

# Povezanost fizikalnih i kemijskih pokazatelja kakvoće vode s pojavom bakterija *Legionella* spp. u sustavima opskrbe toplom vodom

---

Rakić, Anita

Doctoral thesis / Disertacija

2014

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split, Faculty of Chemistry and Technology / Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:167:252174>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-03**

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of chemistry and technology - University of Split](#)



SVEUČILIŠTE U SPLITU  
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

Anita Rakić

**POVEZANOST FIZIKALNIH I KEMIJSKIH  
POKAZATELJA KAKVOĆE VODE S POJAVOM  
BAKTERIJA RODA *Legionella spp.* U SUSTAVIMA  
OPSKRBE TOPLOM VODOM**

Doktorski rad

Split, svibanj 2014.

SVEUČILIŠTE U SPLITU  
KEMIJSKO–TEHNOLOŠKI FAKULTET  
POVJERENSTVO ZA OCJENU DOKTORSKOG RADA

Pristupnica Anita Rakić, dipl. ing. predala je izrađeni doktorski rad dana

\_\_\_\_\_ .

Povjerenstvo u sastavu:

Prof. dr. sc. Maja Kliškić, Kemijsko–tehnološki fakultet u Splitu

Izv. prof. dr. sc. Marina Trgo, Kemijsko–tehnološki fakultet u Splitu

Prof. dr. sc. Nives Štambuk-Giljanović, u mirovini, Nastavni zavod za javno  
zdravstvo Županije splitsko–dalmatinske i Medicinski fakultet u Splitu

Izv. prof. dr. sc. Mladen Smoljanović, Nastavni zavod za javno zdravstvo Županije  
splitsko–dalmatinske i Medicinski fakultet u Splitu

Prof. dr. sc. Jelena Perić, Kemijsko–tehnološki fakultet u Splitu.

prihvatilo je izrađeni doktorski rad dana \_\_\_\_\_ .

Obrana doktorskog rada održat će se dana \_\_\_\_\_ .

Predsjednica Povjerenstva:

Prof. dr. sc. Maja Kliškić

SVEUČILIŠTE U SPLITU  
KEMIJSKO–TEHNOLOŠKI FAKULTET

Potvrđuje se Povjerenstvo za obranu doktorskog rada pristupnice Anite Rakić, dipl.ing. u sastavu:

Prof. dr. sc. Maja Kliškić, Kemijsko–tehnološki fakultet u Splitu

Izv. prof. dr. sc. Marina Trgo, Kemijsko–tehnološki fakultet u Splitu

Prof. dr. sc. Nives Štambuk–Giljanović, u mirovini, Nastavni zavod za javno  
zdravstvo Županije splitsko–dalmatinske i Medicinski fakultet u Splitu

Izv. prof. dr. sc. Mladen Smoljanović, Nastavni zavod za javno zdravstvo Županije  
splitsko–dalmatinske i Medicinski fakultet u Splitu

Prof. dr. sc. Jelena Perić, Kemijsko–tehnološki fakultet u Splitu.

Ujedno se potvrđuje da je doktorski rad obranjen dana \_\_\_\_\_.

Dekan:

Prof. dr. sc. Zoran Grubač

UDK: 628.144:556.115"2009/2012"(497.5)

Znanstveno područje:	Tehničke znanosti
Znanstveno polje:	Kemijsko inženjerstvo
Znanstvena grana:	Zaštita okoliša u kemijskom inženjerstvu
Institucija u kojoj je rad izrađen:	Nastavni zavod za javno zdravstvo Županije splitsko–dalmatinske Kemijsko–tehnološki fakultet Sveučilišta u Splitu, Zavod za inženjerstvo okoliša
Voditeljica rada:	Prof. dr. sc. Jelena Perić
Broj stranica:	198
Broj slika:	65
Broj tablica:	41
Broj literaturnih referenci:	130
Broj priloga:	2

Rad je pohranjen u:

- knjižnici Kemijsko–tehnološkog fakulteta u Splitu, Teslina 10/V
- knjižnici Nastavnog zavoda za javno zdravstvo Županije splitsko–dalmatinske, Vukovarska 46
- Sveučilišnoj knjižnici u Splitu, Ruđera Boškovića 31
- Nacionalnoj i sveučilišnoj knjižnici u Zagrebu, Ul. Hrvatske bratske zajednice 4 p.p. 550

Tema rada prihvaćena je na 8. sjednici Fakultetskog vijeća  
Kemijско–tehnološkog fakulteta u Splitu održanoj dana  
27. ožujka 2012. godine.

## SAŽETAK

U sklopu istraživanja putem Ankete su prikupljeni podatci o tehničko–tehnološkim karakteristikama triju hotela i jednog doma za starije i nemoćne osobe smještenih na području Splitsko–dalmatinske županije. Anketa je sadržavala podatke o izvoru vodoopskrbe, vrsti konstrukcijskog materijala razvodne i unutarnje mreže, o sustavu grijanja i tipu bojlera, o vremenu rada svakog objekta, te o potrošnji vode. U razdoblju od 2009. do 2012. godine analizirano je 425 uzoraka tople vode iz sva četiri objekta zajedno. U uzorcima su određeni fizikalno–kemijski pokazatelji (temperatura, pH, koncentracija slobodnog rezidualnog klora, Fe, Zn, Cu, Mn, Ca i Mg), te prisutnost i koncentracija bakterija *Legionella spp.*. Spearmanovim koeficijentom korelacije utvrđene su korelacije fizikalno–kemijskih pokazatelja i tehničko–tehnoloških karakteristika toplovodnih sustava s prisutnošću *Legionella spp.*. Temperatura je bitan čimbenik za razvoj biofilmova i u negativnoj je korelaciji s pojavom *Legionella spp.*. Iznad vrijednosti medijana od 53,10°C *Legionella spp.* je određena samo u dvama uzorcima, što znači da više temperature negativno utječu na kolonizaciju *Legionella spp.*. Dokazano je da slobodni rezidualni klor nije djelotvoran dezinficijens, jer je *Legionella spp.* identificirana u uzorcima bez i sa slobodnim rezidualnim klorom. Metalni ioni prisutni u vodi nastaju kao produkti korozije. Utvrđene su pozitivne korelacije koncentracija Fe i Zn s *Legionella spp.*, dok je dokazano inhibitorno djelovanje veće koncentracije Cu na koncentraciju *Legionella spp.*. U 30,2% uzoraka vode iz toplovodnog sustava s pocinčanim cijevima identificirana je *Legionella spp.*, a u 26,1% iz sustava s plastičnim cijevima. Ova razlika nije značajna, što se objašnjava pozitivnim djelovanjem organskih aditiva na razvoj *Legionella spp.*, a koji dopijevaju u vodu iz građe plastičnih cijevi i gumenih brtvi. Također su i u sustavima s plastičnim cijevima ugrađeni razni metalni dijelovi, koji su podložni koroziji i pridonose povećanoj koncentraciji metalnih iona u vodi. Određen je približno isti broj uzoraka pozitivnih na *Legionella spp.* neovisno o vrsti sustava za pripremu tople vode.

**Ključne riječi:** vodoopskrbni sustav, topla vodovodna voda, korozija, teški metali, biofilm, *Legionella spp.*

## SUMMARY

The research through the survey included data collection on the technical and technological characteristics from three hotels and one home for the elderly and disabled located in the Split – Dalmatia County. The survey included data on water supply source, type of construction material for the distribution and internal networks, heating system and water heater type, working hours of each facility, and water consumption. In the period from 2009 to 2012, 425 hot water samples from all four facilities have been analysed. Physical and chemical parameters (temperature, pH, free chlorine residual concentrations, Fe, Zn, Cu, Mn, Ca and Mg) were determined in the samples, as well as the presence and concentration of bacteria *Legionella spp.*. The Spearman correlation coefficient determined the correlations between the physical and chemical parameters and technical and technological characteristics of heating systems and the presence of *Legionella spp.*. The temperature is an important factor for the development of biofilms and it is in negative correlation with the appearance of *Legionella spp.*. Above the median value of 53.10°C, *Legionella spp.* has been determined in only two samples, which means that higher temperatures negatively affect the colonisation of *Legionella spp.*. It was proven that the free chlorine residual is not an efficient disinfectant, because *Legionella spp.* has been identified in samples with and without the free chlorine residual. Metal ions present in water occur as products of corrosion. Positive correlations between the Fe and Zn concentrations and *Legionella spp.* were established, while the inhibitory effect of a higher Cu concentration on *Legionella spp.* concentration was proven. *Legionella spp.* was identified in 30.2% of the water samples from the heating system with galvanised pipes, as well as in 26.1% of the samples from systems with plastic pipes. This difference is not significant, which is explained by the positive effect of organic additives that enter water from the structure of plastic pipes and rubber seals on the development of *Legionella spp.*. Systems with plastic pipes also have various metal parts, which are subject of corrosion and contribute to an increased concentration of metal ions in the water. Approximately the same number of samples positive to *Legionella spp.* was established regardless on the type of the hot water preparation system.

**Key words:** *water supply system, hot water systems, corrosion, heavy metals, biofilm, Legionella spp.*



*Najprije želim zahvaliti mentorici prof. dr. sc. Jeleni Perić za sve dobronamjerne primjedbe i sugestije iskazane tijekom osmišljavanja teme i izrade ovoga rada, a sve u cilju podizanja njegove znanstvene razine.*

*Draga profesorice, ponosna sam što sam imala priliku biti Vaša studentica.*

*Iskreno zahvaljujem svim kolegama Nastavnog zavoda za javno zdravstvo Splitsko–dalmatinske županije na nesebičnoj pomoći tijekom izvedbe eksperimentalnog dijela rada. Veliko hvala komentorici prof. dr. sc. Nives Štambuk–Giljanović, kolegicama Antoniji Mikrut, dr. med. spec. med. mikrobiologije s parazitologijom i Anni Spomenki Bakavić, dipl. ing. na pruženoj stručnoj i tehničkoj pomoći, te prijateljskoj suradnji pri izradi rada.*

*Zahvaljujem se doc. dr. sc. Luciji Foglar s Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu na pomoći pri radu, pruženoj potpori i stručnim primjedbama.*

*Hvala mojoj obitelji na razumijevanju i na podršci pruženoj prilikom izrade ovoga rada.*

*Anita Rakić*

# SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	1
<b>2. OPĆI DIO</b> .....	5
<b>2.1. Voda i javna vodoopskrba</b> .....	6
<b>2.2. Vodoopskrbni sustav</b> .....	7
2.2.1. Kondicioniranje vode.....	11
2.2.1.1. <i>Dezinfekcija</i> .....	11
2.2.1.1.1. <i>Dezinfekcija klorom i njegovim spojevima</i> .....	12
<b>2.3. Onečišćenja vode unutar vodoopskrbnog sustava</b> .....	15
2.3.1. Korozija u sustavu distribucije vode za piće.....	18
2.3.1.1. <i>Kemijska korozija</i> .....	20
2.3.1.2. <i>Elektrokemijska korozija</i> .....	20
2.3.1.3. <i>Prisutnost iona teških metala u vodi za piće</i> .....	25
2.3.1.3.1. <i>Prisutnost željezovih iona u vodi za piće</i> .....	26
2.3.1.3.2. <i>Prisutnost cinkovih iona u vodi za piće</i> .....	28
2.3.1.3.3. <i>Prisutnost bakrovih iona u vodi za piće</i> .....	28
2.3.1.3.4. <i>Prisutnost manganovih iona u vodi za piće</i> .....	30
2.3.2. Stvaranje kamenca u sustavu distribucije vode za piće.....	30
2.3.2.1. <i>Štetan utjecaj kamenca</i> .....	32
2.3.3. Stvaranje biofilмова u sustavu distribucije vode za piće.....	32
2.3.3.1. <i>Utjecaj čimbenika okoliša na razvoj biofilma u cjevovodu</i> .....	35
2.3.3.1.1. <i>Utjecaj hrapavosti površine cijevi unutar vodoopskrbnog sustava na razvoj biofilma</i> .....	37
2.3.3.1.2. <i>Utjecaj kemijskog sastava, sadržaja hranjivih tvari i sredstava za dezinfekciju, te temperature vode na razvoj biofilma</i> .....	38
2.3.3.1.3. <i>Hidrodinamički uvjeti u vodoopskrbnom sustavu</i> .....	39
2.3.4. Mikrobiološki sastav biofilмова.....	40

2.3.4.1. <i>Legionella spp.</i> .....	40
<b>2.4. Kontrola kakvoće vode za piće</b> .....	44
<b>2.5. Vodoopskrbni sustav Splitsko–dalmatinske županije</b> .....	45
2.5.1. Splitsko–dalmatinska županija.....	45
2.5.1.1. <i>Temeljne značajke vode u Splitsko–dalmatinskoj županiji</i> .....	46
2.5.1.1.1. <i>Vodoopskrbni sustav Split–Solin–Kaštela–Trogir</i> .....	48
2.5.1.1.1.1. <i>Izvor Jadra</i> .....	49
2.5.1.1.2. <i>Vodoopskrbni sustav Makarskog primorja</i> .....	51
2.5.1.1.2.1. <i>Vodozahvat na rijeci Cetini</i> .....	51
<b>3. METODOLOGIJA</b> .....	54
<b>3.1. Tehničko–tehnološke karakteristike sustava opskrbe toplom vodom u odabranim objektima</b> .....	55
3.1.1. Objekt 1.....	56
3.1.2. Objekt 2.....	56
3.1.3. Objekt 3.....	56
3.1.4. Objekt 4.....	56
<b>3.2. Uzorkovanje vode</b> .....	57
<b>3.3. Materijali i kemikalije</b> .....	58
<b>3.4. Instrumentacija i pribor</b> .....	59
<b>3.5. Određivanje fizikalno–kemijskih pokazatelja kakvoće vode</b> .....	60
3.5.1. Određivanje koncentracije slobodnog rezidualnog klora.....	60
3.5.2. Određivanje pH vrijednosti.....	61
3.5.3. Određivanje temperature.....	61
3.5.4. Određivanje koncentracije metalnih iona.....	62
3.5.4.1. <i>Atomska apsorpcijska spektroskopija</i> .....	62
3.5.4.1.1. <i>Određivanje koncentracije metalnih iona tehnikom plamene atomske apsorpcijske spektroskopije</i> .....	64
3.5.4.1.1.1. <i>Postupak analize</i> .....	65

3.5.4.1.1.2. Priprava laboratorijskog posuđa i pribora.....	66
3.5.4.1.1.3. Priprava uzorka vode.....	67
3.5.4.1.1.4. Određivanje umjernih pravaca.....	67
<b>3.6. Određivanje bakterija <i>Legionella spp.</i> .....</b>	<b>67</b>
<b>3.7. Metode statističke obrade eksperimentalnih rezultata.....</b>	<b>70</b>
<b>4. REZULTATI.....</b>	<b>74</b>
<b>4.1. Potrošnja vode unutar objekata.....</b>	<b>75</b>
<b>4.2. Umjerni pravci.....</b>	<b>77</b>
<b>4.3. Određivanje bakterija <i>Legionella spp.</i> .....</b>	<b>79</b>
<b>4.4. Fizikalno–kemijski pokazatelji i <i>Legionella spp.</i> u uzorcima vode...</b>	<b>82</b>
4.4.1. Rezultati ispitivanja u uzorcima tople vode tijekom 2009. godine.....	82
4.4.2. Rezultati ispitivanja u uzorcima tople vode tijekom 2010. godine.....	86
4.4.3. Rezultati ispitivanja u uzorcima tople vode tijekom 2011. godine.....	90
4.4.4. Rezultati ispitivanja u uzorcima tople vode tijekom 2012. godine.....	95
<b>5. RASPRAVA.....</b>	<b>101</b>
<b>5.1. Analiza rezultata fizikalno–kemijskih pokazatelja i</b>	
<b><i>Legionella spp.</i> za sve analizirane uzorke tople vode iz</b>	
<b>vodoopskrbnih sustava četiri objekta na području Splitsko–</b>	
<b>dalmatinske županije.....</b>	<b>102</b>
5.1.1. Korelacija <i>Legionella spp.</i> s temperaturom.....	106
<b>5.2. Tehničko–tehnološke karakteristike objekata.....</b>	<b>110</b>
5.2.1. Analiza rezultata fizikalno–kemijskih pokazatelja s obzirom na vrstu	
cijevi za distribuciju tople vode.....	110
5.2.1.1. Korelacije između fizikalno–kemijskih pokazatelja i <i>Legionella spp.</i> .	116
5.2.2. Analiza rezultata fizikalno–kemijskih pokazatelja kakvoće vode s	
obzirom na vrijeme rada objekata.....	125
5.2.2.1. Korelacije između fizikalno–kemijskih pokazatelja i <i>Legionella spp.</i> .	131

<b>5.3. Analiza rezultata fizikalno-kemijskih pokazatelja i <i>Legionella spp.</i> u vodi iz sustava za distribuciju tople vode po objektima i tromjesečjima rada.....</b>	137
5.3.1. Objekt 1.....	137
5.3.1.1. Analiza rezultata fizikalno-kemijskih pokazatelja po tromjesečjima....	137
5.3.1.2. Korelacije između fizikalno-kemijskih pokazatelja i <i>Legionella spp.</i> po tromjesečjima.....	143
5.3.2. Objekt 2.....	149
5.3.2.1. Analiza rezultata fizikalno-kemijskih pokazatelja po tromjesečjima....	149
5.3.2.2. Korelacije između fizikalno-kemijskih pokazatelja i <i>Legionella spp.</i> po tromjesečjima.....	151
5.3.3. Objekt 3.....	157
5.3.3.1. Analiza rezultata fizikalno-kemijskih pokazatelja po tromjesečjima....	157
5.3.3.2. Korelacije između fizikalno-kemijskih pokazatelja i <i>Legionella spp.</i> po tromjesečjima.....	161
5.3.4. Objekt 4.....	168
5.3.4.1. Analiza rezultata fizikalno-kemijskih pokazatelja po tromjesečjima....	168
5.3.4.2. Korelacije između fizikalno-kemijskih pokazatelja i <i>Legionella spp.</i> po tromjesečjima.....	173
<b>6. ZAKLJUČCI.....</b>	179
<b>7. LITERATURA.....</b>	185
<b>8. PRILOZI.....</b>	195
<b>8.1. Lista simbola.....</b>	196
<b>8.2. Životopis.....</b>	197

# **1. UVOD**

Voda je najvažniji prirodni resurs potreban za opstanak svih živih organizama, za industrijski i tehnološki napredak čovječanstva. Osim dovoljne količine vode za vodoopskrbu, bitna je i njezina kakvoća, te sigurnost svih objekata koji čine funkcionalnu cjelinu vodoopskrbnog sustava: vodozahvat, crpna postaja, uređaji za kondicioniranje (pročišćavanje) vode, vodosprema, glavna i razdjelna vodoopskrbna mreža. Vodoopskrbnu mrežu čine glavni i razdjelni cjevovodi s pripadajućim oblikovnim dijelovima i vodovodnim armaturama, koje služe za ispravno funkcioniranje. U našoj zemlji kakvoća vode za piće propisana je Pravilnikom o zdravstvenoj ispravnosti vode za piće<sup>13</sup>, koji je u suglasju s istovrsnim pravilnicima Europske Unije. Opskrba zdravstveno ispravnim vodom za piće i odgovarajuća sanitacija, temelj su sprječavanja bolesti, koje se prenose onečišćenom vodom. Voda iz izvora (vodozahvata) obradom u uređajima za kondicioniranje postaje fiziološki i toksikološki neškodljiva, odnosno zdravstveno ispravna za piće.

