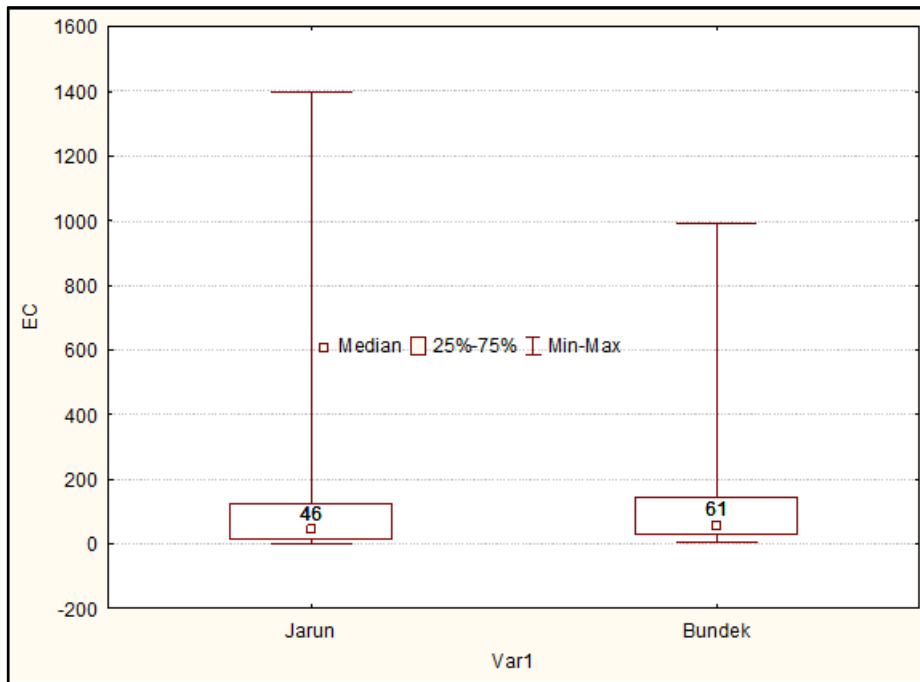
pokazatelja, *E. coli* ($r_s = 0,2$) te crijevni enterokoki ($r_s = 0,3$), uz razinu značajnosti $p < 0,05$ (Tablica 8).

Tablica 8. Prikaz Spearmanovog koeficijenta korelacije ispitivanih pokazatelja

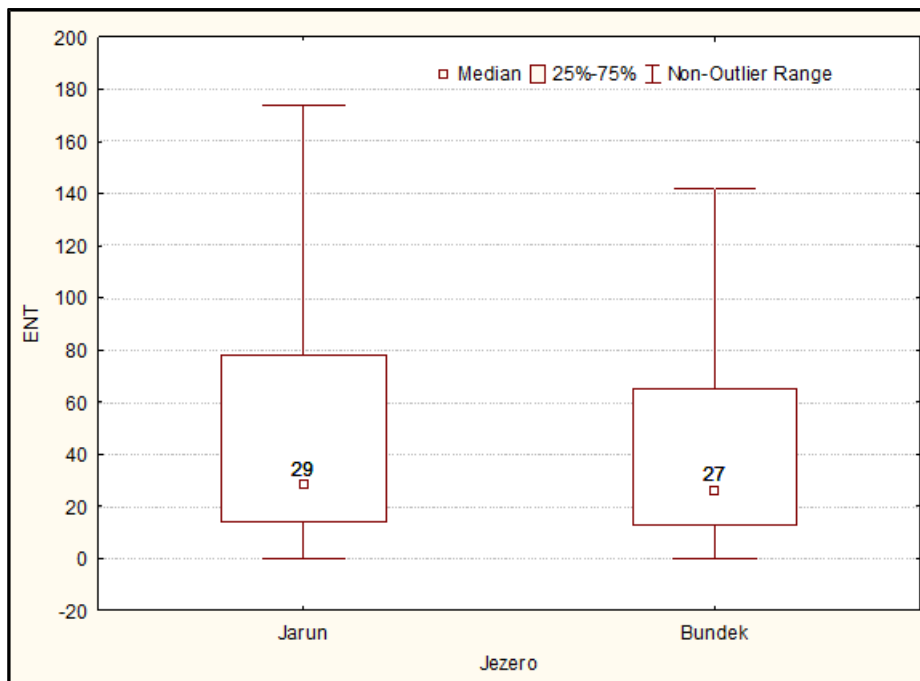
	$T_{zraka}/^{\circ}C$	$T_{zraka}/^{\circ}C$ (DHMZ)	$T_{vode}/^{\circ}C$	<i>E. coli</i>	Enterokoki	Oborine (1dan)	Oborine (3 dana)
$T_{zraka}/^{\circ}C$	-						
$T_{zraka}/^{\circ}C$ (DHMZ)	0,87	-					
$T_{vode}/^{\circ}C$	0,86	0,80	-				
<i>E.coli</i>	- 0,15	- 0,20	- 0,17	-			
Enterokoki	- 0,06	- 0,09	- 0,08	0,52	-		
Oborine (1dan)	- 0,36	- 0,41	- 0,24	0,12	- 0,20	-	
Oborine (3 dana)	- 0,43	- 0,53	- 0,42	0,19	0,253	0,41	-

4.3 Jarun vs Bundek

Kako bi se utvrdilo postoji li statistički značajna razlika između Jaruna i Bundeka u dobivenim vrijednostima *E. coli* i crijevnih enterokoka, proveden je Mann-Whitney U test. Navedenim je testom utvrđeno kako se jezera Bundek i Jarun međusobno statistički značajno razlikuju obzirom na dobivene vrijednosti *E. coli* (M-W U test, $Z=-2,742$, $p=0,006$) (Slika 26), dok statistički značajna razlika između jezera nije utvrđena uzevši u obzir vrijednosti crijevnih enterokoka (Slika 27).