Da bi te svoje karakteristike zadržala na putu do korisnika, neophodni su sigurni i zdravstveno ispravni svi dijelovi vodoopskrbnog sustava, a posebno se to odnosi na konstrukcijske materijale i na održavanje radnih uvjeta. Nestalnost protoka, tlaka, temperature i potrošnje vode, te korozija metalnih cijevi i armatura su neki od čimbenika koji mogu prouzročiti promjene kakvoće vode u vodoopskrbnoj mreži, posebice u sustavima opskrbe toplom vodom. Fizikalni, kemijski i biološki pokazatelji kakvoće vode su međusobno povezani.

Vodovodni sustav se može promatrati kao vrlo složeni kemijsko–biološki reaktor u kojem se zbiva cijeli niz reakcija u vodenoj fazi i na granici faza čvrsto–tekuće–plinovito. Uslijed korozije povećava se u vodi koncentracija teških metala u obliku različitih topljivih spojeva ili se dijelom talože na stjenkama cijevi i armatura kao teško topljive soli. Ovi procesi, uz povišenu temperaturu, mogu pogodovati stvaranju nakupina mikroorganizama u obliku biofilmova na unutrašnjim stjenkama cijevi i drugih dijelova vodoopskrbnog sustava. Stvoreni biofilmovi se teško uklanjaju pri sporom protoku vode i s nedostupnih površina, te potiču dodatnu mikrokorozijsku metalnih stjenka ispod sloja biofilma. Pri turbulentnom strujanju vode, nastali biofilmovi se mogu otkidati i dospijevati u vodu. Organizmi prisutni u biofilmovima često imaju povećanu toleranciju prema biocidima što ima za posljedicu rekontaminaciju vode nakon dezinfekcije i mogućnost za pojavu različitih bolesti.

Jedna od bolesti koja se prenosi preko vodovodnog distribucijskog sustava je legionarska bolest. To je bolest koja se najčešće manifestira kao upala pluća uzrokovana bakterijom *Legionella spp.*. Infekciju ljudi može uzrokovati najmanje 20 vrsta *Legionella spp.*, a najučestaliji uzročnik je *Legionella pneumophila* seroskupine 01. Infekcija se prenosi preko dišnog sustava udisanjem aerosola raspršene zaražene vode, koji se stvara na slavinama i tuševima, bazenima s pjenom, te rekreacijskim bazenima i masažnim kadama, sustavima za ovlaživanje zraka, te preko kondezne vode od klima uređaja i rashladnih tornjeva. Slabiji protok i/ili zadržavanje vode u vodopskrbnom sustavu, kao i mjesta na kojima nastaju različiti muljevi i talozi, pogoduju nastanku, rastu i učvršćivanju biofilma, te razmnožavanju *Legionella spp.* unutar njega. Teže dostupne površine unutar vodoopskrbnog sustava (rubovi cijevi, T – profili vodovodnih cijevi, slijepi završetci) potpomažu nastanku i razvoju biofilmova.

Legionarska bolest je tipični predstavnik ljudskom aktivnošću izazvane bolesti (*engl. man made diseases*). Čovjek je nastojanjima za stvaranjem ugodnijih uvjeta za življenje, u klimatiziranim prostorima i korištenjem vode iz toplovodnih sustava, tehnički omogućio nastanak aerosola čijom inhalacijom je omogućen ulazak bakterija u najmanje kanaliće do plućnih alveola. Bakterije roda *Legionella spp.* postojale su oduvijek, ali je pojava infekcija zabilježena stvaranjem tehničkih uvjeta nastanka aerosola, što je cijena progresa suvremenog doba.

Cilj ovog rada je ispitati tehničko–tehnološke, fizikalne i kemijske čimbenike, koji utječu na stvaranje biofilmova i na kolonizaciju *Legionella spp.* u vodovodnim sustavima. Ovi rezultati mogu biti od značaja za razradu i planiranje preventivnih mjera za smanjenje opasnosti od pojave legionarske bolesti u objektima od javnog značaja. S obzirom na navedeno prikupit će se informacije o konstrukcijskom materijalu vodovodnih cijevi razvodne mreže i sustava cijevi za distribuciju tople vode ispitivanih objekata, podatci o vremenu rada objekata (stalno ili sezonski otvoreni), o potrošnji i sustavu grijanja vode, te će biti ispitan njihov utjecaj (pojedinačno i sinergijski) na prisutnost *Legionella spp.*.

Promjene kakvoće vode pratit će se određivanjem temperature, pH, koncentracije slobodnog rezidualnog klora, Fe, Zn, Cu, Mn, Ca i Mg, te bakterija *Legionella spp.* u razdoblju od 2009. do 2012. godine. Eksperimentalni podatci će se statistički obraditi i



utvrditi korelacije između fizikalno–kemijskih pokazatelja vode i tehničko–tehnoloških karakteristika vodoopskrbnog sustava s pojavom *Legionella spp.*.

## **2. OPĆI DIO**

## 2.1. Voda i javna vodoopskrba

Održivi razvoj postao je najveći izazov 21. stoljeća u nacionalnim i međunarodnim okvirima s ciljem osiguranja opstojnosti života na Zemlji. Njegova globalna povezanost najviše se ogleda u potrebi opskrbe vodom i hranom za neprekidno rastuće svjetsko stanovništvo. Tri su fiziološko–ekološka čimbenika bitna za egzistiranje i zdravstveno stanje populacije: zrak, voda i hrana<sup>1</sup>. Zdravi okoliš je jedan od temeljnih preduvjeta kvalitete života čovjeka i očuvanje njegova zdravlja. Zato je zaštita prirodnih resursa od zagađenja od izuzetne važnosti, kao i neprekidno praćenje njihove kakvoće i identificiranje mogućih onečišćenja i njihovog štetnog djelovanja na zdravlje.

Voda je multifunkcionalni resurs, prirodno i gospodarsko dobro. U prirodi se nalazi u neprekidnom kružnom toku. Zbog isparavanja i kondenzacije vodno gospodarstvo ima tri značajne komponente obnovljivosti: količina, kakvoća, energija. Istovremeno, tijekom hidrološkog ciklusa, prolazeći kroz atmosferu i tlo voda raspršuje i/ili otapa različite štetne tvari, čime se onečišćuje.

Briga o očuvanju kakvoće vode je izuzetno važna, jer je voda potrebna za opstanak svih živih organizama, kao i za industrijski i tehnološki napredak čovječanstva. Nedovoljna količina vode može biti ograničavajući čimbenik u razvoju društvenih i gospodarskih djelatnosti<sup>2</sup>. Voda u ljudskom tijelu služi kao podrška probavi hrane, apsorpciji, prijenosu hranjivih tvari, te za uklanjanje toksina i štetnih tvari iz tijela. Svjetska zdravstvena organizacija (WHO) vodu za potrebe domaćinstva definira kao vodu koja se koristi za sve uobičajene potrebe domaćinstva, uključujući potrošnju za održavanje higijene i pripravu hrane<sup>3</sup>.

Problem vode postaje značajan kada se govori o vodi za piće jer je sve više izvorišta za vodoopskrbu zagađeno, a njihova je rasprostranjenost i dostupnost neravnomjerna u odnosu na potrebe. Ukoliko je neodgovarajuća opskrba vodom za piće i uz to loše mjere sanitacije, može doći do širenja različitih bolesti.

Voda za piće je voda koja je bezbojna, bistra, bez mirisa, svjež a okusa, temperature 7 – 12°C, a tehnički prikladna je ona voda koja ne izaziva inkrustracije na cijevima i kotlovima i ne nagriza dijelove instalacija. Kakvoća vode ovisi ne samo o

samom izvorištu već i o postupcima pročišćavanja (kondicioniranja), te o svim objektima i konstrukcijskim materijalima koji čine funkcionalnu cjelinu vodoopskrbnog sustava<sup>4</sup>. Osim toga, voda mora biti i stalno zaštićena od kvarenja i zagađenja koje može nastati tijekom vremena uslijed dotrajalosti objekata i instalacija, kao i zbog slučajno ili namjerno izazvanog kvara<sup>5</sup>.

## 2.2. Vodoopskrbni sustav

Vodoopskrbni sustav predstavlja sustav objekata, postrojenja i uređaja koji su u funkciji vodoopskrbe i osiguranja dovoljne količine čiste i zdravstveno ispravne vode za piće na što ekonomičniji način. Kakvoća i zdravstvena ispravnost vode za piće ovisi o objektivnim i subjektivnim okolnostima na crpilištu i o stanju razvodne mreže od izvorišta do krajnjeg potrošača<sup>6</sup>.

Objektivne okolnosti obuhvaćaju:

- poštivanje odredbi Pravilnika o uvjetima za utvrđivanje zona sanitarne zaštite izvorišta<sup>7</sup>
- karakteristike i svojstva tla kroz koje voda prolazi do samog vodocrpilišta
- konstrukcije vodoopskrbnog sustava (način crpljenja, primijenjena tehnologija obrade i transport vode do potrošača).

Subjektivne okolnosti obuhvaćaju:

- zdravstveno stanje, osposobljenost i iskustvo, te profesionalnu etičnost osoblja koje radi na vodoopskrbnom sustavu
- ekološku svijest svih korisnika.

Za sigurnost vodoopskrbnog sustava treba osigurati:

- potpunu i trajnu nepropusnost vodovodnog sustava, da bi se spriječili gubici i zagađenja vode za piće. Do propusnosti vodovodne mreže najčešće dolazi na spojevima, bilo zbog nestručne izvedbe spoja, bilo zbog starenja spojnog materijala. Česti uzrok propuštanja, osobito kod

starijih metalnih cjevovoda je pojava korozije uslijed djelovanja tla ili vode.

- sanitarnu ispravnost vodovoda korištenjem fiziološki i toksikološki neškodljivih konstrukcijskih materijala, odobrenih od ovlaštenih institucija.

Vodopskrbni sustav (Slika 2.1.) čine sljedeće glavne skupine objekata: vodozahvati, crpne stanice, uređaji za pročišćavanje (kondicioniranje) vode, vodospreme, vodopskrbna mreža.



Slika 2.1. Shematski prikaz vodopskrbnog sustava<sup>8</sup>.

**Vodozahvati** su građevine kojima se voda zahvaća (kaptira) iz prirodnih izvorišta. Izbor izvorišta određuje u velikoj mjeri karakter vodopskrbnog sustava, te time investicijske i pogonske troškove. Stoga je taj korak u planiranju vodopskrbnog sustava jedan od najsloženijih i najodgovornijih zadataka<sup>9</sup>. Osnovni pokazatelji vrijednosti izvorišta su izdašnost, odnosno količina i kakvoća vode. Pri izboru izvorišta treba kroz dulje razdoblje pratiti kemijski sastav i druge pokazatelje kakvoće vode. Izvorište vode za vodopskrbu treba osigurati:

- potrebnu količinu kvalitetne vode
- stalnost i pouzdanost vodoopskrbe
- sanitarno–higijensku sigurnost kakvoće vode
- što manje investicijske i pogonske troškove
- uklapanje u vodno gospodarenje šireg područja.

*Crpne stanice* crpe i potiskuju vodu od izvorišta do mjesta kondicioniranja, spremanja, potrošnje kao i između pojedinih objekata vodoopskrbnog sustava.

*Kondicioniranje vode* ima za cilj ukloniti postojeća onečišćenja i smanjiti koncentraciju moguće prisutnih štetnih tvari ispod maksimalno dopuštenih koncentracija. Obradom sirove vode iz izvora (vodozahvata) različitim procesima i postupcima u uređajima za pročišćavanje, voda postaje fiziološki i toksikološki neškodljiva, odnosno pogodna za piće. Da bi se postigla zahtijevana kakvoća vode, uređaji moraju imati optimalne hidrauličke i tehnološke karakteristike s mjernom i upravljačkom tehnikom.

*Vodospreme* su građevine u sustavu vodoopskrbe koje imaju funkciju osiguranja zalihe vode radi ujednačavanja oscilacija u potrošnji vode, osiguranja sigurnosne zalihe vode za vrijeme prekida dotoka u vodospremu i osiguranja požarne zalihe vode. Također, definiranjem visinskog položaja vodospreme (visinske i niske vodospreme) i razine vode u vodnim komorama spram potrošača, osigurava se zahtijevana razdioba tlakova u vodovodnoj mreži.

Osnovni funkcionalni elementi vodosprema su: vodna (rezervoarska) komora i zasunska (manipulativna) komora. Vodne komore služe za spremanje rezervnih količina vode i u njima se mora osigurati cirkuliranje vode i zraka (provjetravanje)<sup>6,9</sup>. Zasunska komora služi za smještaj vodovodnih (manipulativnih) armatura. Dovodni i odvodni cjevovodi moraju proći kroz zasunsku komoru. U zasunskoj komori se nalaze mjerni instrumenti i kroz nju prolazi preliv da ne bi došlo do prelijevanja vode preko pregradnih zidova, te ispust kojim se osigurava pražnjenje vodne komore.

Za izgradnju vodospreme ranije se koristila opeka i lomljeni kamen, a danas se koriste armirani beton, prednapeti beton i čelik. Bez obzira na građevni materijal i

konstrukcijsko rješenje, vodosprema mora biti vodonepropusna kako bi mogla očuvati kakvoću vode.

**Vodoopskrbna mreža** – Na kakvoću vode za piće utjecaj imaju mnogi čimbenici koji proizlaze iz stanja u kakvom se nalazi razdjelna vodoopskrbna mreža. Da bi voda poslije dezinfekcije zadržala svoje karakteristike na putu do korisnika, neophodni su sigurne i zdravstveno ispravne vodovodne instalacije. Pravilnikom o uvjetima u pogledu zdravstvene ispravnosti predmeta opće uporabe koji se mogu stavljeti u promet, određene su karakteristike materijala koji se mogu koristiti u vodovodnim sustavima<sup>10</sup>. Izbor materijala za ugradnju u vodoopskrbne sustave složeni je problem, koji podrazumijeva vrlo dobro poznavanje, kako uvjeta montaže i eksploatacije buduće vodovodne mreže, tako i karakteristike svih raspoloživih materijala. Najznačajniji ciljevi svakog planiranja vodovodne mreže svakako su sigurnost i ukupna ekonomičnost mreže. Vodoopskrbnu mrežu čine glavna (magistralna) i razdjelna (distributivna) vodovodna mreža, odnosno cjevovodi s pripadajućim fazonskim komadima i vodovodnim armaturama, koji služe za ispravno funkcioniranje sustava i očuvanje kakvoće vode do potrošača<sup>6,9</sup>.

Cjevovodi glavne mreže mogu biti dovodni (između izvorišta i uređaja za kondicioniranje vode ili između uređaja za kondicioniranje i vodospreme) i opskrbni (između vodospreme i naselja, odnosno razdjelne mreže), te dovodno–opskrbni (za slučaj vodoopskrbnog sustava s protuvodospremom (kontrarezervoarom). Dakle, cjevovodi služe za dovod i distribuciju vode za vodoopskrbu. Izrađuju se od lijevanog željeza, nodularnog lijeva, nehrđajućeg čelika, azbest-cementa, prednapregnutog betona, armiranog betona i polimernih (plastičnih) materijala kao što su: polivinil–klorid (PVC), polietilen visoke gustoće (HDPE), polipropilen (PP) i polibuten (PB)<sup>11</sup>.

Fazonski komadi služe za savladavanje čestih promjena pravaca, te izvođenje grananja cijevnih vodova. Najčešće se proizvode tvornički od lijevanog željeza, rjeđe od drugih materijala (čelika, azbest–cementa ili polimera).

Vodovodne armature su različiti uređaji koji se koriste za ispravno funkcioniranje, upravljanje i održavanje vodovodne mreže, a istih su nazivnih promjera i tlakova kao i vodovodne cijevi<sup>12</sup>. Postoje tri vrste vodovodnih armatura: armature za zatvaranje i

regulaciju, armature za uzimanje vode i zaštitne armature<sup>6,9</sup>. Izrađuju se od lijevanog željeza i čelika.

Uređaji za opskrbu toplom vodom dijelovi su unutarnjeg vodovoda objekta. Prema dosegom djelovanja dijele se na *lokalne*, *centralne* i *daljinske sustave*, a vrsta energije koju koriste mogu biti čvrsta goriva (drvo, ugljen), tekuća goriva (ulje za loženje) i električna energija. Kod centralnih sustava, prema načinu proizvodnje tople vode, razlikujemo: *akumulacijske*, *protočne* i *kombinirane zagrijače*. Kod akumulacijskih sustava centralnog opskrbljivanja toplom vodom, veća količina vode se zagrije, pa se zatim troši<sup>5</sup>.

### **2.2.1. Kondicioniranje vode**

Sirova voda, odnosno voda koja se preko vodozahvatnih građevina uzima za vodoopskrbu nikad nije potpuno čista. Ona uvijek sadrži, manje ili više, različitih otopljenih i/ili raspršenih tvari, pa se različitim procesima i operacijama treba obraditi da bi se dobila voda pogodna za piće u skladu s Pravilnikom o zdravstvenoj ispravnosti vode za piće<sup>13</sup>. U praksi priprema vode za piće najčešće obuhvaća taloženje, koagulaciju/flokulaciju, filtraciju, dezinfekciju, te prema potrebi posebne metode i procese.

#### **2.2.1.1. Dezinfekcija**

Dezinfekcija je zadnji, a ponekad i jedini stupanj koji se provodi pri kondicioniranju vode. Prvenstveni cilj dezinfekcije je uništavanje infektivnih mikroorganizama (bakterija, virusa i protozoa), zatim oksidacija anorganskih i organskih tvari, te uklanjanje okusa i mirisa vode.

Prolaskom vode kroz operacije taloženja i filtracije znatno se smanjuje količina mikroorganizama u vodi, što ne znači da su oni potpuno uklonjeni. Zato se za daljnje uklanjanje mikroorganizama primjenjuje postupak dezinfekcije<sup>14</sup>. Dezinfekcijom se ne postiže potpuno uništenje svih živih mikroorganizama kao npr. sterilizacijom, ali se voda u mikrobiološkom smislu dovede u stanje zdravstveno ispravne vode za piće. Za



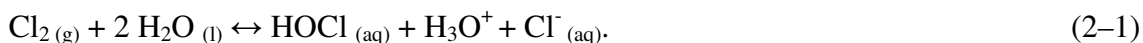
dezinfekciju mogu se primijeniti toplinske, fizikalne (ultraljubičasto zračenje, ultrafiltracija) i kemijske metode (jod, ozon, klor, klorov dioksid). Najčešće sredstvo za dezinfekciju vode za piće je klor.

#### 2.2.1.1.1. Dezinfekcija klorom i njegovim spojevima

Klor i njegovi spojevi najčešće se upotrebljavaju kao sredstva za dezinfekciju vode. Najrašireniji postupak dezinfekcije vode je plinovitim klorom i provodi se putem tzv. klorinatora. Uz dezinficirajuće djelovanje, klor djeluje i kao jaki kemijski oksidans, pa se kloriranjem uklanjaju prisutne anorganske ( $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ) i organske tvari (aminokiseline, ugljikovodici, bjelančevine). Koncentracija klora potrebna za dezinfekciju vode, najviše ovisi o ukupnoj organskoj i anorganskoj tvari u vodi, o pH i temperaturi vode, vremenu kontakta, te o molnom omjeru klora i amonijaka.

Uvođenjem elementarnog klora ili njegovih spojeva u vodu nastaje aktivna komponenta, hipokloritna kiselina prema sljedećim reakcijama:

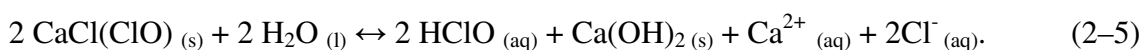
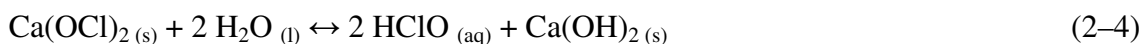
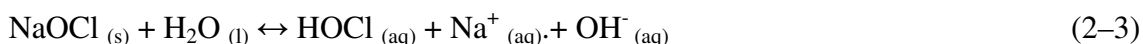
*Elementarni klor:*



Hipokloritna kiselina ionizira se do uspostave ravnoteže prema reakciji:



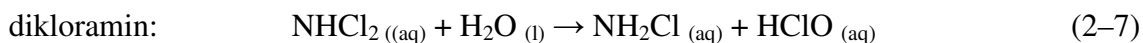
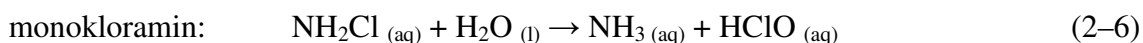
*Spojevi klora:*



Hipokloritna kiselina i hipokloritni ion čine slobodan rezidualni klor u vodi. Mikrobicidno djelovanje hipokloritne kiseline se zbiva prodiranjem HClO kroz opne stanice mikroorganizama gdje se veže s enzimom dehidrogenazom, inaktivirajući je i remeteći metabolizam glukoze u stanici.

Problem dezinfekcije klorom se javlja ukoliko voda sadrži organske spojeve. Tada se stvaraju organoklorini spojevi (trihalometani) kao nusprodukti dezinfekcije vode. Trihalometani su supstance sa snažnim iritirajućim djelovanjem na respiratorni sustav i sluznice nosa, grla i oči<sup>15,16</sup>. Trihalometani su i jaki biocidi, posebno za zooplanktone, pa su opasni u malim koncentracijama u prirodnim vodama. Maksimalno dopuštena koncentracija ukupnih trihalometana sukladno Pravilniku<sup>13</sup> u vodi za piće je 100 µg/l.

Dodatkom klora vodi koja sadrži amonijak, amonijak reagira s hipokloritnom kiselinom stvarajući mono-, di- i trikloramine, koji naknadno djeluju mikrobicidno stvarajući HClO prema reakcijama:



Koji će od navedenih triju spojeva nastati ovisi najviše o odnosu klora i amonijaka, njihovom vremenu kontakta, pH vrijednosti i temperaturi.

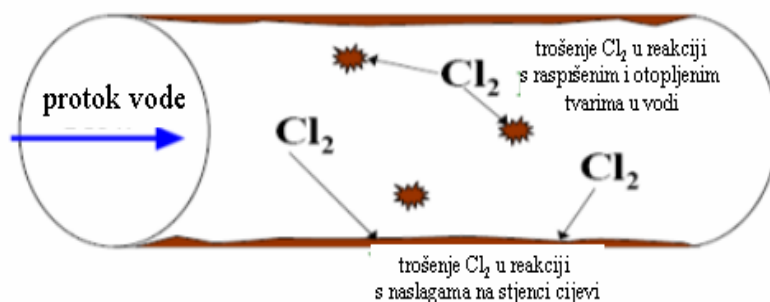
Po provedenom kloriranju, klor u vodi za piće može biti u dvije forme i to kao:

- vezani rezidualni klor kao kloramini, ako je u vodi prisutan amonijak
- slobodni rezidualni klor, koji ostaje u vodi nakon dezinfekcije u obliku hipokloritne kiseline i hipokloritnog iona<sup>15</sup>.

Nakon provedene dezinfekcije, u vodoopskrbnom sustavu, radi osiguranja kakvoće vode i zaštite zdravlja, treba održavati „zaštitni“ slobodni rezidualni klor u distribucijskom sustavu. Pravilnik o zdravstvenoj ispravnosti vode za piće<sup>13</sup> propisuje maksimalno dopuštenu koncentraciju slobodnog rezidualnog klora od 0,5 mg Cl<sub>2</sub>/l.

Ovisno o dizajnu vodospreme i dinamici korištenja vode, voda u vodospremi može biti pohranjena dulje vremensko razdoblje što povećava mogućnost utroška slobodnog rezidualnog klora i možebitni razvitak mikroorganizama. Stoga je nadzor i kontrola vode u vodospremi, važan čimbenik za održavanje sigurne opskrbe s vodom za piće putem vodovodnih distribucijskih sustava<sup>17,18</sup>.

Također, u sustavu vodoopskrbnih cjevovoda, odnosno u sustavu cijevi kojima se transportira voda, u ventilima, slavinama i drugim priključcima slobodni rezidualni klor se troši u reakcijama s moguće prisutnim onečišćujućim tvarima. Kao što je prikazano na Slikama 2.2. i 2.3., klor se može trošiti u reakcijama s raspršenim i otopljenim tvarima u vodi, različitim anorganskim i organskim talozima i biofilmovima koji se stvaraju na stjenkama cjevovoda<sup>19</sup>.



Slika 2.2. Shematski prikaz trošenja slobodnog rezidualnog klora u vodovodnoj cijevi<sup>19</sup>.



Slika 2.3. Shematski prikaz djelovanja slobodnog rezidualnog klor na biofilm<sup>20</sup>.

### 2.3. Onečišćenja vode unutar vodoopskrbnog sustava

Tijekom rada vodoopskrbnog sustava može doći do gubitaka vode, smanjenja tlaka odnosno protoka, do pogoršanja kakvoće vode zbog povećanja koncentracije različitih organskih, anorganskih ili organometalnih spojeva, te onečišćenja s različitim mikroorganizmima. Sve ove promjene mogu biti posljedica interakcija između vode i sastojaka u vodi sa stjenkama cijevi i armatura, te zbog različitih fizikalnih, kemijskih i bioloških reakcija u samoj vodi tijekom njezinog putovanja od ulaza u vodoopskrbni sustav do potrošača.

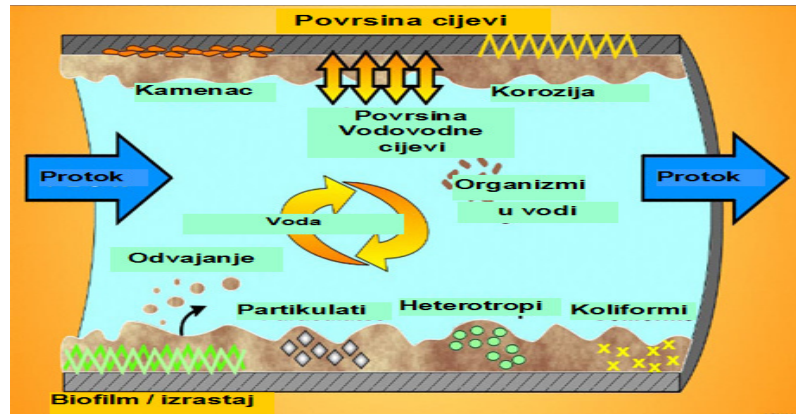
Promjene kakvoće vode mogu biti većeg ili manjeg obima, npr. nastanak naslaga ili pak mulja što doprinosi lošem mirisu i okusu vode, te samim tim i upitnoj zdravstvenoj ispravnosti vode za piće. Navedene pojave ovise o različitim čimbenicima: o naslagama sedimenta na stjenkama (različiti oksidni i oksihidroksidni produkti korozije, vodeni kamenac, organski sedimenti), protoku vode, "starosti" vode, o dinamici korištenja vode, temperaturi vode, pH vrijednosti i tvrdoći vode, o sredstvu za dezinfekciju i dr.<sup>21,22</sup>.



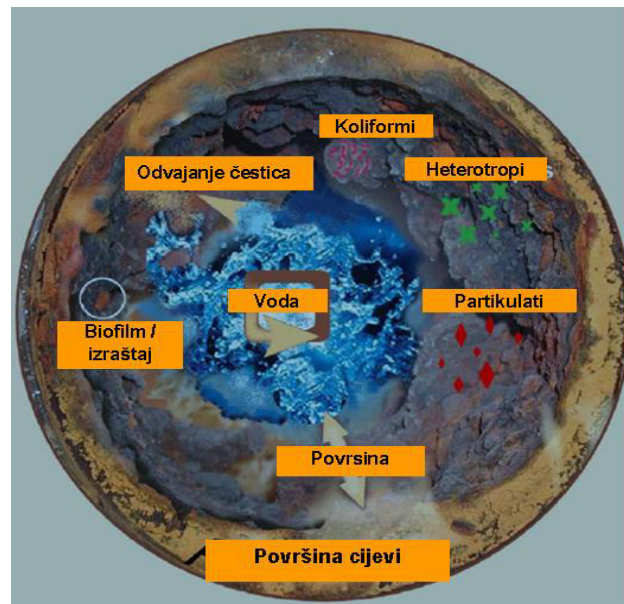
Slika 2.4. Inkrustacije željezovih oksida<sup>23</sup>.

Unutar cjevovoda se s vremenom stvaraju različiti talozi i produkti korozije. Na ove pojave najviši utjecaj ima temperatura, pH, tvrdoća i drugi kemijski nutrijenti vode, te konstrukcijski materijal cjevovoda kojim se voda distribuira do potrošača. Prisutnost korozije u vodoopskrbnom sustavu povećava raspoloživu površinu za kolonizaciju mikroorganizama i stvaranje biofilмова.

Mnogi od navedenih čimbenika utječu i na biološku stabilnost vode prvenstveno zbog stvaranja biofilma u kojemu se pod određenim uvjetima mogu pojaviti bakterije roda *Legionella species (Legionella spp.)*<sup>24</sup>. Stoga, vodoopskrbni sustav treba promatrati kao jednu posebnu biocenozu, jedan vrlo složeni kemijsko–biološki reaktor u kojem se zbiva cijeli niz međusobno povezanih reakcija Slika 2.5. a) i b)<sup>25-29</sup>.



a)



b)

Slika 2.5. Shematski prikaz uzdužnog a) i poprečnog presjeka b) vodovodne cijevi kao kemijsko–biološkog reaktora<sup>25</sup>.

Dakle, najčešći uzroci onečišćenja vode za piće u vodoopskrbnom sustavu su:

- korozija metalnih cjevovoda i armatura
- taloženje kamenca
- stvaranje biofilмова na unutrašnjim stjenkama vodovodnih cijevi.

### 2.3.1. Korozija u sustavu distribucije vode za piće

Korozija unutar vodovodnog distribucijskog sustava, može izazvati propuštanje vode, gubitak kapaciteta i pogoršanje kemijske i mikrobiološke kakvoće vode za piće<sup>30</sup>.

Korozija predstavlja proces nenamjernog razaranja konstrukcijskog materijala fizikalnim, kemijskim i biološkim djelovanjem okoliša, pri čemu se mijenja struktura materijala od površine prema unutrašnjosti.



Slika 2.6. Izgled korodiranih dijelova različitih metala koji su bili izloženi djelovanju istih elektrolita<sup>31</sup>.

Na proces korozije, metalnih dijelova unutar vodoopskrbnog sustava, utječe niz vanjskih i unutarnjih čimbenika:

- *vrsta metala* – manje plemeniti metali lakše oksidiraju u vodi. Neki metali (Pb, Zn, Al) na površini stvaraju teško topljive spojeve oksida, koji predstavljaju barijeru za daljnju koroziju. Koncentracija metalnih iona u vodi u tom je slučaju ovisna o topljivosti metalnog oksida
- *pH vrijednost vode* – metali i njihovi oksidi lakše se otapaju u kiselijim vodama
- *kapacitet pufera* – ako odnos  $H_2CO_3$  i Ca nije stehiometrijski, tj. ako je u vodi prisutna slobodna  $H_2CO_3$ , manji je kapacitet pufera i jače je izraženo otapanje metala

- *sadržaj  $Cl$  i  $SO_4^{2-}$  iona* – visoki sadržaj ovih iona ima posebno veliki utjecaj na postojanost cijevi od legiranih čelika, aluminija, bakra i cijevi od pocinčanih materijala
- *kontakt s drugim metalima* – ako su cijevi za distribuciju vode izrađene od različitih metala ili se vrši spajanje i ugradnja cjevovoda, te građevnih dijelova vodoopskrbnog sustava koji su izrađeni od različitih vrsta materijala može doći do pojave korozije kod pojedinih komponenti postrojenja. Zbog nepravilnosti i različite mikrostrukture na površini metala dolazi do galvanske reakcije i otapanja metala koji ima negativniji standardni elektrodni potencijal
- *protok vode* – pri većem protoku manje su koncentracije metalnih iona u vodi
- *temperatura vode* – pri višim temperaturama brža je reakcija korozije
- *koncentracija kisika* – otopljeni kisik u vodi jedan je od najagresivnijih čimbenika utjecaja na koroziju. Na tijek korozije, značajno utječe aeracija. Naime, u odsutnosti ovog učinka korozija bi bila najbrža u području najveće koncentracije kisika
- *električna vodljivost* – predstavlja opasnost kod različitih metalnih spojeva (pocinčane cijevi) predstavljajući potencijalne lokacije za koroziju<sup>4,5</sup>.

Kako je područje korozije vrlo široko i raznovrsno postoji više različitih podjela i to prema:

- mehanizmu djelovanja
- izgledu korozijskog napada
- korozivnim sredinama.

Prema mehanizmu djelovanja, korozija se metala dijeli na: kemijsku (korozija u neelektrolitima) i elektrokemijsku (korozija u elektrolitima).



### 2.3.1.1. Kemijska korozija

Kemijska korozija nastaje izravnim djelovanjem molekula nekog elementa ili spoja na metal pri čemu nastaju korozijski produkti. Najčešće kemijska korozija nastaje djelovanjem vrućeg, suhog zraka ili plinova, kao i različitih neelektrolita npr. benzina ili acetona na površinu čelika, čime dolazi do kemijskih reakcija, pretežno oksidacije.

Brzina i tijek kemijske korozije ovise o:

- metalu koji korodira (sastav, struktura i tekstura)
- agresivnom okolišu
- korozivnim produktima (fizikalna i kemijska svojstva produkata korozije)
- fizikalnim uvjetima (temperatura, hrapavost površine, naprezanje)
- brzina protoka medija<sup>32</sup>.

### 2.3.1.2. Elektrokemijska korozija

Elektrokemijska se korozija javlja na metalima koji su u dodiru s elektrolitima (voda ili vodene otopine kiselina, lužina i soli), pri čemu se zbivaju reakcije oksidacije i redukcije. Sa stajališta elektrokemije korozija je anodna oksidacija metala praćena katodnom redukcijom agensa korozije čiji je osnovni uzrok elektrokemijska neravnoteža<sup>33</sup>.

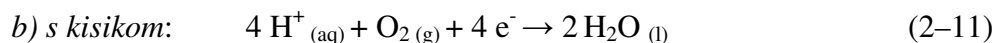
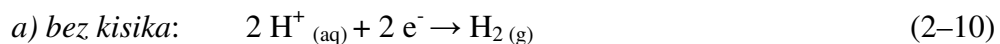
Elektrokemijska korozija se zbiva preko reakcija oksidacije i redukcije, odnosno preko anodnih i katodnih procesa:

- ANODNI PROCES (anodna reakcija se odvija uz oksidaciju ili ionizaciju metala):



- KATODNI PROCES (katodna reakcija se odvija uz redukcija  $H^+$  ili oslobađanje vodika):

u kiselom mediju

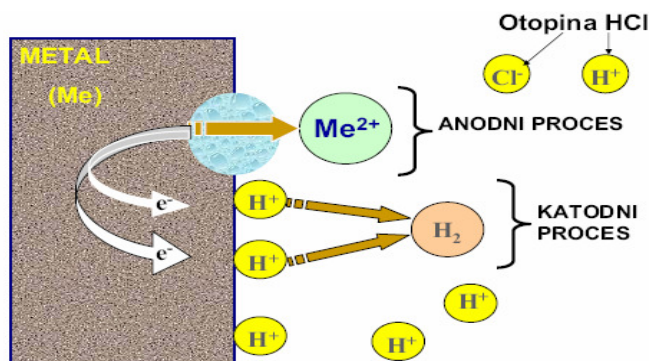


- KATODNI PROCES (katodna reakcija se odvija uz redukciju kisika):

u lužnatom i neutralnom mediju

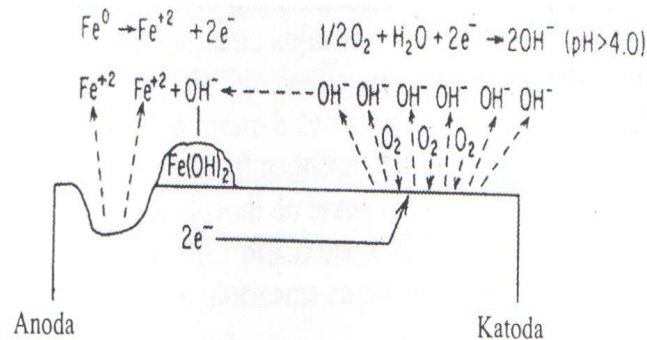


U jako kiselim otopinama utjecaj kisika na proces korozije metala nije velik, dok u neutralnim otopinama taj utjecaj prevladava. Bez kisika u neutralnim otopinama nije moguće odvijanje katodne reakcije. Kako anodna reakcija mora biti iste brzine kao i katodna, brzina korozije je prema tome neznatna. Stoga je katodna reakcija najsporiji stupanj korozije, te ona određuje brzinu korozije.



Slika 2.7. Shematski prikaz elektrokemijske korozije metalne cijevi uz katodni proces redukcije vodikova iona<sup>32</sup>.

Kod elektrokemijske korozije svaka metalna površina je prekrivena nizom malih anoda i katoda, kako je prikazano na Slici 2.8.



Slika 2.8. Shematski prikaz reakcija do kojih dolazi tijekom korozije čelične cijevi u prisutnosti kisika<sup>34</sup>.

Kemijski i fizikalni utjecaji, te drugi uvjeti okoliša djelujući dugotrajno izazivaju razaranje metalnih konstrukcijskih materijala.

U odnosu na promjene na dodirnoj površini metal/okoliš, korozija može biti:

- opća (ravnomjerna i neravnomjerna)
- lokalna (pjegasta, jamasta i točkasta).

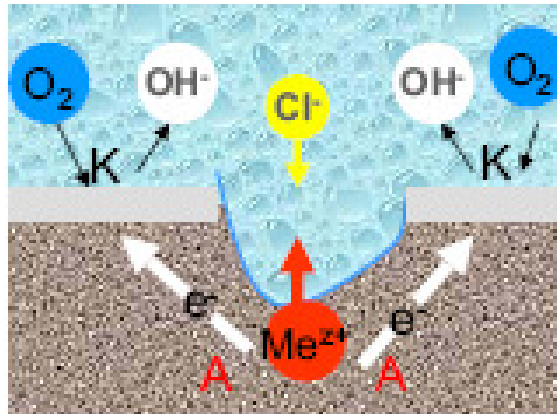
Kod opće korozije zahvaćena je čitava izložena površina metala što dovodi do postupnog smanjenja debljine metalne stjenke po cijeloj površini, dok je lokalna korozija ograničena na pojedine metalne dijelove površine i brzo prodire kroz metal.