Slika 26. Usporedba Jaruna i Budeka u vrijednostima *E. coli*

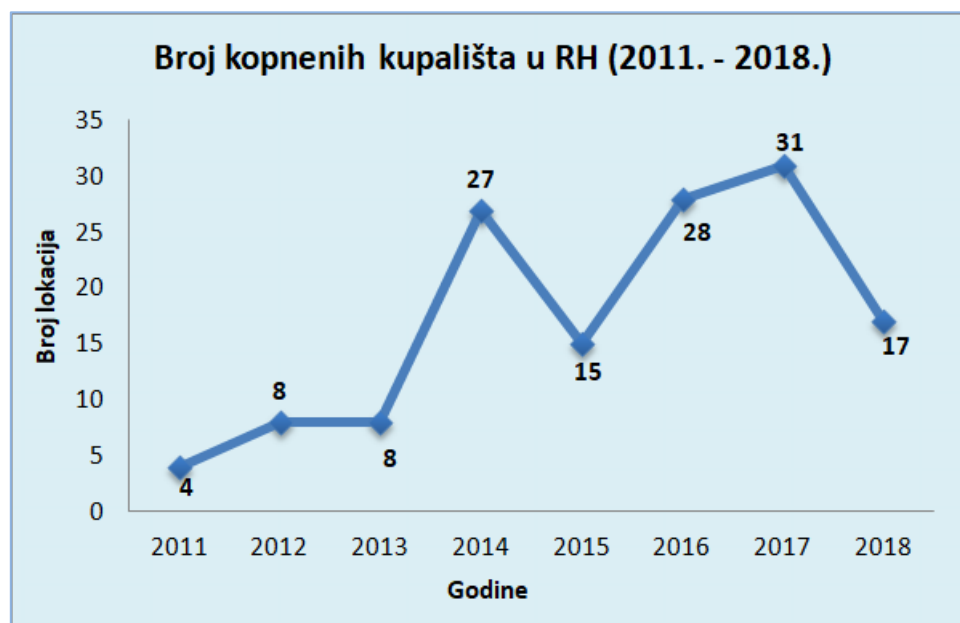


Slika 27. Usporedba Jaruna i Budeka u vrijednostima crijevnih enterokoka

4.4 Kopnena kupališta na razini RH i EU

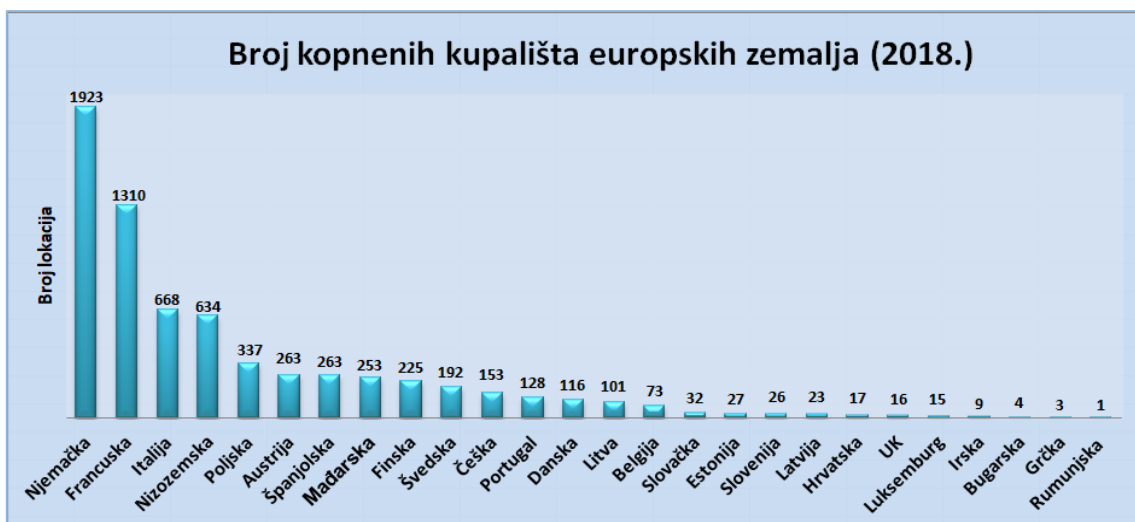
4.4.1 Broj lokacija

Promatrajući razdoblje od 2011. do 2018. godine te broj kopnenih kupališta u Republici Hrvatskoj na kojima se provodio redoviti monitoring tijekom kupališne sezone, vidljivo je da broj navedenih lokacija od godine do godine ili raste ili pada. Tako je najveći broj kopnenih kupališta zabilježen 2017. godine – 31 lokacija, dok je Hrvatska započela monitoring kopnenih voda 2011. godine sa samo 4 lokacije. (Slika 28).



Slika 28. Broj kopnenih kupališta u RH u razdoblju od 2011. – 2018.

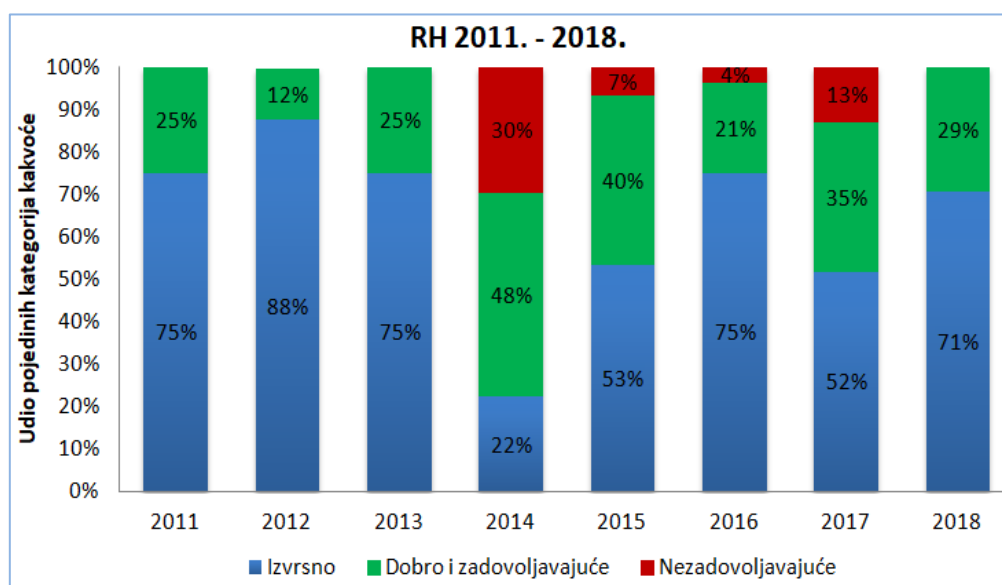
Na razini Europske unije, prema izvješću Europske agencija za okoliš za 2018. godinu, najveći broj kopnenih kupališta u zemljama članicama imaju Njemačka (N = 1 923) i Francuska (N = 1 310), dok s druge strane uvjerljivo najmanje lokacija kopnenih kupališta imaju Grčka (N = 3) i Rumunjska (N = 1). Slika 29 prikazuje broj kopnenih kupališta ostalih država članica Europske unije u 2018. godini.