**Pjegasta korozija** zahvaća plitko samo anodna mjesta na metalnoj površini i ostavlja karakteristične pjege, što rezultira neestetskim izgledom metala.

**Jamasta korozija** je po vanjskom izgledu slična pjegastoj koroziji, ali prodire u metal, pa je stoga štetnija.

**Točkasta korozija**, rupičasta ili igličasta (engl. pitting) je jedan od najopasnijih oblika korozije. To je visokolokalizirana korozija pri kojoj su zahvaćeni ekstremno mali

dijelovi metalne površine, dok je ostali dio površine nenapadnut. Kod rupičaste (pitting) korozije ocjena stanja površine se provodi proučavanjem gustoće, veličine i dubine rupica.



Slika 2.9. Shematski prikaz elektrokemijske rupičaste korozije metalne cijevi uz katodni proces redukcije kisika<sup>32</sup>.

**Interkristalna korozija** nastaje na granicama kristalita i vrlo je opasan oblik korozije jer može dugo ostati neprimijećena, a naglo smanjuje čvrstoću i žilavost materijala. Konačna posljedica interkristalne korozije je lom. Srodna ovoj vrsti korozije je **vodikova krhkost**. Adsorbirani i kemisorbirani vodikovi atomi s površine difundiraju u metal i vežu se u molekulu. Interkristalne granice se šire jer nastale molekule vodika ne mogu izaći iz metala u kojem se nalaze po velikim pritiskom. Metal postaje krhak i uz dodatno opterećenje puca (Slika 2.10.).



Slika 2.10. Vodikova bolest ugljičnog čelika<sup>32</sup>.

**Transkristalna korozija** je opasna jer zahvaća poput presjeka veći broj kristalita materijala. Najčešće nastaje u visokolegiranim čelicima u prisustvu kloridnih iona i sumporovodika.

Prema korozivnim sredinama razlikuju se:

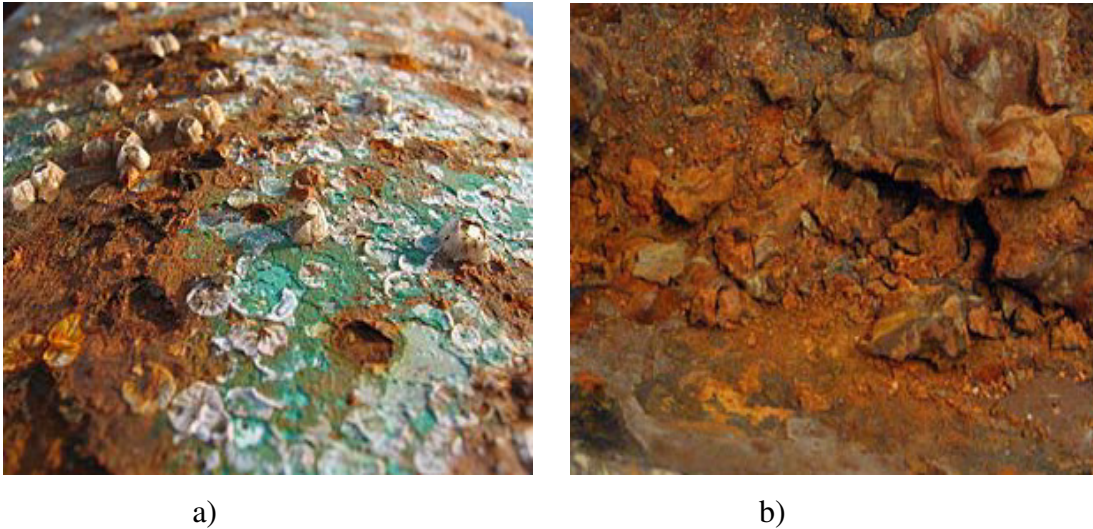
- atmosferska korozija
- korozija u tlu
- korozija u suhim plinovima
- korozija u neelektrolitičkim tekućinama
- korozija u elektrolitima
- kontaktna korozija
- korozija zbog lutajućih struja
- korozija uz naprezanje
- biokorozija.

U odnosu na posljedice na metalnim površinama, korozijska oštećenja se dijele na ona:

- u pukotini
- na kontaktu
- u procjepu
- ispod naslaga
- uz površinu.

Korozija unutar vodovodnog distribucijskog sustava, može izazvati propuštanje vode, gubitak kapaciteta i pogoršanje kemijske i mikrobiološke kakvoće vode za piće.

Do korozije metalnih cijevi može doći i na vanjskim površinama cijevi. Vodovodne cijevi ukopane u tlo izložene su korozijskom djelovanju tla<sup>35</sup>, posebno u visoko agresivnom tlu (tlo onečišćeno naftom, pepelom, opasnim otpacima). Na vanjskoj metalnoj površini od bakrenih cijevi ili cijevi od legure bakra i cinka korozija uzrokuje pojavu plavo–zelenih mrlja, a na metalnoj površini željeznih cijevi mrlje smeđe boje, što je posljedica nastalih različitih hidroksooksidnih i oksidnih specija bakra i cinka, odnosno željeza, kao što je prikazano na Slici 2.11. a) i b).



Slika 2.11. Prikaz korodiranih površina cijevi izrađenih od: a) bakra ili legura bakra i cinka, b) željeza<sup>36</sup>.

Također i određene vrste bakterija (bakterije koje reduciraju sulfate) u vodenom mediju, utječu na promjene konstrukcijskih materijala metalnih cijevi, pri čemu se potiče i pojačava korozija (biokorozija) metalnih površina. Mikrobiološki poticana korozija uzrokuje pomak korozijskog sustava s dvokomponentnim mehanizmom (metal–medij) u korozijski sustav s trokomponentnim mehanizmom (metal–medij–biofilm).

### 2.3.1.3. Prisutnost iona teških metala u vodi za piće

Pod teškim metalima podrazumijevaju se skupine metala čija je relativna gustoća veća od  $5,0 \text{ g/cm}^3$ . Neki od njih kao što su Cu, Fe, Mn, Zn, Mo i Ni su kao mikroelementi esencijalni i neophodni za mnogobrojne funkcije u ljudskom organizmu, ali u većim koncentracijama mogu biti opasni za ljudsko zdravlje. Drugu skupinu čine teški metali kao što su Cd, Cr, Pb, Hg, As koji nisu biogeni i djeluju isključivo toksično već i malim koncentracijama. U obliku različitih minerala i soli prisutni su u geološkim depozitima, rudama, stijenama Zemljine kore. U atmosferu, vodu i tlo dospijevaju manjim dijelom iz različitih prirodnih izvora, a uglavnom su rezultat urbanizacije, poljodjelstva i industrijskih procesa. Kruženje teških metala u prirodi ovisi o promjenama kojima metali podliježu. Zbog svog geogenog podrijetla u tlu se

zadržavaju puno dulje nego u ostalim dijelovima biosfere<sup>37</sup>. U vodi se talože na dnu vodenih površina kao teško topljivi karbonati, sulfati ili sulfidi. Nisu biorazgradljivi i imaju sposobnost bioakumulacije u živim organizmima. U vodu za piće mogu dospijevati ako je voda izvorišta bila onečišćena teškim metalima, ali glavni izvor su produkti korozije metalnih konstrukcija u vodoopskrbnom sustavu. Brojna istraživanja dokazala su povezanost korozije metalnih cijevi i povećanja koncentracije iona teških metala u vodi za piće<sup>21,27,28,38</sup>.

Utjecaj teških metala na zdravlje ljudi je predmet mnogobrojnih znanstvenih istraživanja<sup>39,40</sup>. Teški metali dospjevši u ljudski organizam mogu dovesti do:

- blokiranja osnovnih bioloških funkcionalnih skupina biomolekula (npr. proteina i enzima)
- premještanja esencijalnih metalnih iona (Fe, Cu, Zn)
- modificiranja aktivnih oblika biomolekula<sup>41</sup>.

#### 2.3.1.3.1. Prisutnost željezovih iona u vodi za piće

Različiti željezni konstrukcijski materijali imaju značajan udio na tržištu materijala pri izgradnji vodoopskrbnih sustava. Dobivaju se metalurškim procesima obrade iz željeznih ruda. Prema kemijskom sastavu dijele se na lijevano željezo i ugljične i legirane čelike. Lijevano željezne cijevi su najrasprostranjenije u vodovodnoj tehnici, a prvi puta su primijenjene 1664. godine<sup>33</sup>. Željezni lijev je legura željeza i ugljika sa sadržajem ugljika većim od 2,06 mas%, te nekih drugih legirajućih elemenata. Željezni lijevovi se dijele na sivi lijev, bijeli lijev, nodularni lijev i temper lijev ovisno u kojem obliku je prisutan ugljik i o termičkoj obradi. Svi se mogu koristiti kao konstrukcijski materijal za glavne vodove u vodoopskrbnom sustavu, kao i za kanalizacijske cijevi.

U želji za postizanjem veće otpornosti prema raznim vanjskim utjecajima (udarcima, pritisku, koroziji) i duljem vijeku trajanja pri izgradnji vodoopskrbnih sustava koriste se čelične cijevi.

Čelik je metastabilno–kristalizirana legura željeza i ugljika s manje od 2,06 mas% C s pratećim elementima (Si, Mn) i nečistoćama (P, S), te s jednim ili više dodanih

legirajućih elemenata (Al, S, Cr, Ni, Cu). U vodoopskrbnim sustavima koriste se cijevi od pocinčanog i legiranog čelika (kućne instalacije). Glavna prednost čeličnih cijevi u usporedbi s lijevano željeznima je mnogo veća čvrstoća materijala, visoka elastičnost i otpornost na lom. Primjena čeličnih cijevi je tehnički i ekonomski opravdana za izgradnju dugih cjevovoda. I željezni ljevovi i čelik su podložni agresivnom djelovanju vode i zemljišta pa se cjevovodi trebaju unutarnjom i vanjskom zaštitom zaštititi od korozije. Unutarnja zaštita mora biti od materijala koji ne utječu na kakvoću vode za piće<sup>23</sup>.



Slika 2.12. Unutarnji izgled lijevano željezne vodovodne cijevi<sup>42</sup>.

U svojim spojevima željezo se javlja kao dvovalentno (fero spojevi) i trovalentno (feri spojevi). Fero spojevi se lako oksidiraju u vodama i prelaze u stabilnije feri spojeve (2–13) koji stvaraju taloge u vodovodnim cijevima. Također, uzrokuje замуćenje, promjenu boje (crveno–smeđe obojenje) i metalni okus vode za piće<sup>43</sup>.





Željezo je osnovni element i nalazi se u tragovima, te je za pokrivanje dnevnih potreba čovjeku potrebno od 10 – 15 mg. Prema Pravilniku<sup>13</sup> MDK željeza u vodi za piće je 200 µg/l.

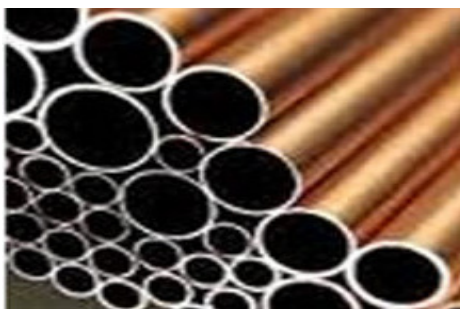
#### 2.3.1.3.2. Prisutnost cinkovih iona u vodi za piće

Cink se koristi kao građevni materijal za mnoge jedinice vodovodnih instalacija, pa koncentracije cinka u vodi iz slavine mogu biti znatno povećane. Prema Pravilniku<sup>13</sup> MDK cinka u vodi za piće je 3000 µg/l.

#### 2.3.1.3.3. Prisutnost bakrovih iona u vodi za piće

Bakar je često korišteni materijal za izradu cijevi, ventila i vodovodne armature, te je prisutan u mnogim legurama i premazima. Njegova MDK prema Pravilniku<sup>13</sup> u vodi za piće je 2000 µg/l.

Legure bakra s cinkom u odnosu 50:50 (mesing) su čvrste, te otporne na trošenje i koroziju, a mogu se vrlo dobro polirati. Lako se lijevaju, oblikuju deformiranjem i režu (Slika 2.13.). Koriste se u izradi cijevnih spojnih elemenata, korozijski otpornih vijaka i opruga, sitnih dijelova.

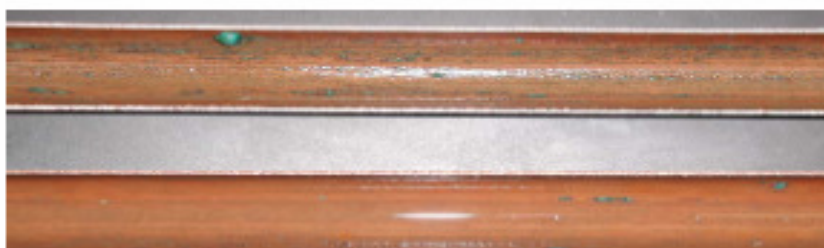


Slika 2.13. Izgled bakrenih cijevi<sup>33</sup>.

Bakrene cijevi zbog svojih svojstava, izuzetne vodljivosti, trajnosti i otpornosti na koroziju, jednostavne i brze montaže najčešće se koriste za izradu cijevi protustrujnih i križnih cijevnih izmjenjivača topline, te za izvedbu kućnih i industrijskih instalacija, što se poglavito odnosi na instalacije centralnog grijanja, te razvod tople i hladne vode<sup>33</sup>. U različitim publikacijama istraživano je utjecaj temperature i kemijskih pokazatelja vode, koji utječu na otapanje bakra prisutnog u konstrukcijskom materijalu vodovodne mreže. Tako je utvrđeno da su ključni čimbenici otapanja bakra tvrdoća vode, temperatura i pH vrijednost<sup>4</sup>. Pri nižim pH vrijednostima, osobito ako je  $\text{pH} < 7$ , dolazi do korozije bakrenih cijevi pri čemu nastaju različite netopljive i topljive bakrove soli. U ovisnosti o pH vode nastaju različiti kompleksi<sup>43</sup> u kojima bakar može biti u oksidacijskom stupnju  $\text{Cu}^+$  i  $\text{Cu}^{2+}$ . Korozivnost tople vode se znatno povećava, naročito ako je temperatura iznad  $60^\circ\text{C}$ , jer se pri zagrijavanju vode iz bikarbonata oslobađa ugljikov dioksid zbog čega voda postaje mekana i vrlo agresivna (Slika 2.14.)



a)



b)

Slika 2.14. Izgled dijela površine bakrene vodovodne cijevi kroz koju protječe a) topla voda i b) hladna voda<sup>44</sup>.

#### 2.3.1.3.4. Prisutnost manganovih iona u vodi za piće

Mangan se nalazi u Zemljinoj kori u obliku različitih silikatnih minerala. U vodenim medijima pri dovoljno visokom pH  $Mn^{2+}$  prelazi u  $MnO_2$  koji ima svojstvo da se taloži na površini sedimenta ili krutina. Hidroksidni kompleks  $MnOH^+$  dominira u uvjetima pH > 10,5, dok su anionski oblici karakteristični pri pH > 12. U aeriranim vodama  $Mn^{2+}$  je stabilniji od  $Fe^{2+}$ , a neke  $Mn^{3+}$  specije mogu stvarati vrlo jake kiseline i stabilne organske spojeve<sup>39</sup>. Najveće količine mangana (i do 90%) upotrebljavaju se u metalurgiji za proizvodnju legura, posebno u proizvodnji željeza i feromagnetskih čelika koji se dobivaju legiranjem feromangana čelikom. Kao konstrukcijski materijal u vodoopskrbnim sustavima koriste se cijevi od legiranih čelika (feromagneta).

Mangan je u malim količinama važan za ljudski organizam i dnevno ga se ishranom mora unositi u količini 2,5 – 5 mg, a njegovo pomanjkanje usporava rast i skraćuje životni vijek<sup>39</sup>. Povećana izloženost manganu, uzrokuje njegovo nakupljanje u mozgu uzrokujući neurološke probleme. Prisutnost povećanih koncentracija Mn u vodi za piće može uzrokovati hipokolesterolemiju, gubitak težine, te prolongirano protrombinsko vrijeme.

Njegova MDK prema Pravilniku<sup>13</sup> u vodi za piće je 50  $\mu\text{g/l}$ .

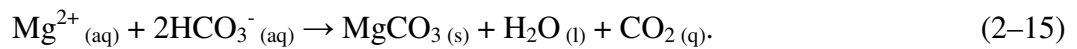
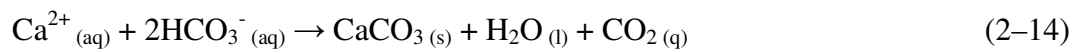
#### 2.3.2. Stvaranje kamenca u sustavu distribucije vode za piće

Kamenac predstavlja naslagu minerala koja se primarno sastoji od kalcijevih i magnezijevih karbonata. U cijevima u gradskim vodovodnim mrežama dolazi do taloženja kamenca, prvenstveno na površinama sustava za prijenos topline, a to je naročito izraženo kod cjevovoda koji distribuiraju vodu povećane tvrdoće. Tvrdoću vode čine otopljene kalcijeve i magnezijeve soli i to:

- ukupnu tvrdoću sve kalcijeve i magnezijeve soli otopljene u vodi
- karbonatnu tvrdoću u vodi otopljeni kalcijevi i magnezijevi bikarbonati i karbonati
- prolaznu tvrdoću u vodi otopljeni kalcijevi i magnezijevi bikarbonati, koji zagrijavanjem stvaraju teško topljive karbonate i ugljikov dioksid

- stalnu tvrdoću kalcijeve i magnezijeve soli koje i nakon zagrijavanja ostaju otopljene u vodi.

Za stvaranje kamenca u sustavima za opskrbu toplom vodom najodgovornija je prolazna tvrdoća. Naime, zagrijavanjem vode topljivi bikarbonati prelaze u teško topljive karbonate prema reakcijama:



Inkrustacije kamenca unutar cjevovoda najčešće su homogene strukture (Slika 2.15.), a na mikroskopskoj slici vide se kristalići u obliku listića (Slika 2.16.).



Slika 2.15. Naslage kamenca unutar vodovodne cijevi<sup>45</sup>.



Slika 2.16. Mikroskopski prikaz strukture kamenca<sup>46</sup>.

### 2.3.2.1. Štetan utjecaj kamenca

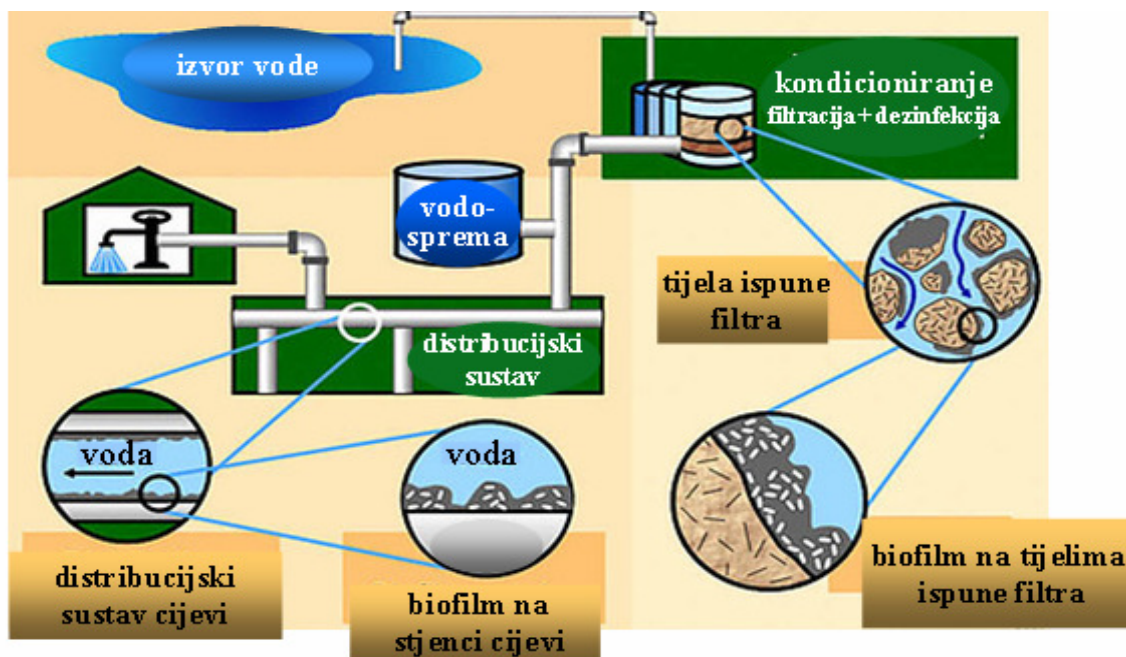
Kamenac može uzrokovati mnogobrojne probleme u sustavima grijanja i razvodnoj toplovodnoj mreži. Njegovim taloženjem na stjenkama izmjenjivača topline smanjuje se prijenos topline i protočnost vode, što može dovesti do začepjenja pojedinih dijelova sustava. Učinkovitost se grijanja može smanjiti i do 2 – 6%, što znači povećanje troškova za grijanje i veću emisiju CO<sub>2</sub>. Zbog neravnomjernog taloženja kamenca duž vodovodnih cijevi dolazi do lokalnih pregrijavanja, uzburkanosti vode i poteškoća u radu kotlovskih postrojenja (stvaranju buke u sustavu). Smanjenje protoka vode može uzrokovati oštećenje vitalnih dijelova bojlera, npr. pumpe. Zbog topline koja se oslobađa pri radu pumpe, može doći do taloženja kamenca i unutar kućišta pumpe zbog čega se smanjuje protok vode i vijek trajanja pumpe<sup>47</sup>.

Porozna struktura vodenog kamenca pogoduje razmnožavanju mikroorganizama štiteći ih od utjecaja dezinfekcijskih sredstava i utjecaja tople vode.

Zbog taloženja kamenca, tj. teško topljivog kalcijeva i magnezijeva karbonata i oslobađanja CO<sub>2</sub> (jednadžbe 2–14 i 2–15), povećava se korozivno djelovanje vode, naročito iznad 60°C. Također, zagrijavanjem vode povećava se električna vodljivost i galvanska korozija. Zato je najvažnija mjera za zaštitu od ubrzanog stvaranja kamenca i korozivnog djelovanja vode, u sustavima opskrbe toplom vodom održavanje temperature vode ispod 60°C<sup>48</sup>.

### ***2.3.3. Stvaranje biofilмова u sustavu distribucije vode za piće***

U vodoopskrbnom sustavu biofilmovi se mogu stvarati u različitim fazama pripreme i distribucije vode za piće i to na površinama gdje voda dodiruje čvrstu podlogu, kao što su površine čestica ispune filtra, stjenke vodospreme, cjevovodi, slavine, na glavama tuša, slivnika i dr. (Slika 2.17.).

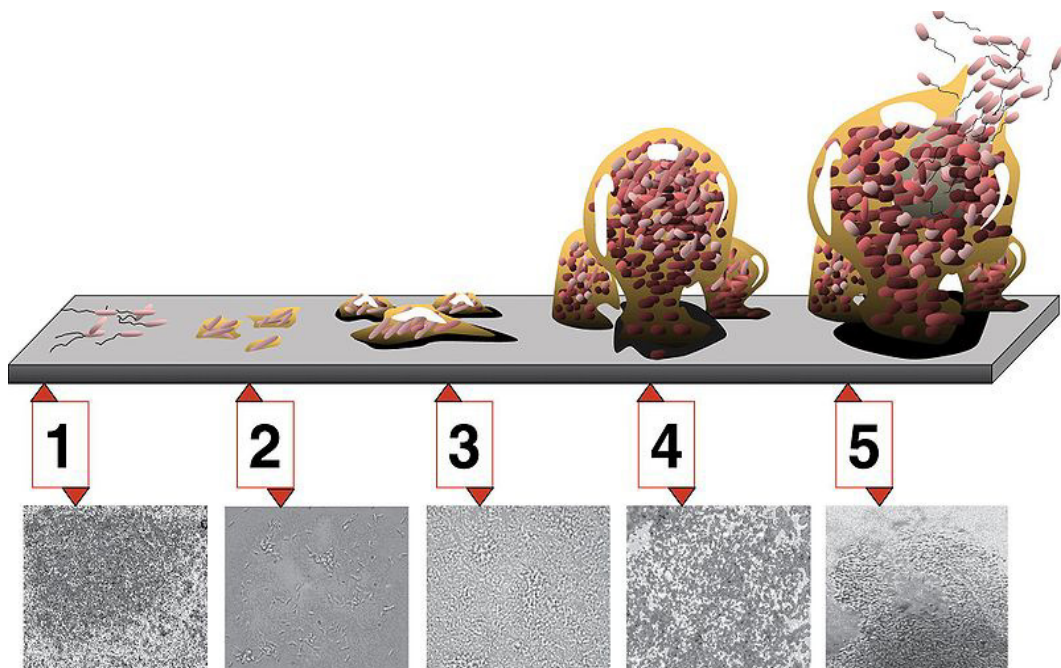


Slika 2.17. Shematski prikaz vodoopskrbnog sustava s naznakama mjesta nastajanja<sup>49</sup>.

Biofilm se definira kao sesilna zajednica mikroorganizama čije su stanice međusobno i sa supstratom ireverzibilno povezane, te uronjene u izvanstanični matriks polisaharidnih polimera koji su same stvorile, te se na taj način štite od vanjskih utjecaja. Stvara se na brojnim čvrstim abiotskim i biotskim podlogama. Može sadržavati samo jednu bakterijsku ili gljivičnu vrstu, ali najčešće predstavlja zajednicu različitih vrsta mikroorganizama. Ova prirodna zajednica bakterija u matriksu biofilma funkcionira na relativno složen način, ali usklađen i s visokim stupnjem organiziranosti. Mehanizmi njihovog nastanka i međuovisni način života još u potpunosti nisu razjašnjeni. U posljednjem desetljeću primjenom novih mikroskopskih tehnika i naprednih metoda istraživanja, došlo se do vrlo vrijednih saznanja.

Kao jedinstvena biocenoza, nastala isključivo kao posljedica ljudske aktivnosti, zahtjeva daljnja znanstvena istraživanja.

Na Slici 2.18. dan je shematski prikaz razvoja biofilma s mikroskopskim slikama.



Slika 2.18. Shematski prikaz nastanka i razvitka biofilma s mikroskopskim slikama<sup>50</sup>.

Proces razvitka i stvaranja biofilma kao što je prikazano na Slici 2.18. može se podijeliti u pet stupnjeva:

- (1) reverzibilno pričvršćenje – mikroorganizmi koji se slobodno kreću prema površini se vezuju na podlogu (adheriraju) slabim van der Waalsovima vezama
- (2) ireverzibilno pričvršćenje – bakterije se čvrsto povezuju, poboljšava se međustanična interakcija i omogućava se koegzistencija različitim vrstama, stvaraju se skupine koje dodatno ojačavaju adherenciju (sraščivanje)
- (3) dozrijevanje I ili maturacija I – stvara se ekstracelularni matriks i povećava broj kolonija
- (4) dozrijevanje II ili maturacija II – kolonije rastu i dostižu svoju maksimalnu veličinu, nastavlja se stvaranje strukture i razvija arhitektura s kanalićima i porama koju određuju članovi biofilma

(5) raspršenje ili disperzija – dolazi do izlaska bakterija iz biofilma i u potrazi za novim i boljim izvorom hranjivih tvari<sup>50</sup>.

U biofilmu 75 – 95% volumena sastoji se od labavo organiziranog polisaharidnog matriksa napunjenog vodom, a ostatak čine mikrobiološke stanice<sup>18</sup>. Kako polisaharidni matriks sadrži mnogo vode, površina biofilma je želatinozna i klizava. Najčešći mikroorganizmi u biofilmovima su alge protozoe (amebe), gljivice, bakterije i to bakterije koje stvaraju sluz i spore, nitrificirajuće bakterije, bakterije koje reduciraju sulfate i druge anaerobne bakterije<sup>34</sup>. Unutar biofilma, mikroorganizmi su smješteni u izvanstaničnu matricu koja daje strukturu, stabilnost, hranjive tvari i zaštitu od toksičnih učinaka različitih biocida pružajući pri tome mikroorganizmima uvjete za preživljavanje i u najtežim uvjetima. Biofilm štiti mikroorganizme od isušivanja, fiksira pojedine hranjive tvari i enzime što omogućava međusobnu prehranu različitih vrsta mikroorganizama. Na taj način biofilmovi pomažu mikroorganizmima da opstanu u uvjetima koji nisu optimalni za njihovo razmnožavanje, te da ih štite od utjecaja međuodnosa mikroflore, sedimenta i promjene temperature medija unutar sustava<sup>21</sup>. Biofilmovi služe i kao fizička zaštita mikroorganizama od vanjskih čimbenika poput ultravioletnog zračenja i topline, te promjene pH i temperature.

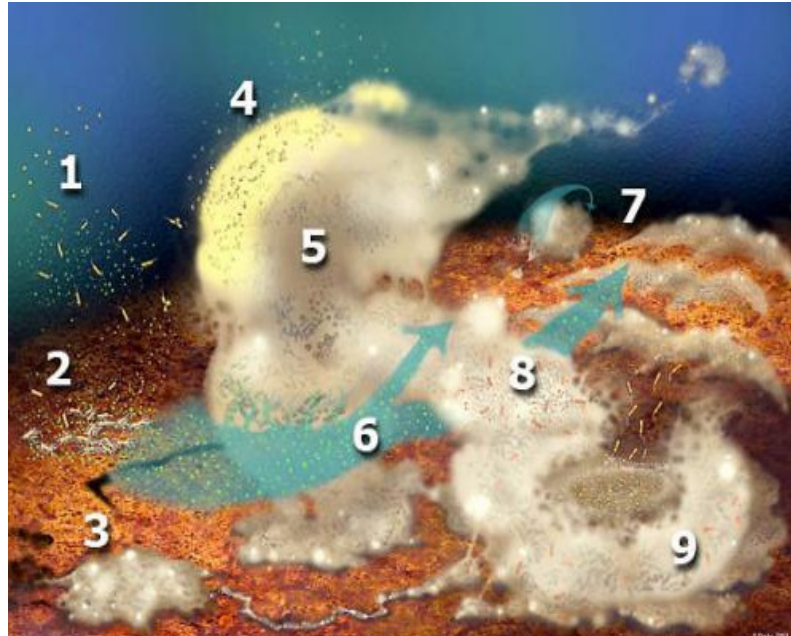
Biofilmovi u vodoopskrbnom sustavu mogu uzrokovati različite neželjene i opasne promjene vode za piće što se karakterizira promjenom organoleptičkih svojstava i higijensko–zdravstvenih pokazatelja, koji mogu biti pak uzročnici različitih bolesti.

#### 2.3.3.1. Utjecaj čimbenika okoliša na razvoj biofilma u cjevovodu

Uvjeti okoliša i mjesta koja pogoduju nastajanju biofilmova, te razmnožavanje različitih vrsta i broja mikroorganizama u vodoopskrbnim sustavima, predmet su mnogih znanstvenih istraživanja<sup>51,52</sup>. Biofilmovi predstavljaju dinamičke zajednice, koje su podvrgnute neprekidnim promjenama. Promjene mogu biti rezultat stalnih ili povremenih utjecaja fizikalno–kemijskih čimbenika vodnog okoliša, koji mogu utjecati izravno djelovanjem na određenu mikrobiološku populaciju ili neizravno kroz međudjelovanja članova mikrobiološke zajednice<sup>53</sup>. Teško je pronaći cjevovod za



vodoopskrbu koji nema biofilm. Na Slici 2.19. shematski je prikazan nastanak i kretanje biofilma unutar vodovodne cijevi.



Slika 2.19. Prikaz nastanka i kretanja biofilma unutar vodovodne cijevi<sup>54</sup>.

Nastanak i kretanje biofilma unutar vodovodne cijevi (Slika 2.19.) zbiva se kroz više stupnjeva i to slijedom:

- 1 – planktonski mikroorganizmi se slobodno kreću u vodi
- 2 – započinje reverzibilno pričvršćivanje mikroorganizama pomoću staničnih dodataka iz stanične membrane i adsorpcija organskih ili anorganskih molekula iz vode na površinu stijenke cijevi
- 3 – kolonizacija mikroorganizama na površini stijenke cijevi
- 4 – pokretanje molekula i mikroorganizama s površine na kojoj se stvara biofilm
- 5 – nagomilavanje molekula i mikroorganizama na međupovršini čvrsto-tekuće unutar vodovodne cijevi gdje se stvaraju izvanstanični polimeri, koji se sastoje od elektrostatski nabijenih i neutralnih polisaharidnih skupina, koje drže biofilm zajedno i učvršćuju ga na stjenci cijevi

- 6 – difuzija hranjivih tvari prisutnih u vodi koji utječu na brzinu rasta mikrobiološke populacije
- 7 – nastajanje mladog, želatinoznog biofilma u kojemu se mikroorganizmi neprekidno kreću uslijed Brownova gibanja i koji se može lako ukloniti mehaničkim postupcima – mikrootkidanje
- 8 – uslijed neprekidnog rasta i razmnožavanja mikroorganizama, biofilm se zgušnjava do točke na kojoj se pojavljuje ljuštenje – makrootkidanje
- 9 – uslijed debljine biofilma koji postaje lomljiv i otkida se, vidljivo je odvajanje biofilma s površine stjenke cijevi<sup>54</sup>.

Stupanj do kojega se mikroorganizmi pričvršćuju na površinu stjenke cijevi, te njihov rast i razmnožavanje ovise o uvjetima okoliša. Na brzinu stvaranja i doseg rasta biofilma, unutar vodoopskrbnog sustava, utječe:

- vrsta i karakteristike površine konstrukcijskog materijala (hrapavost površine cijevi)
- kemijski sastav i koncentracija hranjivih tvari u protočnoj vodi
- vrsta i koncentracija sredstava za dezinfekciju
- temperatura vode
- hidrodinamički uvjeti u vodoopskrbnom sustavu<sup>22,24,55-59</sup>.

#### 2.3.3.1.1. Utjecaj hrapavosti površine cijevi unutar vodoopskrbnog sustava na razvoj biofilma

Hrapavosti površina konstrukcijskog materijala vodovodnih cijevi, bitne su za razvitak biofilmova unutar njih. Hrapavost površine cijevi može biti rezultat procesa korozije konstrukcijskog materijala što pak pospješuje kolonizaciju mikroorganizama i stvaranje biofilmova na takvim površinama<sup>11,12</sup>. Zbog toga su vidljive razlike, u razvitku biofilmova na različitim površinama vodovodnih cijevi. Materijali koji se koriste za izradu cijevi unutar vodovodne mreže trebaju imati: malu hrapavost stjenki i spojeva,

izraženu čvrstoću stjenki (otpornost na unutarnje i vanjske tlakove), postojanost na koroziju i utjecaj agresivnih voda u podzemlju, otpornost na lutajuće struje, vodonepropusnost prema unutra i van.

Dokazana je manja koncentracija mikroorganizama na površinama glatkih cijevi (plastični materijali) u odnosu na hrapavije površine (lijevano željezo, bakrene i pocinčane cijevi)<sup>11,55-61</sup>.

Cijevi od plastičnih materijala: polivinil–klorid (PVC), polietilen visoke gustoće (HDPE), polipropilen (PP) i polibuten (PB) postepeno potiskuju iz uporabe pocinčane čelične cijevi za razvod tople i hladne vode, kao i bakrene cijevi iz instalacija centralnog grijanja. Razlog potiskivanja su višestruke prednosti glede protoka vode, vlačne i tlačne čvrstoće, toplinske stabilnosti, zdravstvene ispravnosti vode za piće i cijene izvedbe. Plastični materijali su postojani prema koroziji i isključeno je povećanje koncentracije teških metala u vodi za piće, uslijed korozije<sup>14</sup>. Njihova površinska hrapavost je manja nego kod ostalih materijala, a budući da cijevi ne korodiraju, unutrašnjost površine cijevi ostaje glatka i ima duži vijek trajanja.

#### 2.3.3.1.2. Utjecaj kemijskog sastava, sadržaja hranjivih tvari i sredstava za dezinfekciju te temperature vode na razvoj biofilma

Prisutnost i koncentracija hranjivih tvari, koncentracija kisika i optimalna temperatura i pH unutar biofilmova daje podršku rastu i razmnožavanju različitim mikroorganizmima heterogene populacije<sup>62-64</sup>. U biofilmovima bakterije mijenjaju svoja svojstva ovisno o koncentraciji i sastavu nutrijenata u vodi tj. mutiraju, što višestruko povećava njihovu sposobnost za preživljavanjem i u najtežim uvjetima.

Mikroorganizmi prisutni u biofilmovima često imaju povećanu toleranciju prema biocidima. Nastali biofilmovi teško se uklanjaju dezinfekcijom, osobito s teže dostupnih površina (rubovi cijevi, T – profili vodovodnih cijevi, hrapave površine u vodovodnim cijevima)<sup>65,66</sup> ili s površina na kojima dolazi do zadržavanja vode (slijepim završecima vodoopskrbnih sustava poput vodosprema, bojlera, bazena i aparata za kondicioniranje

zraka)<sup>63,64</sup>. To ima za posljedicu kontaminaciju vode nakon dezinfekcije, te mogućnost pojave različitih bolesti<sup>62,66,67,68</sup>.

Prisutnost i preživljavanje mikroorganizama unutar biofilmova u vodoopskrbnom sustavu najčešće se zbiva unutar sustava za zagrijavanje vode, jer povišene temperature vode, osobito u rasponu od 30 – 50°C, pogoduju njihovom rastu<sup>69,70</sup>.