Slika 29. Ukupan broj kopnenih kupališta u pojedinoj europskoj zemlji u 2018. godini

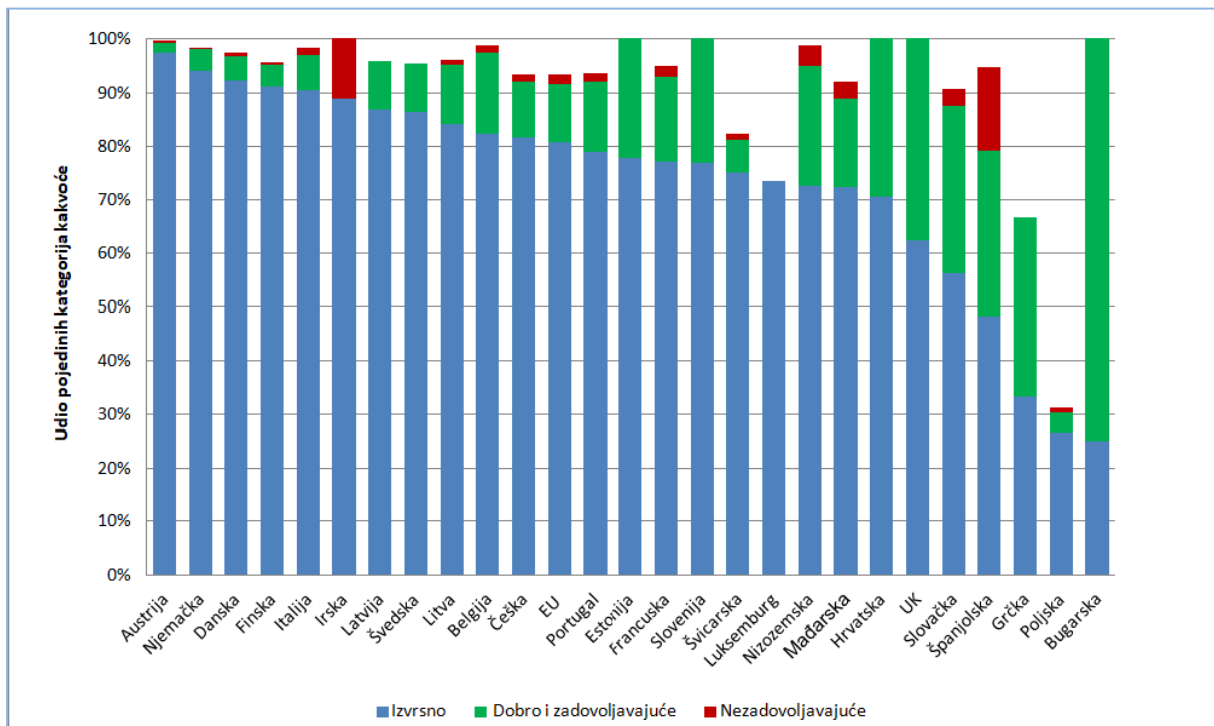
4.4.2 Kakvoća vode

Promatrajući kakvoću vode na kopnenim kupalištima u RH u razdoblju od 2011. do 2018. godine, vidljivo je kako su najbolji rezultati zabilježeni 2012. godine. Iste je godine po završetku kupališne sezone čak 88% kupališta ocjenjeno izvrsnom kakvoćom, 12 % dobrom ili zadovoljavajućom, dok godišnja ocjena niti za jedno kupalište nije bila nezadovoljavajuće kvalitete (Slika 30). S druge strane, najlošiji rezultati zabilježeni su 2014. godine, kada je godišnja ocjena za čak 30% kupališta bila nezadovoljavajuće kvalitete.



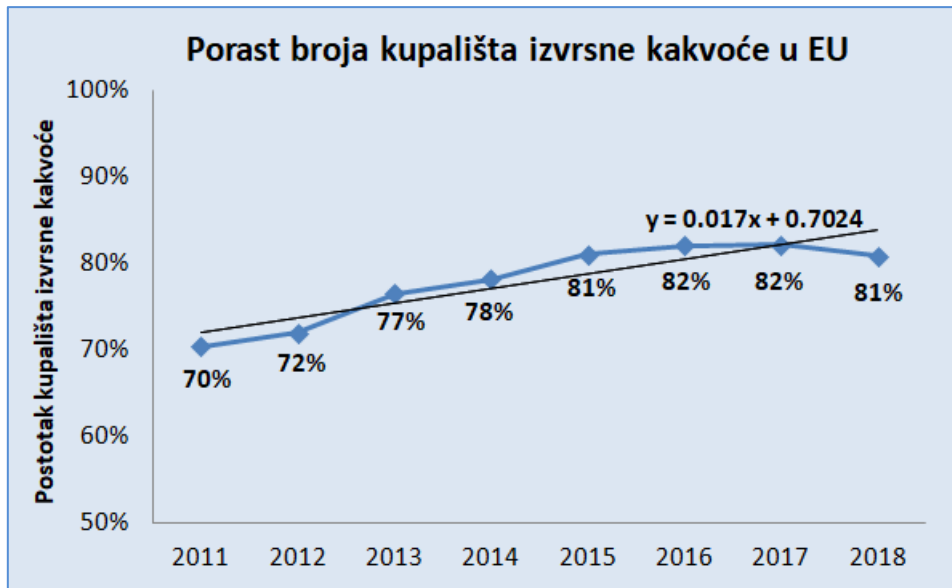
Slika 30. Udio pojedinih kategorija kakvoće vode u RH (2011. – 2018.)

Nadalje, uspoređujući kakvoću vode na kopnenim kupalištima u zemljama Europske unije, prema podacima za 2018. godinu uočljivo je kako je Austrija država čijih je čak 97,3 % kupališta ocjenjeno izvrsnom kakvoćom vode po završetku kupališne sezone. Osim Austrije, preko 90 % kupališta ocjenjenih izvrsnom kakvoćom u 2018. godinu imale su još i Njemačka, Danska, Finska i Italija (Slika 31).