#### 2.3.3.1.3. Hidrodinamički uvjeti u vodoopskrbnom sustavu

Vodovodna mreža ima osnovni cilj da do svakog potrošača u mreži dopremi dovoljne količine vode za piće uz zadani tlak, a da pri tome vodoopskrba bude i ekonomična. Opskrba vodom za piće od vodozahvata do mjesta potrošnje ovisi o topografiji, a često se koristi mješavina sustava gravitacijskih i tlačnih cijevi. Kod projektiranja vodovodne mreže u hidrodinamičkom smislu izborom profila u cijevnoj mreži, trebaju se zadovoljiti uvjeti:

- raspored tlakova u mreži treba biti što ravnomjerniji
- radi izbjegavanja velikih pogonskih troškova maksimalne brzine vode su ograničene na 1 – 2 m/s.

Organske i anorganske naslage u cijevnim sustavima imaju štetan učinak na hidrauliku i funkciju ventila i drugih fazonskih dijelova. U vodovodnoj mreži su uvijek dijelom prisutni uvjeti laminarnog strujanja protočnog medija. Pri laminarnom strujanju formira se granični sloj uz stjenku cijevi u kojemu je brzina protjecanja manja i opada sa smanjenjem udaljenosti od površine<sup>4</sup>. Posljedica toga je mirna mikroklima biofilma. Dezinficijensi mogu u granični sloj prodrijeti difuzijom, što je vrlo spori proces. Zbog toga je koncentracija dezinficijensa oko biofilma manja, nego u samom fluidu. Što je brzina protočnog medija veća, tanji je granični difuzijski sloj i lakša je difuzija dezinficijensa. Također, kod većih protoka vode, veće su sile smicanja i dolazi do otkidanja biofilma s površine. Posljedica toga je slabiji razvoj biofilmova na površini vodovodnih cijevi. Međutim, ukoliko se biofilmovi ipak razviju pri velikom trenju u turbulentnom protoku, oni su snažniji, jače pričvršćeni za podlogu, imaju veću gustoću i fiziološku aktivnost nego pri malom trenju, odnosno pri laminarnom protoku.

Povećana brzina strujanja u cijevima često uzrokuje otkidanje inkrustacija s unutrašnje površine cijevi ili djelomičnu mobilizaciju naslaga koje zamućuju vodu i stvaraju dodatni pritisak na filtracijske sustave što dovodi do smanjenja kakvoće vode za piće<sup>4</sup>.

Stvoreni biofilmovi se teško uklanjaju pri sporom protoku vode i s teško dostupnih površina, te na taj način potiču dodatnu mikrokorozijsku na metalnim stjenkama ispod sloja biofilma. Smanjenim protokom i/ili stagnacijom protoka moguć je nekontrolirani rast biofilmova koji može dovesti do mehaničkih začepjenja vodovodnih cijevi, veće opasnosti od razvitka mikroorganizama, ometanja prijenosa topline, povećanja otpora trenja fluida i biokorozijske metala<sup>71</sup>.

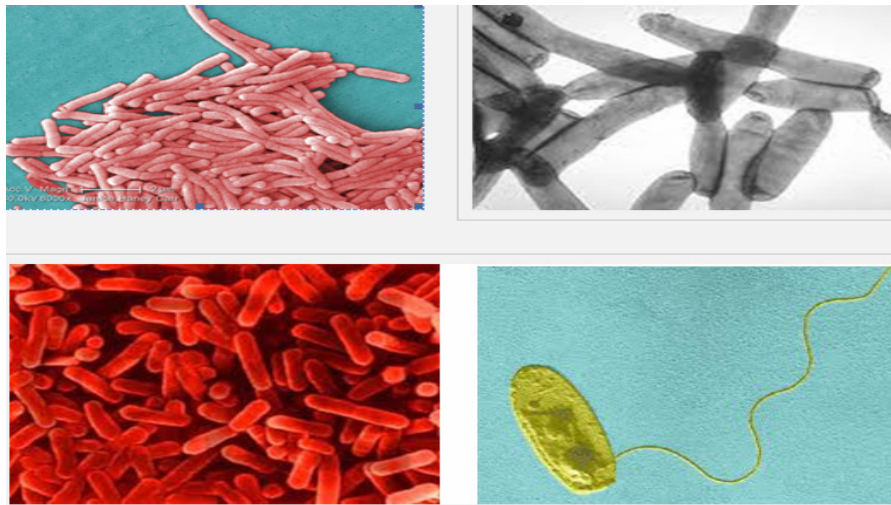
#### **2.3.4. Mikrobiološki sastav biofilmova**

Nastali biofilmovi u sustavima za distribuciju vode za piće mogu biti prolazna ili dugotrajna staništa za sanitarno-higijenski važne mikroorganizme. Formirani biofilmovi na vlažnim površinama predstavljaju stabilne ekosustave, omogućavajući preživljavanje različitim vrstama mikroorganizama kao što su *Klebsiella spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Legionella spp.*, *Mycobacterium*, *E. coli*, *Cryptosporidium parvum*, parazita i enterovirusa. Ovi mikroorganizmi mogu se priključiti na već postojeći biofilm, gdje tako integrirani mogu preživjeti nekoliko dana ili tjedana, ovisno o biologiji i ekologiji organizma i uvjeta okoliša. Na taj način predstavljaju potencijalnu opasnost onečišćenja vode za piće, a time i zdravstvenu opasnost za ljude<sup>71</sup>.

##### **2.3.4.1. *Legionella spp.***

Jedna od bolesti koja se može prenijeti biofilmom prisutnim unutar vodovodnog distribucijskog sustava je legionarska bolest. Legionarsku bolest uzrokuje bakterija iz roda *Legionella spp.*, porodice Legionellaceae. Do danas ih je otkriveno više od 40 vrsta i preko 60 seroskupina. Legionele su aerobni gram negativni tanki štapići. Veličina im varira od 0,3-0,7 µm X 2-3 µm. Gotovo sve legionele su pokretne, kreću se pomoću polarnih ili subpolarnih flagela, te posjeduju pile. Ovisno o uvjetima vanjske sredine

moгу imati oblik kokobacila ili kratkih štapića, a javljaju se i kao filamentozni oblici duljine od 20  $\mu\text{m}$ <sup>72</sup>. Bakterije roda *Legionella spp.* značajni su uzročnici upala pluća. Infekciju ljudi najčešće uzrokuje *Legionella pneumophila* seroskupine 01 (Slika 2.20.). Infektivna doza i imunološki sustav pojedinca presudni su za pojavu kliničkih znakova bolesti.



Slika 2.20. *Legionella pneumophila*<sup>73</sup>.

*Legionella spp.* prisutna je u vodnom ekosustavu uključujući u to površinsku<sup>74</sup> i podzemnu vodu<sup>75</sup>, kao i vlažnu zemlju. Život te bakterije, izvor infekcije i put prijenosa vezani su za vodu. U jezerima, tokovima rijeka broj *Legionella spp.* je mali i ne izaziva bolest. Bakterija *Legionella spp.* koristi protozoe kao stanicu domaćina (nositelja)<sup>76</sup>. Njezina je sveprisutnost u prirodi uzrokovana, njezinom sposobnošću preživljavanja u protozoama, pri različitim uvjetima, uključujući u to temperaturu od 0 do 63°C i pH vrijednost od 5,0 do 8,5<sup>77</sup>.

Različite ljudske aktivnosti, ali i prirodne pojave izravno utječu na nastanak vodenog aerosola odnosno sitnijih ili krupnijih mikrokapljica ili čestica koje mogu nositi određenu mikrobnu populaciju. Nastajanje aerosola, te prijenos i preživljavanje mikroorganizama u zraku složeni je proces na koji utječu različiti fizikalno–kemijski

faktori: relativna vlaga, temperatura, koncentracija kisika, ioniziranost zraka i Sunčeva zračenja<sup>1</sup>.

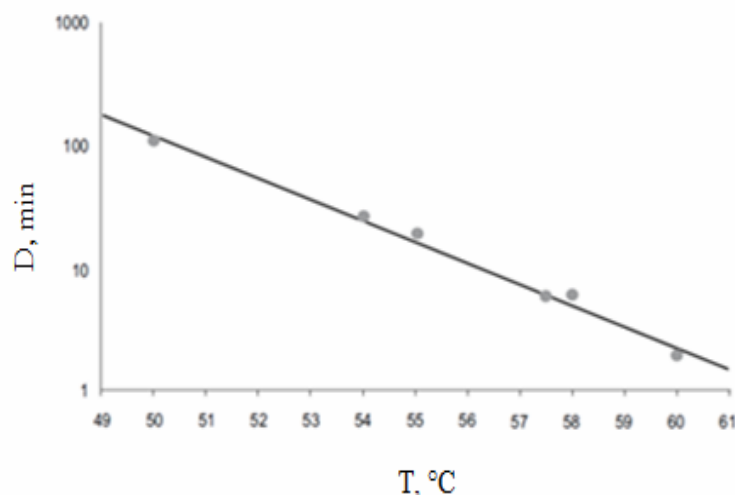
*Legionella spp.* se pričvršćuju na površine u sustavima za zagrijavanje vode formirajući biofilm, a najčešća mjesta kolonizacije *Legionella spp.* u vodoopskrbnom sustavu su:

- sustavi sanitarne vode (hladna i topla voda) – tuševi, mlaznice, cjevovodi, ventili, slavine, akumulacijski spremnici, uređaji za zagrijavanje vode
- bazeni (rekreacijski bazeni, spa-bazeni, kade za hidromasažu, jacuzzi kade i tople kupke), ukrasni vodoscoci i umjetni slapovi (svi sustavi u kojima se voda rasprskava i skuplja u kadi)
- medicinska postrojenja (oprema za respiratorne postupke, zajednički sustavi za stomatološke ordinacije)
- rashladni tornjevi (vlažni tornjevi otvorenog kruga, tornjevi sa zatvorenim krugom, isparivači, kondenzatori)
- sustavi za klimatizaciju i ovlaživanje zraka (klimatizacijski sustavi na brodovima za krstarenje i trajektima, rashladni klima uređaji, ovlaživači/hladnjaci s vlažnim sustavom, sustavi s rasprskavanjem, nebulizatori, parni ovlaživači)
- industrijski aerosol<sup>24,52,55,56,72,78</sup>.

Kada su uvjeti u tim sustavima povoljni za razvoj i razmnožavanje *Legionella spp.*, njihova je koncentracija u vodenom aerosolu tolika da postaje infektivna za ljude. Ljudi se zaraze inhalacijom kontaminiranog vodenog aerosola, mikroaspiracijom i izravnom inokulacijom u pluća. Kolonizacija *Legionella spp.* unutar formiranog biofilma, je pod utjecajem mnogih čimbenika kao što su temperatura vodenog medija, pH, elektrovodljivost, koncentracija željeza i organskih tvari, te vrsta materijala od kojega je izgrađena vodovodna mreža<sup>76,79,80</sup>. Tako je nizom istraživanja praćen utjecaj bakra, prisutnog u konstrukcijskom materijalu cjevovoda vodovodne mreže, na prisutnost *Legionella spp.*. Dokazano je inhibicijsko djelovanje bakra na rast *Legionella spp.*<sup>60,81,82</sup>.

Za razvoj i razmnožavanje *Legionella spp.* u vodoopskrbnom sustavu značajna je temperatura vode. Temperatura vode u rasponu od 25 do 45°C je pogodna za stvaranje kolonija *Legionella spp.*<sup>22</sup>.

U ranijim istraživanjima<sup>83</sup> proučavan je utjecaj temperature na opstanak bakterija roda *Legionella spp.* prema vremenima decimalne redukcije (D). Vrijeme decimalne redukcije predstavlja vrijeme izloženosti mikroorganizama određenoj temperaturi pri čemu dolazi do smanjenja početne koncentracije mikroorganizama za 90%, tj. smanji se njihov broj na 1/10 početnog broja. Tako je utjecaj temperature na preživljavanje i rast *Legionella spp.* prikazan na Slici 2.21.



Slika 2.21. Utjecaj temperature na preživljavanje i rast *Legionella spp.*<sup>83</sup>.

Mjerljiv usporen rast *Legionella spp.* počinje pri temperaturi većoj od 50°C. Zbog toga u vodovodnim sustavima, hladna voda treba biti doista hladna, a temperatura vode na slavini ne bi smjela prelaziti 20°C. Nedovoljna temperatura tople vode ili porast temperature hladne vode kao i razdoblje stagnacije ubrzati će razvoj biofilma. To su neki od razloga zašto se često pojavljuje populacija *Legionella spp.* u stambenim objektima<sup>26,72</sup>. *Legionella spp.* može preživjeti pri niskim koncentracijama klora u razmjerno dugom vremenu i otpornija je na dezinfekciju klornim preparatima od *Escherichia coli*<sup>84,85</sup>.



Važna mjera protiv preživljavanja *Legionella spp.* unutar vodoopskrbnih sustava je sprječavanje stvaranja biofilmova, jer se jednom stvoreni biofilmovi teško uklanjaju iz složenih sustava cjevovoda.

#### 2.4. Kontrola kakvoće vode za piće

Kakvoća vode za piće se ispituje prema preporukama, smjernicama i pravilnicima mjerodavnih ustanova i zavoda na međudržavnoj i državnoj razini. U Hrvatskoj kakvoća vode za piće propisana je Pravilnikom o zdravstvenoj ispravnosti vode za piće<sup>13</sup>, koji je u suglasju s istovrsnim pravilnicima Europske Unije<sup>86-89</sup>. Voda za piće mora biti zdravstveno ispravna i prijatna za piće. Fizikalni, kemijski i mikrobiološki pokazatelji koji definiraju kakvoću vode za piće ovise o kakvoći vode izvorišta, uključujući vrstu obradbe, metodu dezinfekcije, tehničko stanje objekta i razvodne mreže vodoopskrbnog sustava. Zato je ovim Pravilnikom predviđena provjera kakvoće vode od izvora (vodozahvata) sve do potrošača (voda u razvodnoj mreži).

Njime se propisuju:

- zdravstvena ispravnost vode koja služi za ljudsku uporabu
- granične vrijednosti pokazatelja zdravstvene ispravnosti
- vrste i obim analiza uzorka vode za piće te analitičke metode
- učestalost uzimanja uzoraka vode za piće
- način uzimanja i količina uzoraka vode za analizu.

Za vrijeme izvanrednog stanja, ratnog stanja ili neposredne ratne opasnosti dodatno su propisane: maksimalno dopuštene koncentracije bojnih otrova u vodi za piće i radiološka svojstva vode za piće.

Kontrola kakvoće vode za piće obuhvaća određivanje sljedećih pokazatelja<sup>13</sup>:

- *organoleptičke i fizikalno-kemijske pokazatelje*: temperatura, boja, mutež, miris, okus, pH i elektrovodljivost
- *kemijske pokazatelje*: pokazatelje prirodnog sastava (pH, tvrdoća vode, koncentracije otopljenog kisika, slobodnog ugljikova dioksida, klorida, sulfata, silikata, kalcija, magnezija, natrija, kalija), tvari nepoželjne u

vodi (amonijak, nitriti i nitrati, sumporovodik, soli bora, željeza, mangana, bakra, cinka, kobalta, barija, ugljikovodici) i otrovne tvari (cijanidi, pesticidi, policiklički aromatski ugljikovodici)

- *mikrobiološke pokazatelje*: bakterije (koliformne bakterije, fekalne koliformne bakterije, fekalne streptokoke, sulfitoreducirajuće klostridije, aerobne mezofilne bakterije), viruse, parazite, alge i dr. mikroorganizme.

## 2.5. Vodoopskrbni sustav Splitsko–dalmatinske županije

### 2.5.1. Splitsko–dalmatinska županija

Splitsko-dalmatinska županija (u daljnjem tekstu Županija) se nalazi na središtu istočne obale Jadranskoga mora, u srednjoj Dalmaciji. Prostorno je najveća hrvatska županija, ukupne površine 14 106,40 km<sup>2</sup> od čega 4 523,64 km<sup>2</sup> otpada na kopno (8% površine Hrvatske), a 2011. godine je imala 454 798 stanovnika (10,5% ukupnog stanovništva Hrvatske). Županija ima tri glavne reljefne cjeline:

- visoko zaleđe (Dalmatinska zagora) površine 2 992,88 km<sup>2</sup>, 47 st/km<sup>2</sup>
- uzak i gusto naseljen obalni pojas, površine 615,72 km<sup>2</sup>, 485 st/km<sup>2</sup>
- te otoke, površine 915,00 km<sup>2</sup>, 38 st/km<sup>2</sup>.



Slika 2.22. Prikaz Splitsko–dalmatinske županije<sup>90</sup>.

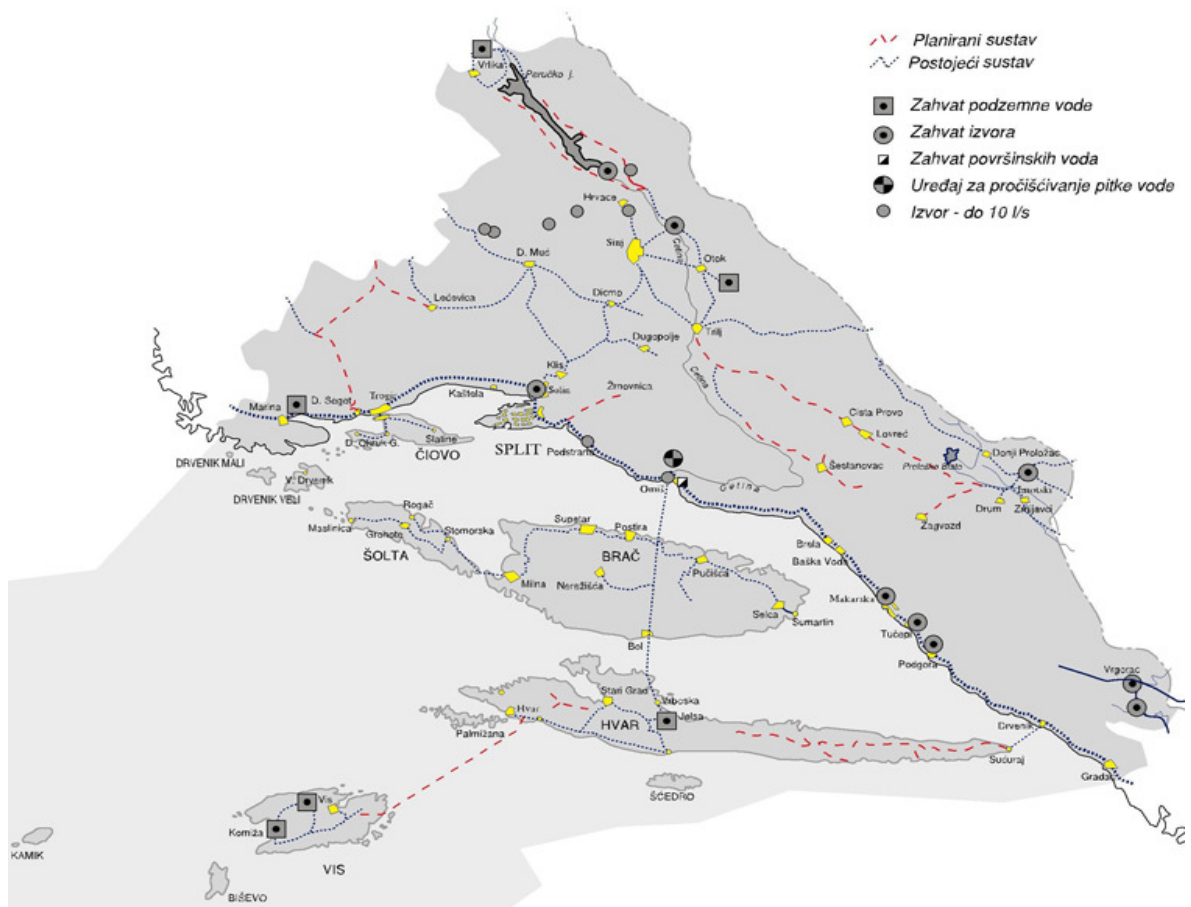
### 2.5.1.1. Temeljne značajke vode u Splitsko–dalmatinskoj županiji