Slika 31. Kakvoća kopnenih voda u zemljama EU (2018.)

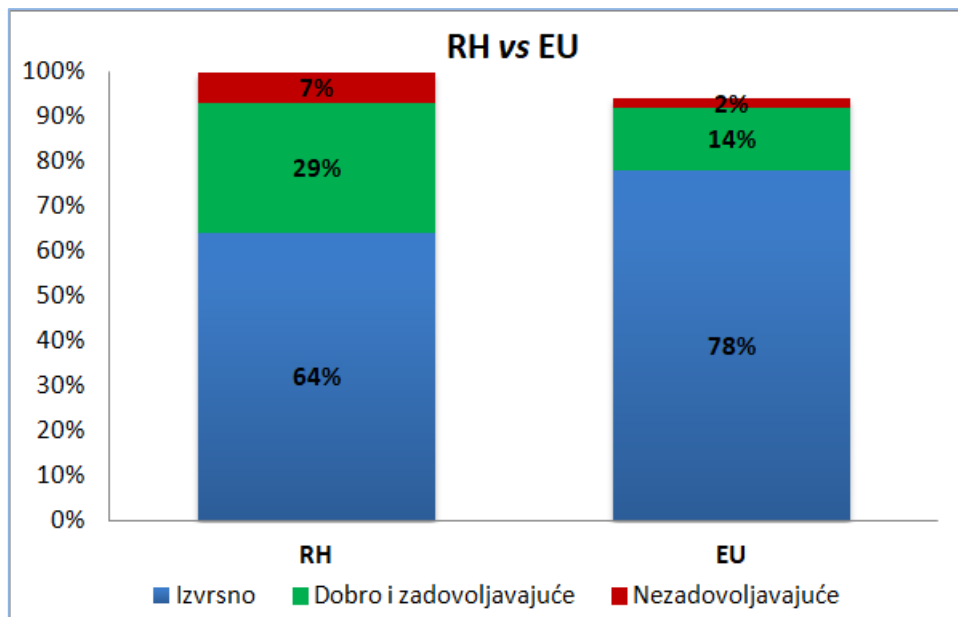
Postotak kupališta izvrsne kakvoće promatrajući prosjek Europske unije (zbroj kupališta izvrsne kakvoće u svakoj državi EU podijeljen s brojem članica zemalja EU) u pravilu se povećavao iz godine u godinu tijekom navedenog vremenskog razdoblja (2011. – 2018.) Tako je primjerice 2011. godine taj postotak iznosio 70,4 %, dok je u posljednjoj promatranoj godini, 2018. taj postotak dosegnuo 80,8 % (Slika 32). U cijelom promatranom razdoblju vidljiv je trend rasta izvrsno ocjenjenih kopnenih lokacija.



Slika 32. Prosječan postotak kupališta izvrsne kakvoće u EU (2011. – 2018.)

4.4.3 RH vs EU

Promatrajući postotke pojedinih kategorija kakvoće kopnenih voda u RH, uzevši u obzir prosjek svih osam godina (2011. – 2018.), vidljive su razlike u odnosu na prosjek država članica Europske unije u istom razdoblju. Prosječni postotak kupališta izvrsne kakvoće u EU tako je iznosio 78 % u odnosu na hrvatskih 64 %. S druge strane, prosječan postotak kupališta nezadovoljavajuće kvalitete u EU iznosio je 2 %, dok je u Hrvatskoj isti postotak iznosio 7 % (Slika 33).



Slika 33. Usporedba kakvoće hrvatskih kopnenih voda u odnosu na europski prosjek

5 RASPRAVA

Provedenom analizom dobivenih vrijednosti mikrobioloških pokazatelja u petogodišnjem razdoblju (2014. – 2018.) na jezeru Jarun, utvrđeno je kako je opterećenje *E. coli* bilo najveće u 2014. godini, koja se ujedno i statistički značajno razlikovala od ostalih godina u promatranom razdoblju. Čak 13 % analiziranih uzoraka prelazilo je granične vrijednosti izvrsne kakvoće vode obzirom na *E. coli*. Navedeni postotak uzoraka odnosio se ponajviše na lokacije uzorkovanja na Velikom i Malom jezeru, što se može pripisati činjenici kako su navedene dvije lokacije opterećenije kupaćima tijekom kupališne sezone od ostalih lokacija na predmetnim jezerima. Te su lokacije najopterećenije bile i vrijednostima crijevnih enterokoka i to najviše 2017. godine, kada je 11 % od ukupnog broja analiziranih uzoraka prelazilo granične vrijednosti izvrsne kakvoće vode, a 4 % uzoraka prelazilo je vrijednosti dobre kakvoće vode, odnosno navedeni su uzorci ocjenjeni nezadovoljavajućom kvalitetom. Podatak o posjećenosti plaža, odnosno opterećenosti istih od strane kupaca od velike je važnosti iz razloga što se bakterije dospjele u jezero talože na dno jezera, a uslijed većeg broja kupaca dolazi do podizanja nataloženog mulja što uvelike utječe na rezultate analiza i u konačnici na koncentracije *E. coli* i crijevnih enterokoka.

Nadalje, promatrajući razdoblje od svibnja do listopada kroz svih pet godina ispitivanja kakvoće vode na Jarunu, ali i na Bundeku, najviše vrijednosti *E. coli* i crijevnih enterokoka zabilježene su u rujnu. Jedan od razloga takvoj pojavi može biti učestalost i količina oborina, kojih u rujnu u pravilu ima više nego u ostatku godine, što za posljedicu može imati ispiranje fekalnog materijala u samo jezero. To se u prvom redu odnosi na fekalije brojnih ptica (u prvom redu labudova) koje obitavaju uz područje zagrebačkih jezera. Jednako tako, u slučaju ekstremne hidrološke situacije postoji opasnost i od propuštanja kanalizacije, čime fekalni materijal potencijalno može dospjeti i u samo jezero.

Promatrajući vrijednosti mikrobioloških parametara dobivenih analizom kakvoće vode za kupanje na tri lokacije jezera Bundek, utvrđeno je kako je 15 % analiziranih uzoraka 2014. godine prelazilo kriterije izvrsne kakvoće vode obzirom na parametar *E. coli*. Međutim, treba uzeti u obzir činjenicu kako se kod jezera Bundek radi o puno manjem broju analiziranih uzoraka na godišnjoj razini u odnosu na jezero Jarun. Stoga i relativno visok postotak uzoraka dobre, a ne izvrsne kakvoće ne znači nužno da je velik broj pojedinačnih uzoraka prelazio graničnu vrijednost za izvrsnu kakvoću vode. Navedeni je postotak promatrajući samo crijevne enterokoke 2015. godine iznosio 17 %.