U Hrvatskoj, zemlji koja je izuzetno bogata čistom vodom, podzemne vode predstavljaju najznačajniji izvor vode za piće i u javnom vodoopskrbnom sustavu participiraju s udjelom od 95% tj. 411 zahvata za javnu vodoopskrbu koristi podzemne vode, a tek ih 19 zahvaća površinsku vodu<sup>91</sup>. Dalmacija pripada krškom području, koje ima dosta oborina, ali ipak oskudijeva vodom, jer se ona gubi u pukotinama i najviše podzemno otječe. Opće siromaštvo na površinskim vodama, a veliko bogatstvo i složenost cirkulacije podzemnih voda tipične su pojave dinarskog krša, što je u skladu s hidrogeološkim svojstvima stijena koje su izgrađene uglavnom od karbonatnih stijena nastalih u geološkom razdoblju krede i eocena. Karbonatne stijene zastupljene su pretežno s vapnencima, a manjim dijelom dolomitima, te vapnenačkim i dolomitnim brečama. Zatvorena krška polja jesu slijevna područja, u kojima se voda sakuplja, otječe podzemno, a na nekim mjestima izvire. Općenito se može reći da u kršu postoje dvije vrste toka vode. U gornjemu sloju veoma razvijenoga krša, tok je turbulentan slično onomu u cijevnim sustavima. U nižim krškim slojevima, gdje je više malih pukotina, voda teče veoma slično onomu u propustljivu tlu, pa se zove pukotinski tok. Brojna su istraživanja krša u cijelomu slijevu pokazala da je obujam cijevnoga sustava znatno manji od sveukupnog obujma propustljivoga tla (oko trideset puta), ali da kroz cijevni sustav proteče 50 – 80% sve vode zbog znatno veće propusnosti cijevnoga sustava<sup>15</sup>. Sa stajališta zaštite vode u kršu važan je upravo ovaj brzi cijevni prijenos, koji se najviše aktivira za vrijeme velikih oborina i kada se ostvaruje izravan brz dodir između slijeva i izvorišta, kada je zagađenje izvora brzo i najopasnije. Za sušnoga razdoblja i nižega vodostaja prevladavajući je utjecaj sporijega prihranjivanja i difuznoga tečenja vode do izvora i bunara pa je i tada opasnost od zagađenja izvora znatno manja. Ovo su opći principi, ali su protoci dotoka vode veoma individualni i ovise o svakome izvoru. Za vrijeme dugotrajnih suša i niskih vodostaja podzemnih voda, brzine kretanja vode su male i najčešće su 1 – 5 cm/s, a 10 – 12 cm/s poslije velikih kiša<sup>15</sup>.

Gospodarenje kakvoćom vode krških izvora je zbog njihovih hidroloških i hidrogeoloških karakteristika osobito složen problem. U krškim vodama ima više hidrogenkarbonata nego sulfata i klorida, jer voda najčešće nailazi na karbonatne stijene (vapnenac). Naslage su sulfatnih minerala razmjerno rijetke i slabo topljive, a kloridnih minerala nema. U priobalnom se području, zbog izravnog miješanja morske s

riječnom vodom, može povećati sadržaj klorida. U tim se vodama, osim povećanih klorida, povećava i sadržaj sulfata, natrija i magnezija. Sulfati se i kloridi, u nekim krškim vodama, za razliku od hidrogenkarbonata, znatno mijenjaju u ovisnosti o razini podzemnih voda, odnosno o oborinama. U sušno doba koncentracija je tih iona veća nego u kišno. Krška je voda često bakterijski zagađena zbog propusnosti tla, osobito u kišno doba, a u podzemlju su slabe mogućnosti samopročišćavanja.

Većina je izvora u priobalju poslužila kao mjesto za vodozahvate. Voda izvora Jadro koristi se kao jedini stalni izvor vode za piće za područje Splita, Solina, Kaštela i Trogira; izvor Kosinac i Ruda za Sinj i Trilj; izvor Opačac za Imotski; izvor Cetine za Vrljiku. Izvor Jadro je krški izvor promjenjive izdašnosti. Rijeka Cetina se zahvaća pokraj Gata i Zadvarja i koristi se za vodoopskrbu Makarskoga primorja, Omiša i srednjodalmatinskih otoka (Brača, Hvara i Šolte). Ovisnosti fizikalno–kemijskih karakteristika vode za piće o hidrološkom razdoblju specifična je za svako vodocrpilište. Budući da je razmjerno ograničena opskrba kvalitetnom vodom u Dalmaciji, vdogospodarstvene i zdravstvene ustanove bave se istraživanjima voda u svrhu očuvanje njihove kakvoće i upoznavanja značajki voda s krškog područja<sup>15</sup>. Promatrajući uski primorski pojas Županije, širok 5 – 10 km, uočava se da je vodoopskrba ovoga dijela obale gotovo posve pokrivena vodovodom mrežom (Slika 2.23.). To je ujedno i najbolji način opskrbe potrošača s dovoljnom količinom vode ispravne zdravstvene kakvoće. Nadzor nad vodom za piće je reguliran, a obavlja ga sanitarna inspekcija uz suradnju ovlaštenih laboratorija (Zavodi za javno zdravstvo)<sup>13</sup>.



Slika 2.23. Vodoopskrbni sustav Splitsko–dalmatinske županije<sup>92</sup>.

Na području Županije postoji sedam vodoopskrbnih sustava: Vodoopskrbni sustav Split–Solin–Kaštela–Trogir, Vodoopskrbni sustav Omiš–Brač–Hvar–Vis–Šolta, Imotski vodovod, Vrgorski vodovod, Sinjski vodovod, Vodovod Makarskoga primorja i Vrlički vodovod<sup>93</sup>.

#### 2.5.1.1.1. Vodoopskrbni sustav Split–Solin–Kaštela–Trogir

Područje gradova Splita, Solina, Kaštela i Trogira opskrbljuju se vodovodnom vodom s izvorišta rijeke Jadro, a s izvorišta rijeke Žrnovnice opskrbljuju se naselja Žrnovnica i Sitno Donje. Voda zahvaćena na izvoru Jadro gravitacijom se dovodi do glavnih crpnih stanica, a potrebne količine vode dalje se razvode do glavnih vodosprema. Za vladavine Rimljana, car je Dioklecijan sagradio prostranu palaču u

Splitu i vodovod, kojim je voda dotjecala s izvora rijeke Jadro do njegova obitavališta. Njegovim vodovodom se i danas služi stanovništvo grada Splita (Slika 2.24.).



Slika 2.24. Prikaz splitskog akvadukta noću<sup>94</sup>.

Glavne crpne stanice za grad Split jesu Kopolica i Ravne Njive. Stara crpna stanica Kopolica ima kapacitet 980 l/s, a crpna stanica Ravne Njive 900 l/s.

#### 2.5.1.1.1.1. Izvor Jadro

Područja gradova Splita, Solina, Kaštela i Trogira, te općine Podstrana, Klis, Seget i Okrug vodom se opskrbljuju s krškog izvorišta Jadro, udaljenog oko 4 km sjeverozapadno od središta Solina (Slika 2.25.). Slijevno područje Jadra seže duboko u zaleđe splitskog bazena i graniči sa sljevovima izvora Pantana na zapadu, rijeke Čikole na sjeveru i rijeke Cetine na istoku. Na osnovi dosadašnjih hidrogeoloških studija pretpostavlja se da površina slijeva Jadro iznosi oko 300 km<sup>2</sup>. Izvor Jadro je najizdašniji zahvaćeni krški izvor na području Županije i predstavlja najznačajniji objekt u vodoopskrbnom sustavu grada Splita. U zadnjih nekoliko godina došlo je do dinamične urbanizacije na području cijelog slijeva, što nažalost uzrokuje i znatne negativne promjene u kakvoći podzemne vode, a posebno u odnosu na sve učestaliju pojavu prekomjernog zamućenja<sup>95</sup>.



Slika 2.25. Izvor Jadro<sup>96</sup>.

Voda izvora Jadro je kalcijsko–bikarbonatnoga tipa, sadržava razmjerno malen isparni ostatak, male je mineralizacije i umjereno je tvrda. Glede bakterijskog zagađenja, voda izvora Jadro prije upuštanja u vodoopskrbni sustav kloriranjem se dovodi u zdravstveno ispravno stanje<sup>93</sup>. Osim dezinfekcije klorom voda s izvora Jadro nema nikakve druge higijenske obrade sirove vode poput taloženja i filtriranja.

Tablica 2.1. Srednje petogodišnje vrijednosti rezultata analize uzoraka vode uzetih sa izvora Jadro (2003. – 2007.)<sup>97</sup>.

Pokazatelji kakvoće	Izvor Jadro
T, °C	12,60
pH	7,50
CO <sub>2</sub> , mg/l	8,00
otopljeni kisik, mg O <sub>2</sub> /l	12,00
BPK <sub>5</sub> , mg O <sub>2</sub> /l	1,00
utrošak KMnO <sub>4</sub> , mg O <sub>2</sub> /l	6,40
isparni ostatak, mg/l	225,00
NH <sub>3</sub> , mg N/l	0
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> , mg N/l	0
Cl <sup>-</sup> , mg/l	13,00
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , mg/l	17,00
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , mg CaCO <sub>3</sub> /l	189,00
tvrdoa, mg CaCO <sub>3</sub> /l	213,00
Ca, mg CaCO <sub>3</sub> /l	169,50
Mg, mg CaCO <sub>3</sub> /l	43,50
Na, mg/l	1,90
ukupni broj bakterija, broj/1 ml	213,00
ukupni koliformi, broj/100 ml	150,00
fekalni koliformi, broj/100 ml	80,00

#### 2.5.1.1.2. Vodoopskrbni sustav Makarskog primorja

Grad Makarska i područje Makarske rivijere priključeni su na vodovod Makarskog primorja (duljina razvodne mreže je 54 km), a koji se opskrbljuje sa vodozahvata na rijeci Cetini pokraj Zadvarja, a dio godine opskrba vodom obavlja se uporabom staroga makarskog vodovoda (Vrutak)<sup>15,93</sup>. Cijevi vodovodnog sustava su čelično–azbestno–cementne.

##### 2.5.1.1.2.1. Vodozahvat na rijeci Cetini

Rijeka Cetina ima važno mjesto u vodoopskrbi Županije, a protječe tipičnim krškim područjem gdje se može pratiti prelijevanje vode iz površinskog okoliša u podzemni i obrnuto. Često se zove kraška ljepotica i cijeli je njezin tok, povezan s

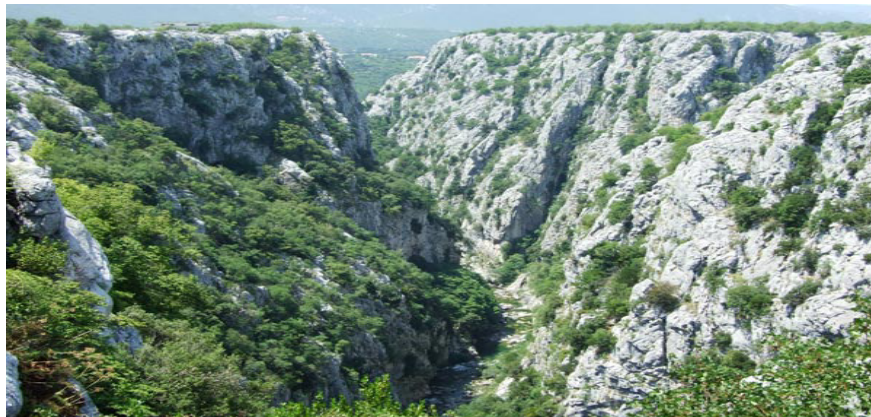


poljima u jugozapadnoj Bosni. Njezine vode poniru niz padine Dinare i Kamešnice, na rubu Livanjskog polja i Buškog blata, te izviru na vrelima u dolini Cetine (Slika 2.26.). Cetina pripada Jadranskom slijevu, duga je 105 km i ulijeva se u Jadransko more kod Omiša.



Slika 2.26. Izvor rijeke Cetine<sup>98</sup>.

Vodozahvat na rijeci Cetini je pokraj Zadvarja, te se koristi za vodoopskrbu Makarskoga primorja. Voda na navedenom zahvatu je kalcijsko–bikarbonatnoga tipa, umjereno tvrda. Voda se pročišćava filtriranjem preko pješčanog filtra u Zadvarju, a potom se dezinficira plinovitim klorom pomoću klorinatora.



Slika 2.27. Kanjon Cetine, Zadvarje<sup>99</sup>.

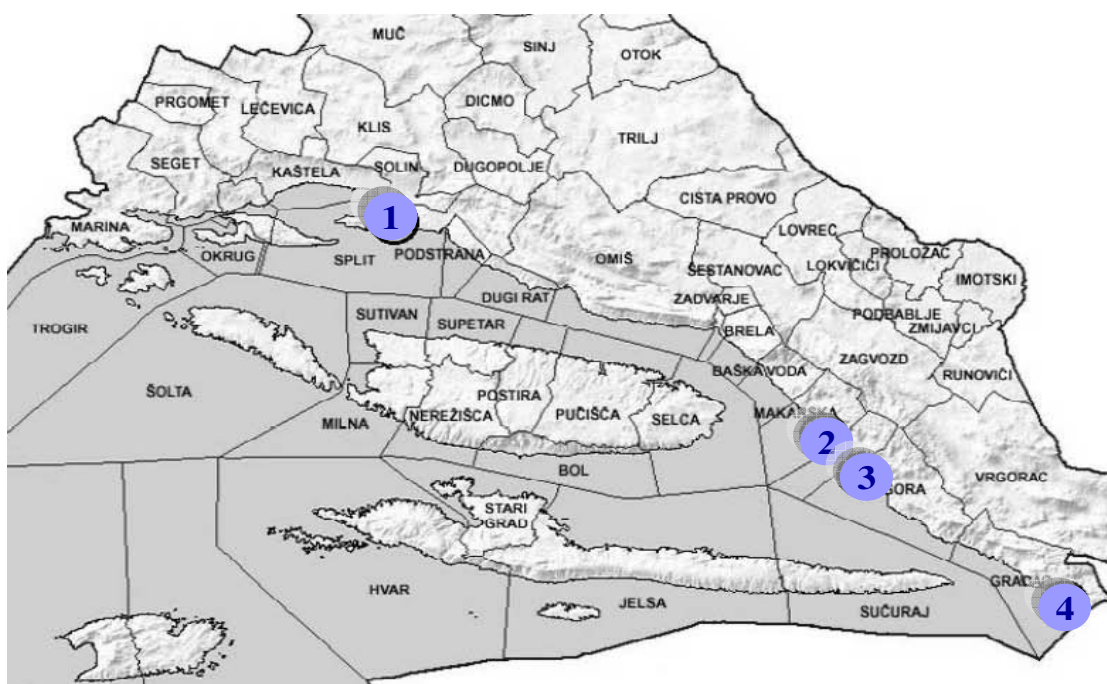
Tablica 2.2. Srednje petogodišnje vrijednosti rezultata analize uzoraka vode uzetih sa vodozahvata na Cetini, Zadvarje (2003. – 2007.)<sup>97</sup>.

Pokazatelji kakvoće	Vodozahvat Cetine, Zadvarje
T, °C	13,00
pH	7,70
CO <sub>2</sub> , mg/l	5,00
otopljeni kisik, mg O <sub>2</sub> /l	11,00
BPK <sub>5</sub> , mg O <sub>2</sub> /l	1,80
utrošak KMnO <sub>4</sub> , mg O <sub>2</sub> /l	8,00
isparni ostatak, mg/l	215,00
NH <sub>3</sub> , mg N/l	0
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> , mg N/l	0
Cl <sup>-</sup> , mg/l	11,00
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , mg/l	10,00
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , mg CaCO <sub>3</sub> /l	168,00
tvrdća, mg CaCO <sub>3</sub> /l	200,00
Ca, mg CaCO <sub>3</sub> /l	153,50
Mg, mg CaCO <sub>3</sub> /l	46,50
Na, mg/l	6,70
ukupni broj bakterija, broj/1 ml	34,00
ukupni koliformi, broj/100 ml	100,00
fekalni koliformi, broj/100 ml	33,00

### **3. METODOLOGIJA**

### 3.1. Tehničko–tehnološke karakteristike sustava opskrbe toplom vodom u odabranim objektima

Fizikalno–kemijski pokazatelji kakvoće tople vode i prisutnost *Legionella spp.* praćeni su u sustavu opskrbe toplom vodom u trima hotela i jednom domu za starije i nemoćne osobe u razdoblju od 2009. do 2012. godine. Svi objekti su smješteni na području Splitsko–dalmatinske županije (Slika 3.1.). U sklopu istraživanja provedena je anketa o tehničko–tehnološkim karakteristikama svakog objekta i vodoopskrbnog sustava, te su prikupljene informacije o drugim čimbenicima koji mogu utjecati na kakvoću vode. Anketom su obuhvaćeni podaci o mjesečnoj i godišnjoj potrošnji vode po objektu, o konstrukcijskom materijalu cjevovoda, tipu bojlera i sustavu grijanja vode kao i podaci o tome je li unutar objekta postoji sustav za mekšanje vode.



Slika 3.1. Prikaz smještaja odabranih hotela i doma za starije i nemoćne osobe<sup>100</sup>, označenih kao: Objekt 1, Objekt 2, Objekt 3 i Objekt 4.

### **3.1.1. Objekt 1**

Objekt je izgrađen 1989. godine u gradu Splitu i otvoren je tijekom cijele godine. Cjevovod vanjske mreže je izrađen od pocinčanih cijevi, kao i sustav cijevi za distribuciju tople vode unutar Objekta 1. Topla voda se priprema u kotlovnici koja koristi tekuća goriva, a postoji i neovisan sustav grijanja vode po kupaonicama. Tip bojlera po kupaonicama i kuhinjama je akumulacijski, a unutar Objekta 1 ne postoji sustav za mekšanje vode.

### **3.1.2. Objekt 2**

Nalazi se na području Makarske rivijere na udaljenosti 20 m od mora. Izgrađen je 1976. godine i otvoren je tijekom godine od mjeseca travnja do listopada. Sustav cijevi vanjske mreže je izrađen od pocinčanih, a cjevovod za distribuciju tople vode unutar Objekta 2 izrađen je od plastičnih (PVC) cijevi. Topla sanitarna voda se priprema u kotlovnici, koja koristi tekuća goriva. Unutar Objekta 2 ne postoji sustav za mekšanje vode, a tip bojlera po kupaonicama je akumulacijski.