Povezanost između hidrometeoroloških parametara (temperatura zraka, temperatura vode i količina oborina) i dobivenih vrijednosti promatranih mikrobioloških pokazatelja u vodama zagrebačkih jezera utvrđena je pomoću Spearmanovog koeficijenta korelacije. Dokazana je značajna negativna korelacija između temperatura zraka i vode s vrijednostima *E. coli* ($r_s = -0,2$, $p < 0,05$) i crijevnih enterokoka ($r_s = -0,1$, $p < 0,05$). Drugim riječima, povećanje temperature zraka, a samim time i temperature vode imalo je za posljedicu smanjenje koncentracija *E. coli* i crijevnih enterokoka u vodama Jaruna i Bundeka. Whitman i sur. u svome su istraživanju također proučavali utjecaj vremenskih prilika na koncentracije *E. coli* u jezeru Michigan. Utvrdili su kako su tijekom sunčanih dana koncentracije *E. coli* u vodi padale eksponencijalno s duljinom dana i izloženosti suncu, za razliku od kišnih dana kada je inaktivacija *E. coli* bila smanjena [25]. Također navode kako su vjerojatni mehanizmi inaktivacije *E. coli* putem sunčeva zračenja fotobiološki - oštećenje bakterijske DNA te fotooksidacija - oksidacija staničnih komponenti. Slično vrijedi i za koncentracije crijevnih enterokoka u rekreacijskim vodama. Smatra se kako sunčeva svjetlost uzrokuje direktno oštećenje nukleinskih kiselina ili drugih staničnih komponenti bakterija, što je zapravo i glavni, direktni mehanizam inaktivacije enterokoka sunčevom svjetlosti [26]. S

druge strane, indirektni mehanizmi uključuju stvaranje endogenih i egzogenih kisikovih spojeva [27]. Točnije, radi se s jedne strane o apsorpciji sunčeva zračenja od strane endogenih fotosenzibilizatora, poput primjerice porfirina, bilirubina ili klorofila i stvaranju reaktivnih spojeva koji mogu uništiti vitalne dijelove bakterijske stanice. S druge strane, sunce može biti apsorbirano i putem egzogenih fotosenzibilizatora, kao što su otopljene organske tvari koje potom stvaraju reaktivne spojeve sposobne inaktivirati bakterijsku stanicu [28].

Nadalje, značajna pozitivna korelacija utvrđena je između količine oborina na dan uzorkovanja i *E. coli* ($r_s = 0,1$, $p < 0,05$), a još jača povezanost utvrđena je između trodnevne vrijednosti oborina i oba mikrobiološka pokazatelja, *E. coli* ($r_s = 0,2$) i crijevnih enterokoka ($r_s = 0,3$), uz statističku značajnost $p < 0,05$.

Obzirom na povijest nastanka zagrebačkih jezera Jaruna i Bundeke te na činjenicu kako se prihranjuju podzemnom vodom iz zagrebačkog vodonosnika, veliku ulogu u vodostaju oba jezera ima rijeka Sava. Naime, proučavanjem utjecaja vodostaja Save na vodostaj jezera Jarun dobiven je visok koeficijent korelacije ($r = 0,953$) između vodostaja Save te vodostaja podzemnih voda izmjerenih u neposrednoj blizini jezera Jarun [29]. Također je utvrđeno kako do reakcije porasta vodostaja jezera Jarun na porast vodostaja rijeke Save dolazi unutar 1-2 dana.

Učinak oborina na koncentracije *E. coli* na osam plaža jezera Michigan istraživali su Kleinheinz i sur. U njihovom su istraživanju iz 2009. godine uzorci prikupljeni najkasnije sat i pol nakon što su mjerači zabilježili više od 5mm kiše unutar 24 sata. Istraživanjem je dokazano kako je na šest od osam plaža utvrđena značajna povezanost između količina oborina i povišenih koncentracija *E. coli* u vodama promatranih plaža jezera Michigan [30].

Laureano – Rosario i sur. u svome su istraživanju proučavali utjecaj okolišnih faktora na koncentracije enterokoka u rekreacijskim vodama u San Juanu, Puerto Rico u razdoblju od 2005. do 2015. godine. Također je utvrđena značajna pozitivna korelacija između količina oborina i koncentracija enterokoka u vodama, posebice nakon četiri dana uzastopnih oborina ($r = 0.22$, $p < 0,05$) [31]. Navedeno ukazuje na činjenicu da akumulirane višednevne vrijednosti oborina generalno imaju bolju korelaciju s mikrobiološkim vrijednostima, odnosno da je potrebno određeno vrijeme (najčešće 2-3 dana) da se dostigne puni efekt oborina na kakvoću vode.

Postoji li razlika u vrijednostima mikrobioloških pokazatelja između oba promatrana jezera utvrđeno je pomoću Mann – Whitney U testa. Istim je dokazano kako postoji statistički značajna razlika u vrijednostima *E. coli* između Jaruna i Bundeka. Iako rezultat navedenog testa sugerira kako su veće koncentracije *E. coli* zabilježene na jezeru Bundek, treba imati na umu kako je jezero Bundek površinom puno manje od jezera Jarun te kako se voda uzorkuje na svega tri lokacije unutar samog jezera. Drugim riječima, ukoliko se na jednoj od tri lokacija uzorkovanja na Bundeku ustanovi visoka koncentracija *E. coli*, vrlo je vjerojatno kako će slične vrijednosti biti zabilježene i na ostale dvije lokacije. To nije slučaj kod jezera Jarun, obzirom na puno veću površinu te na čak šesnaest lokacija uzorkovanja odvojenih po pojedinim lokacijama (npr. Veliko jezero, Malo jezero, Otok univerzijade).

Osim pozitivnih učinaka, korištenje površinskih voda u rekreacijske svrhe može također prouzročiti i negativne učinke po ljudsko zdravlje, ukoliko su takve vode mikrobiološki onečišćene. Kontaminacija se najčešće događa migracijom fekalnog materijala iz različitih izvora u samo vodeno tijelo. Takvo zagađenje može dovesti do pojave različitih oblika bolesti te predstavlja javno-zdravstveni problem [32]. Rizik od infekcije veći je kod

pojedinaца koji su učestalije izloženi kontaminiranim vodama, kod osoba koje duže vrijeme borave u vodi, zatim kod pojedinaca kod kojih postoji opasnost od gutanja kontaminirane vode (prije svega djeca i neiskusni plivači) te kod imunokompromitiranih osoba [33].

Iako su bolesti povezane s korištenjem rekreacijskih voda generalno blagog tijeka, velik broj ciljanih epidemioloških istraživanja upućuju na povezanost između korištenja fekalno zagađenih rekreacijskih voda i negativnih posljedica po ljudsko zdravlje (prije svega gatorintestinalne i respiratorne tegobe) [34]. Navedenu povezanost istraživali su i Marion J.W. i sur. na način da su na uzorku od 540 ženskih i 425 muških osoba proučavali povezanost između korištenja jezera East Fork (Ohio) u rekreacijske svrhe i pojave gatorintestinalnih tegoba. Ispitanici su telefonski kontaktirani 8-9 dana nakon korištenja vode na navedenom jezeru te ispitani o eventualnim simptomima. 23 ženske (4 % od ukupnog broja ispitanica) i 25 muških (6 % od ukupnog broja ispitanika) osoba tada je navelo da osjećaju određene gatorintestinalne smetnje [35]. Nadalje, u razdoblju od 1991. do 2007. godine nizozemski nacionalni institut za javno zdravstvo i okoliš zaprimio je 1055 izvještaja o bolestima povezanim s korištenjem rekreacijskih voda. Od tog broja čak 31 % odnosio se na pojavu gastroenteritisa kod osoba izloženih djelovanju kontaminiranih rekreacijskih voda [36].

Prva europska direktiva o kakvoći vode za kupanje (Bathing Water Directive 76/160/EEC) usvojena je 1975. godine, a stupila je na snagu 1976. Kakvoća morskih i kopnenih kupališta prema istoj se uredbi određivala temeljem rezultata analiza na ukupne koliforme, fekalne koliforme, mineralna ulja, površinske aktivne tvari te fenole. Stupanjem na snagu nove europske Direktive iz 2006. godine (Directive 2006/7/EC), a koja se počela primjenjivati 2008. godine, kakvoća vode za kupanje ocjenjuje se temeljem dobivenih rezultata mikrobioloških parametara – *Escherichia coli* i crijevnih enterokoka. Sve države

članice od 2012. godine obvezne su provoditi monitoring kakvoće vode i izvještavati o istom u skladu s navedenom Direktivom [37].

Na razini Republike Hrvatske monitoring, klasifikacija voda za kupanje, upravljanje i informiranje javnosti o kakvoći voda za kupanje propisani su Uredbom o kakvoći voda za kupanje (NN 51/14). Ovom se Uredbom u pravni poredak RH prenijela ranije spomenuta europska Direktiva (2006/7/EC). Hrvatska se, kao i sve zemlje članice EU svake godine obvezuje dostaviti Europskoj komisiji izvješće o rezultatima provedenih analiza voda za kupanje najkasnije do 31. prosinca tekuće godine. Hrvatska je prema Europskoj komisiji počela izvještavati 2011. godine u statusu zemlje kandidata za ulazak u EU, a od 2013. i kao punopravna članica Europske unije.

Uspoređujući broj kopnenih kupališta u RH u razdoblju od 2011. do 2018. godine, najveći broj kupališta na kojima se provodio monitoring kakvoće vode zabilježen je 2017. godine – 31 lokacija. Razlog promjene broja kupališta na godišnjoj razini leži u činjenici kako se svako kupalište koje je na kraju tekuće godine ocjenjeno nezadovoljavajućom godišnjom ocjenom, iduće godine zatvara za kupanje i samim time ne ulazi u službena izvješća o provedenim analizama kakvoće vode. Konkretno, prema izvješćima Hrvatskih voda o kakvoći kopnenih voda za kupanje stoji kako je kopnenih kupališta u RH 2014. godine bilo 27, a 2015. godine 15. Upravo između tog podatka i broja kupališta na Jarunu i Bundecku postoji određena poveznica. Naime, 2014. godine jarunsko Malo jezero (6 lokacija) i Otok univerzijade (2 lokacije) ocjenjeni su nezadovoljavajućom godišnjom ocjenom, što je za posljedicu imalo da je na navedenim kupalištima iduće godine bilo zabranjeno kupanje, što je u konačnici dovelo i do smanjenja ukupnog broja kopnenih kupališta na razini cijele Hrvatske u 2015. godini. Na razini EU u razdoblju 2011. – 2018. nije bilo promjena u broju kopnenih

kupališta europskih zemalja. Listu s uvjerljivo najvećim brojem kupališta za 2018. godinu predvodile su Njemačka (N = 1923) te Francuska (N = 1310). Hrvatska je iste godine bilježila 17 kopnenih kupališta, dok su ih najmanje imali Bugarska (N = 4), Grčka (N = 3) i Rumunjska (N = 1) [38].

Obzirom da kupališta na Jarunu i Bundeku čine najveći dio od ukupnog broja kopnenih kupališta u RH (u 2017. godini 61 % svih kopnenih kupališta), samim time rezultati analiza voda zagrebačkih jezera uvelike utječu i na ukupnu ocjenu kvalitete svih kopnenih kupališta u RH. Tomu u prilog govori i činjenica kako je kvaliteta vode na oba jezera u razdoblju od 2014. do 2018. godine bila najlošija upravo 2014. godine. Jednako tako, kakvoća svih kopnenih voda u RH također je bila najlošija iste godine – 22 % kupališta ocjenjeno je izvrsnom kakvoćom, 48% dobrom i zadovoljavajućom te 30 % nezadovoljavajućom kvalitetom.

U razdoblju od 2011. do 2018. godine postotak kupališta izvrsne kakvoće promatrajući prosjek EU u pravilu se povećavao iz godine u godinu i 2018. godine iznosio je 81 %. Najveći porast broja kupališta izvrsne kakvoće u navedenom razdoblju bilježila je Austrija. U 2011. godini u toj je zemlji postotak kupališta izvrsne kakvoće iznosio 83,5 %, da bi u posljednoj godini promatranog razdoblja (2018.) taj postotak iznosio čak 97,3 %, čime je Austrija ujedno zauzela i prvo mjesto kao europska država s najboljom kakvoćom kopnenih voda u 2018. godini. Usporedbe radi, iste je godine taj postotak kupališta izvrsne kakvoće u Hrvatskoj iznosio 71 %.

Kao što su ranije spomenutom Uredbom o kakvoći vode za kupanje (NN 51/14) regulirane granične vrijednosti pri ocjenjivanju kakvoće kopnenih voda, za morsku su vodu također propisane granične vrijednosti na razini RH i to Uredbom o kakvoći mora za kupanje

(NN 73/08). Navedenom su uredbom granične vrijednosti za sve tri kategorije kakvoće vode (izvrsna, dobra i zadovoljavajuća) strože u odnosu na kriterije za kakvoću kopnenih voda. Drugim riječima, za morsku vodu dozvoljene su znatno manje koncentracije *E. coli* i crijevnih enterokoka pri razvrstavanju vode u pojedinu kategoriju kakvoće. Tako definirani kriteriji u suprotnosti su s izvješćem Europske agencije za okoliš u kojemu stoji kako su priobalna kupališta u pravilu bolje kakvoće od kopnenih, ponajprije radi kapaciteta samopročišćavanja, koji je puno veći u priobalnim područjima u odnosu na kopnena [39]. Slično potvrđuje i istraživanje Karbasdehi i sur. u kojem je dokazano kako se povećanjem koncentracije soli u morskoj vodi linearno smanjuju vrijednosti indikatorskih bakterija [40]. Rozen i Belik u svome su istraživanju također dokazali značajnu negativnu korelaciju između vrijednosti *E. coli* i koncentracije soli u morskoj vodi [41].

6 ZAKLJUČAK

Analiza kakvoće vode zagrebačkih jezera u petogodišnjem razdoblju (2014. – 2018.) pokazala je kako je 2014. godina bila najopterećenija vrijednostima *E. coli* na oba jezera, dok je enterokokima Jarun bio najopterećeniji 2017., a Bundek 2015. godine. Jednako tako, u mjesecu rujnu zabilježene su najviše vrijednosti oba mikrobiološka pokazatelja u vodama zagrebačkih jezera u promatranom razdoblju ispitivanja.

Nadalje, statističkom obradom rezultata utvrđena je negativna korelacija između temperatura zraka i vode s vrijednostima *E. coli* i crijevnih enterokoka. Razlog tome je inaktivacija bakterija pod utjecajem sunčeve svjetlosti, što je potvrđeno i određenim brojem znanstvenih radova na tu temu. Trodnevna količina oborina pokazala je značajnu pozitivnu korelaciju s vrijednostima oba mikrobiološka pokazatelja, što ukazuje na činjenicu kako je potrebno jedno duže vrijeme (2-3 dana) kako bi se postigao puni efekt oborina na kakvoću vode.

Obzirom da kupališta na Jarunu i Bundeku dominiraju u ukupnom broju kopnenih kupališta u RH, broj lokacija na godišnjoj razini koje podliježu monitoringu, ali i ukupna kakvoća vode kopnenih kupališta na razini cijele RH uvelike ovisi o kakvoći vode na zagrebačkim jezerima.

Postotak kopnenih kupališta izvrsne kakvoće u RH (prosječne vrijednosti za razdoblje 2011. – 2018.) još je uvijek ispod europskog prosjeka, a promatrajući pojedinačno godine u navedenom razdoblju, Hrvatska je također svrstana u zemlje lošije kakvoće kopnenih voda. Međutim, u obzir treba uzeti činjenicu da ostale članice EU imaju puno više službenih kopnenih kupališta u odnosu na RH (u 2018. godini Hrvatska je imala 17 lokacija, a primjerice Njemačka čak 1923).

Zaključno, u svrhu zaštite ljudskog zdravlja, ali i očuvanja vodenog okoliša neophodno je sustavno provođenje monitoringa kopnenih voda za kupanje. Nužna je i edukacija javnosti o potencijalno negativnim učincima onečišćenih voda po ljudsko zdravlje, ali i o odgovornosti kupača i posjetitelja prema vodama obzirom da antropogeni utjecaj može u velikoj mjeri negativno utjecati na kakvoću kopnenih voda za kupanje. Nadalje, u cilju smanjenja zdravstvenog rizika korisnika jezera, struka predlaže redovito mehaničko čišćenje površine i odmuljivanje dna jezera. Jednako tako, obzirom da je određeni broj ugostiteljskih objekata smještenih unutar RSC Jarun izgrađen bez odgovarajuće dokumentacije o načinu i mjestu priključenja odvodnje, nameće se zaključak kako postoji potencijalna opasnost od ispuštanja fekalnog materijala iz takvih objekata u samo vodeno tijelo jezera, uzrokujući time direktno onečišćenje voda za kupanje.

7 LITERATURA

1. Jarun – naselje i rekreacijsko športski centar, dostupno na <https://www.zgportal.com/o-zagrebu/povijest-zagrebackih-naselja/jarun/>, pristupljeno 15. veljače 2019.
2. Bundek – gradski park i jezero, dostupno na <https://www.zgportal.com/o-zagrebu/povijest-zagrebackih-naselja/bundek/>, pristupljeno 15. veljače 2019.
3. Povijest zagrebačkih gradskih i prigradskih naselja, kvartova, ulica, parkova..., dostupno na <http://tajnezagreba.blogspot.com/2017/06/povijest-zagrebackih-gradskih-i.html>, pristupljeno 15. veljače 2019.
4. RSC Jarun, dostupno na <http://www.sportskiobjekti.hr/default.aspx?id=117>, pristupljeno 15. veljače 2019.
5. Moskaljov V., Benić N. : Priručnik prema proširenom programu za osobe koje rade na preradi i distribuciji vode za piće. *Zavod za javno zdravstvo grada Zagreba*; 2003. Dostupno na <http://www.zzjzpgz.hr/programi/hig%20min%20-%20prirucnik%20-%20vode%20za%20pice.pdf>, pristupljeno 16. veljače 2019.
6. Analiza vode, interni materijali iz kolegija „Analiza vode“
7. Kolwzan B., Adamiak W., Grabas K., Pawelczyk A. : Introduction to environmental microbiology, Wrocław; 2006.
8. Hrenović J. : Koliformne bakterije, dostupno na <http://e-skola.biol.pmf.unizg.hr/odgovori/odgovor258.htm>, pristupljeno 16. veljače 2019.
9. Indicator: Bathing water quality, dostupno na <https://www.umweltbundesamt.de/en/indicator-bathing-water-quality>, pristupljeno 15. travnja 2019.

10. Leboffe MJ., Pierce BE. A photographic Atlas for the Microbiology Laboratory 4th edition. *Morton*; 2011.
11. Frece J., Markov K. i sur. : Uvod u mikrobiologiju i fizikalno-kemijsku analizu voda. *Inštitut za sanitarno inženjerstvo*; 2015.
12. Uredba o kakvoći voda za kupanje, Narodne novine, br.51/14.
13. Godišnja ocjena kakvoće vode jezera Jarun i Bundek na kraju sezone kupanja 2017.godine. Nastavni zavod za javno zdravstvo dr. Andrija Štampar, Odjel za zdravstvenu ispravnost i kvalitetu voda, dostupno na [http://web.zagreb.hr/Sjednice/2017/sjednice_skupstine_2017.nsf/0/C12581370033D600C12582670045C243/\\$FILE/06%20Prilog%20-%20Godi%20A1nja%20ocjena%20kakvo%20C4%87e%20vode%20jezera%20Jarun%20i%20Bundek%20na%20kraju%20sezone%20kupanja%202017.pdf](http://web.zagreb.hr/Sjednice/2017/sjednice_skupstine_2017.nsf/0/C12581370033D600C12582670045C243/$FILE/06%20Prilog%20-%20Godi%20A1nja%20ocjena%20kakvo%20C4%87e%20vode%20jezera%20Jarun%20i%20Bundek%20na%20kraju%20sezone%20kupanja%202017.pdf), pristupljeno 17.travnja 2019.
14. ISO 9308-3:1998.; Water quality – Detection and enumeration of *Escherichia coli* and coliform bacteria in surface and waste water – Part 3: Miniaturized method (Most probable number) by inoculation in liquid medium
15. ISO 7899-2:2000. Water quality – Detection and enumeration of intestinal enterococci – Part 2: Membrane filtration method
16. Analiza vode, priručnik za vježbe – radni materijal za internu upotrebu
17. Mann – Whitney U test <http://wikiofscience.wikidot.com/technology1:mann-whitney-u-test>
18. APPLICATION OF MANN-WHITNEY U TEST IN RESEARCH OF PROFESSIONAL TRAINING OF PRIMARY SCHOOL TEACHERS
19. Medijan, <http://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?ID=39758>

20. Nancy Topić : Staphylococcus aureus – dodatni pokazatelj kakvoće mora za kupanje, diplomski rad
21. Kruskal Wallis H test; Definition, Examples & Assumptions
<https://www.statisticshowto.datasciencecentral.com/kruskal-wallis/>
22. Neparametrijski testovi
<http://zaf.biol.pmf.unizg.hr/behaviour/Neparametrijski%20%20testovi.pdf>
23. Zdravstveno veleučilište u Zagrebu; Korelacija – vježbe iz statistike
24. Udovičić M. i sur. Što treba znati kada izračunavamo koeficijent korelacije?
 Biochemia Medica, 2007; 17(1):1-138
25. Whitman R.L, Nevers B.M., Korinek C.G., Byappanahalli M.N. Solar and Temporal Effects on *Escherichia coli* Concentration at a Lake Michigan Swimming Beach.
 Applied and Environmental Microbiology, 2004. Vol.70, No 7., P. 4276-4285
26. Byappanahalli M.N., Nevers M.B., Korajkic A., Staley Z.R., Harwood V.J.
 Enterococci in environment. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2012.
 Vol.76, No 4, p.685-706.
27. Boehm A.B., Sassoubre L.M. Enterococci as Indicators of Environmental Fecal Contamination, 2014.
28. Maraccini P.A., Mattioli M.C.M., Sassoubre L.M., Cao Y., Griffith J.F., Ervin J.F., Van De Werfhorst L.C. Solar Inactivation of Enterococci and Escherichia coli in Natural Waters: Effects of Water Absorbance and Depth. Environmental Science & Technology, 2016 50 (10), 5068 – 5076
29. Ratkaj M. Utjecaj vodostaja rijeke Save na vodostaj jezera Jarun. Diplomski rad.
 Rudarsko-geološko naftni fakultet. Zagreb, 2014.

30. Kleinheinz T.G., McDermott C.M., Hughes S., Brown A. Effects of Rainfall on E. coli Concentration at Door County, Wisconsin Beaches. *International Journal of Microbiology*, 2009.
31. Laureano – Rosario A.E., Symonds E.M., Rueda – Roa D., Otis D., Muller – Karger F.E. Environmental Factors Correlated with culturable Enterococci Concentrations in Tropical Recreational Waters: A Case Study in Escambron Beach, San Juan, Puerto Rico. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2017.
32. European Bathing Quality in 2017. Environmental Agency, 2018.
33. King S., Exley J., Winpenny E., Alves L., Henham M.L., Larkin J. The Health Risks of Bathing in Recreational Water – A Rapid Evidence Assessment of Water Quality and Gastrointestinal Illness. RAND Corporation, 2014.
34. Guidelines for safe recreational water environments. Volume 1: Coastal and Fresh Water. Chapter 4 Faecal pollution and water quality. World Health Organization, 2003.
35. Marion J.W., Lee J., Lemeshow S., Buckley T.J. Association of gastrointestinal illness and recreational water exposure at an inland U.S. beach. *Water Research*, 2010.
36. Schets F.M. The microbiological safety of bathing water – Waterborne pathogens beyond bathing water legislation, 2011.
37. European Bathing Quality in 2011. Environmental Agency, 2012
38. European Bathing Quality in 2018. Environmental Agency, 2019
39. European Bathing Quality in 2016. Environmental Agency, 2017

40. Karbasdehi V.N., Dobaradaran S., Nabipour I., Ostovar A., Arfaeinia H., Vazirizadeh A., Mirahmadi R., Keshtkar M., Ghasemi F.F., Khalifei F. Indicator bacteria community in seawater and coastal sediment: the Persian Gulf as a case. *Jurnal of Environmental Health Science & Engineering*, 2017.
41. Rozen Y., Belkin S. Survival of enteric bacteria in seawater. *FEMS Microbiology Reviews*, Volume 25, p. 513-529, 2001.