### **3.1.3. Objekt 3**

Objekt 3 je smješten na području Makarske rivijere, udaljen je 10 m od mora, a od središta mjesta 400 m. Izgrađen je 1983. godine i otvoren je tijekom cijele godine. Cjevovod za distribuciju tople vode unutar Objekta 3 je izrađen od plastičnih (HDPE) cijevi, a razvodna mreža vodoopskrbnog cjevovoda od pocinčanih cijevi. Unutar Objekta 3 postoji sustav za mekšanje vode, a sanitarna voda se grije u centralnoj kotlovnici na tekuća goriva. U kupaonicama su instalirani akumulacijski bojleri.

### **3.1.4. Objekt 4**

Izgrađen je 1978. godine i smješten je na području Makarskog primorja, u gradiću udaljenom 20 km od Makarske (80 km od Splita i 120 km od Dubrovnika). Nalazi se na šljunčanoj plaži, okružen mediteranskim raslinjem, a otvoren je tijekom godine od mjeseca travnja do listopada. Objekt 4 se sa sanitarnom vodom opskrbljuje preko

vanjske vodovodne mreže koja je izrađena od pocinčanih čeličnih cijevi, a razvodne cijevi tople vode unutar Objekta 4 su izrađene od plastičnih (PVC) cijevi. U Objektu 4 postoji sustav za mekšanje vode. Sanitarna voda se grije pomoću neovisnih električnih aparata, a bojleri po kupaonicama su akumulacijski.

### 3.2. Uzorkovanje vode

Uzorci vode su uzimani jednom mjesečno u svakom Objektu u razdoblju od 2009. do 2012. godine. Uzorkovanje se provodilo iz više odabranih slavina u kuhinjama i kupaonicama. Pri uzorkovanju svaka boca jasno se označila s brojem uzorka, a na popratne dokumente zabilježen je nadnevak i mjesto uzorkovanja, te izmjerene pH vrijednosti i koncentracije slobodnog rezidualnog klora. Prije uzorkovanja, ukoliko su zatečeni, uklone se nastavci sa slavina kao što su gumena crijeva ili metalne mrežice, pusti hladna voda da teče jakim mlazom barem 3 minute i zatim se izmjeri koncentracija slobodnog rezidualnog klora i pH vrijednost. Nakon provedenih mjerenja u uzorcima hladne vode, oprezno se spali otvor slavine plamenikom i otvori se slavinna s toplom vodom da teče 1 – 2 minute, te se izmjeri temperatura vode. Voda se, za kemijsku i mikrobiološku analizu<sup>101</sup>, uzorkuje u sterilizirane boce, volumena od 1000 ml, u koje je prethodno automatskim pipetom dodano 0,1 ml 10%-tne otopine natrijeva tiosulfata. Ukoliko je u vodi prisutan slobodni rezidualni klor, natrijev tiosulfat blokira njegovo daljnje djelovanje u uzorku. Nakon opreznog skidanja čepa s boce, boca se napuni s toplom vodom do iznad oznake za 1000 ml. Sterilna boca se ne smije napuniti do vrha da bi se uzorak mogao promiješati prije analize jer treba nakon stavljanja čepa ostati prostor ispunjen zrakom. Uzorak vode se dostavlja u laboratorij na bakteriološku analizu u roku od šest sati u ručnom hladnjaku pri 4°C. Od ukupnog volumena uzorka vode odlilo se 50 ml za kemijske analize, a preostali volumen se koristio za mikrobiološku analizu.

### 3.3. Materijali i kemikalije

- standard za određivanje slobodnog rezidualnog klora, DPD Free Chlorine (Hach, USA)
- standardna pufer otopina, pH = 4,00 (Merck, Germany)
- standardna pufer otopina, pH = 7,00 (Merck, Germany)
- otopina kalijeva klorida,  $c = 3 \text{ mol/l}$ , (Merck, Germany)
- plinska smjesa,  $\text{C}_2\text{H}_2$ /zrak za određivanje Fe, Zn, Ca i Mg, ( $\text{C}_2\text{H}_2 = 2,0 \text{ l/min}$ , zrak = 15,0 l/min)
- plinska smjesa,  $\text{C}_2\text{H}_2$ /zrak za određivanje Mn i Cu, ( $\text{C}_2\text{H}_2 = 2,2 \text{ l/min}$ , zrak = 15,0 l/min)
- otopina natrijeva tiosulfata, 10% otopina, p. a. (Merck, Germany)
- otopine dušične kiseline, 5% i 65% otopina, p. a. (Merck, Germany)
- standardna otopina Merck – CertiPUR za Fe,  $\gamma = 999 \pm 2 \text{ mg/l}$ , p. a. (Merck, Germany)
- standardna otopina Merck – CertiPUR za Zn,  $\gamma = 1001 \pm 2 \text{ mg/l}$ , p. a. (Merck, Germany)
- standardna otopina Merck – CertiPUR za Cu,  $\gamma = 1000 \pm 2 \text{ mg/l}$ , p. a. (Merck, Germany)
- standardna otopina Merck – CertiPUR za Mn,  $\gamma = 999 \pm 2 \text{ mg/l}$ , p. a. (Merck, Germany)
- standardna otopina Merck – CertiPUR za Ca,  $\gamma = 1000 \pm 2 \text{ mg/l}$ , p. a. (Merck, Germany)
- standardna otopina Merck – CertiPUR za Mg,  $\gamma = 1000 \pm 2 \text{ mg/l}$ , p. a. (Merck, Germany)
- GVPC agar – *Legionella* GVPC agar, (bioMérieux, France)
- BCYE agar – *Legionella* BCYE agar s L–cisteinom, (bioMérieux, France)
- BCY agar – *Legionella* BCY agar bez L–cisteina, (bioMérieux, France)
- slidex *Legionella* kit, (Oxoid, UK)
- *Legionella* Latex test, (Oxoid, UK).

### 3.4. Instrumentacija i pribor

- digitalni kolorimetar, Pocket Colorimeter Chlorine (Hach, USA)
- kivete, 10 ml
- pH metar, 827 pH lab (Metrohm, Switzerland)
- kombinirana elektroda, AG 9101 (Metrohm, Switzerland)
- laboratorijske čaše, 100 ml
- termometar, HI 98509 Checktemp 1 Pocket Thermometer (Hanna, USA)
- analitička vaga, (Tehtnica, Slovenija)
- automatski pipetor, (Brand, Germany)
- sterilne boce za uzorkovanje, 1 l
- prijenosni hladnjak
- atomski apsorpcijski spektrometar, Z-2000 (Hitachi, Japan)
- pipete 1-5  $\mu$ l, 5-50  $\mu$ l i 0,2-1 ml (Brand, Germany)
- odmjerne tikvice, 100, 200 i 1000 ml
- sigurnosni kabinet (Bicasa, Italy)
- plinski plamenik (Bunsenov plamenik)
- aparatura za membransku filtraciju (Sartorius, Germany)
- sterilni membranski filtri, veličine pora 0,20  $\mu$ m (Millipore, USA)
- pincete sa zaobljenim krajem
- bakteriološki elektronski termostat, BTE-S (Termo–medicinski aparati, Hrvatska)
- sterilne plastične eze s ušicom, 10  $\mu$ l
- sterilne posudice za koncentrat, 100 ml
- povećalo
- brojač kolonija, BZG 30 (WTW, Germany).



### 3.5. Određivanje fizikalno–kemijskih pokazatelja kakvoće vode

Od fizikalno–kemijskih pokazatelja kakvoće vode u uzorcima hladne vode na mjestu uzorkovanja određen je slobodni rezidualni klor i pH vrijednost, a u uzorcima tople vode izmjerena je temperatura na mjestu uzorkovanja, a u laboratoriju koncentracije Fe, Zn, Cu, Mn, Ca i Mg.

#### 3.5.1. Određivanje koncentracije slobodnog rezidualnog klora

Mjerenje slobodnog rezidualnog klora vrši se standardnom metodom pomoću prijenosnog digitalnog kolorimetra (Slika 3.2.). Na početku postupka kiveta se napuni s 10 ml uzorka vode, postavi u aparat, pritisne se tipka "ZERO" i aparat pokaže vrijednost 0,00. Zatim se napuni druga kiveta s 10 ml istog uzorka, stavi standard s reagensom za slobodni rezidualni klor, poklopi aparat, te pritisne tipka "READ". U roku do 60 sekundi, na kolorimetru se izravno očita koncentracija slobodnog rezidualnog klora u mg Cl<sub>2</sub>/l. Mjerno područje je od 0,00 do 2,00 mg Cl<sub>2</sub>/l, sa standardnim odstupanjem ± 0,01 mg Cl<sub>2</sub>/l, pri radnoj temperaturi 10 – 40°C. Kolorimetar se umjerava jednom godišnje u umjernom laboratoriju.



Slika 3.2. Prijenosni digitalni kolorimetar s pripadajućim kivetama (Hach, USA)<sup>102</sup>.

### 3.5.2. Određivanje pH vrijednosti

pH vrijednost određena je elektrometrijskom metodom<sup>103</sup>, pomoću pH–metra model 827 pH lab (Slika 3.3.). Korištena je kombinirana elektroda AG 9101, čije je mjerno područje 4 – 9 pH jedinica, pri radnoj temperaturi od 25°C, a osjetljivost je  $\pm 0,001$  pH jedinica. Kalibracija pH–metra provodi se jednom dnevno prije početka mjerenja s dvije standardne pufer otopine pH = 4,00 i pH = 7,00. Poslije se vrši ispiranje elektrode demineraliziranom vodom, pa uzorkom. Mjerenje pH vrijednosti uzorka provodi se uranjanjem elektrode u uzorak i očitavanjem ustaljene pH vrijednosti na ekranu pH–metra. Nakon očitane pH vrijednosti, elektroda se ispiru s demineraliziranom vodom, te se uroni u kapicu napunjenu s kalijevim kloridom.



Slika 3.3. pH–metar, 827 pH lab<sup>104</sup>.

### 3.5.3. Određivanje temperature

Mjerenje temperature provodi se sa standardnom metodom, a vrši se s umjerenim prijenosnim digitalnim termometrom<sup>105</sup>. Provodi se na način da se temperaturna sonda uroni u vodu, te se pričekava da digitalna jedinica pokaže ustaljeni iznos izmjerene

temperature (Slika 3.4.). Mjerno područje instrumenta je od  $-50^{\circ}\text{C}$  do  $150^{\circ}\text{C}$ , a osjetljivost je  $\pm 0,3^{\circ}\text{C}$ .



Slika 3.4. Termometar, HI 98509 Checktemp 1.

#### **3.5.4. Određivanje koncentracije metalnih iona**

Za kvalitativno i kvantitativno određivanje koncentracije metalnih iona u uzorku vode koristi se metoda atomske apsorpcijske spektroskopije (AAS)<sup>106</sup> i to plamena atomska apsorpcijska spektroskopija (FAAS)<sup>107</sup>.

##### **3.5.4.1. Atomska apsorpcijska spektroskopija**

Atomska apsorpcijska spektroskopija je visoko selektivna instrumentalna tehnika pri kojoj slobodni atom metala apsorbira svjetlo (elektromagnetsko zračenje) određene valne duljine i prelazi iz osnovne energijske razine na višu energijsku razinu. Ta sposobnost atoma da apsorbira energiju određene valne duljine, a koja je proporcionalna količini prisutnih atoma, koristi se za određivanje koncentracije pojedinog elementa.

Iz omjera početnog i propuštenog intenziteta svjetlosti, pomoću Lamber–Beerova zakona, izračuna se apsorbanacija, tj. koncentracija metala:

$$\log \frac{I_0}{I} = k \cdot n \cdot b \quad (3-1)$$

gdje su:

$I_0$  – početni intenzitet svjetlosti

$I$  – intenzitet svjetlosti nakon prolaska kroz ispitivani uzorak

$k$  – konstanta proporcionalnosti (ovisi o ispitivanom metalu)

$n$  – broj atoma analiziranog metala

$b$  – debljina sloja raspršenih čestica koje sadrže analizirani metal.

Za određivanje koncentracije metalnih iona (Fe, Zn, Cu, Mn, Ca i Mg) korišten je atomski apsorpcijski spektrometar (Slika 3.5.) model Hitachi Z–2000. Koncentracije Fe, Zn, Cu, Mn u uzorcima vode određivane su od 2009. do 2012. godine, a koncentracije Ca i Mg tijekom 2009. i 2010. godine.



Slika 3.5. Atomski apsorpcijski spektrometar, Hitachi Z–2000.

### 3.5.4.1.1. Određivanje koncentracije metalnih iona tehnikom plamene atomske apsorpcijske spektroskopije

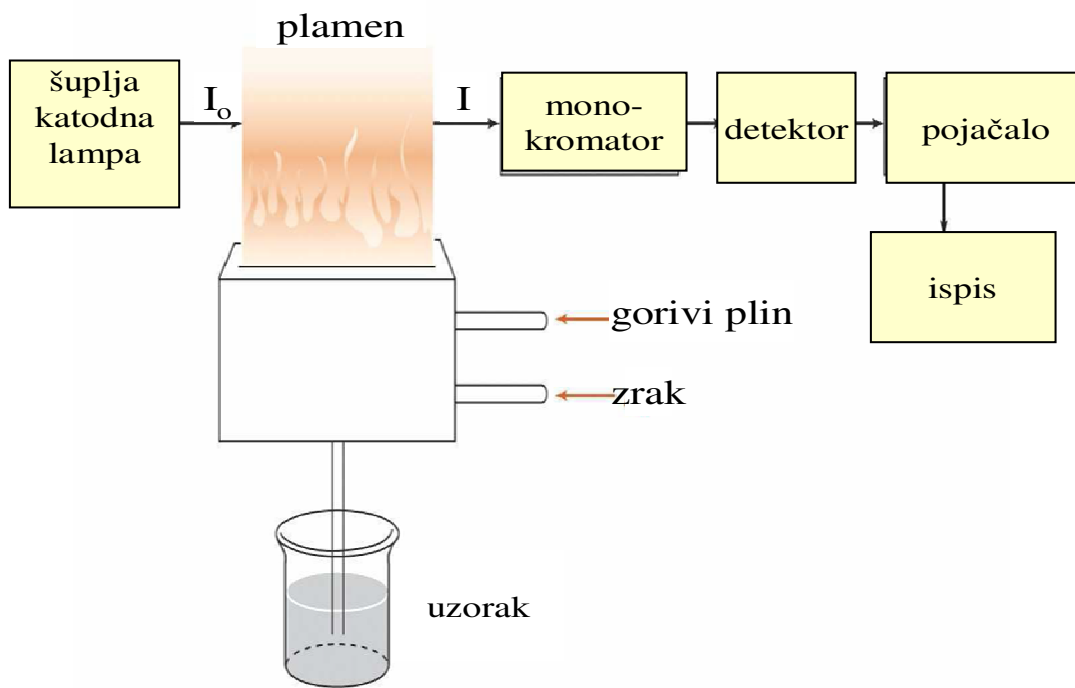
Uzorak se prevodi u stanje slobodnog atoma procesom atomizacije primjenom energije plamena. Za učinkovitost atomizacije važno je da se temperaturom plamena osigura maksimalna atomizacija i minimalna ionizacija uzorka. Temperaturno područje plamena nastalog izgaranjem smjese  $C_2H_2$ /zrak je od 2 200 do 2 400°C. Povišenje temperature utječe na povećanu učinkovitost atomizacije, a time i na osjetljivost metode. Pri određivanju metalnih iona korišten je plamen smjese plinova  $C_2H_2$ /zrak. Radni uvjeti za navedene metale prikazani su u Tablici 3.1.

Tablica 3.1. Radni uvjeti za određivanje koncentracija metalnih iona.

Metal	Fe	Zn	Cu	Mn	Ca	Mg
katodna lampa	Fe – HCL	Zn – HCL	Cu – HCL	Mn – HCL	Ca – HCL	Mg – HCL
valna duljina, nm	248,3	213,9	324,8	279,5	422,7	285,2
mjerni signal	površina signala	površina signala	površina signala	površina signala	površina signala	površina signala
vrijeme integriranja, s	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0
širina razreza, mm	0,8	0,5	0,5	0,2	0,5	1,3
visina plamenika, mm	5	6	6	6	6	7,5

Kod plamene atomske apsorpcijske spektroskopije (FAAS) izvor svjetlosti emitira linijski spektar<sup>107</sup>, a predstavlja ga lampa čija katoda je izrađena od metala kojega određujemo. Emitirane linijske spektre, karakterizira određena valna duljina, jer atomi u slobodnom stanju apsorbiraju strogo određene valne duljine. Na toj činjenici se temelji visoka selektivnost atomske spektroskopije. Koncentracija apsorbiranog zračenja proporcionalna je koncentraciji metala u plamenu<sup>108</sup>. Određene valne duljine odvajaju

se monokromatorom i detektiraju, te se prevode u elektronski signal<sup>109</sup>. Signal se prenosi u računalo, a koncentracija metala očita se na monitoru, Slika 3.6..



Slika 3.6. Shematski prikaz FAAS<sup>110</sup>.

#### 3.5.4.1.1.1. Postupak analize

Analiza se provodi prema sljedećem redosljedju:

- na ekranu atomskog apsorpcijskog spektrometra nalazi se tablica za kemijske elemente, gdje se unese željeni metal
- odabrana lampa se zagrije
- zadaju se radni uvjeti za određeni metal (Tablica 3.1.)
- vrši se kalibracija u jednoj točki sa standardnom otopinom poznate koncentracije
- uključi se plamen
- vrši se očitavanje slijepe probe
- vrši se kalibracija u drugoj točki sa standardnom otopinom poznate koncentracije

- mjerenje nepoznate koncentracije metalnog iona u uzorku.

Granica detekcije koristi se kao pokazatelj validacije korištene metode, a predstavlja najnižu koncentraciju metala koji se može dokazati u uzorku, pri navedenim eksperimentalnim uvjetima. Izražava se kao koncentracija, a računa se iz veličine signala za navedeni analitički postupak<sup>111,112</sup>.

Za svaki metal odredi se granica detekcije prema jednadžbi (3–2):

$$GD = Y_{sp} + 3 SD_{sp} \quad (3-2)$$

gdje su:

GD – granica detekcije,  $\mu\text{g/l}$

$Y_{sp}$  – prosječna vrijednost signala za slijepu probu,  $\mu\text{g/l}$

$SD_{sp}$  – standardno odstupanje za slijepu probu,  $\mu\text{g/l}$ .

Granice detekcije su za: Fe 5  $\mu\text{g/l}$ , Zn 1,5  $\mu\text{g/l}$ , Cu 1,5  $\mu\text{g/l}$ , Mn 10  $\mu\text{g/l}$ , Ca 1,5  $\mu\text{g/l}$  i Mg 0,15  $\mu\text{g/l}$ <sup>111</sup>.

#### 3.5.4.1.1.2. Priprava laboratorijskog posuđa i pribora

Laboratorijski pribor i posuđe koje se koristi za atomsku apsorpcijsku spektroskopiju pere se sa sredstvom za pranje posuđa, te ispiru s vodovodnom vodom. Zatim se posuđe potapa 24 sata u 5%-tnoj otopini dušične kiseline. Nakon potapanja posuđe se ispiru s demineraliziranom vodom, te ostavi na zraku da se osuši.

#### 3.5.4.1.1.3. Priprava uzorka vode

Za određivanje koncentracije metalnih iona u uzorcima vode, u svrhu konzerviranja istih, dodaje se 0,1 ml 65%-tne otopine dušične kiseline u 50 ml uzorka.

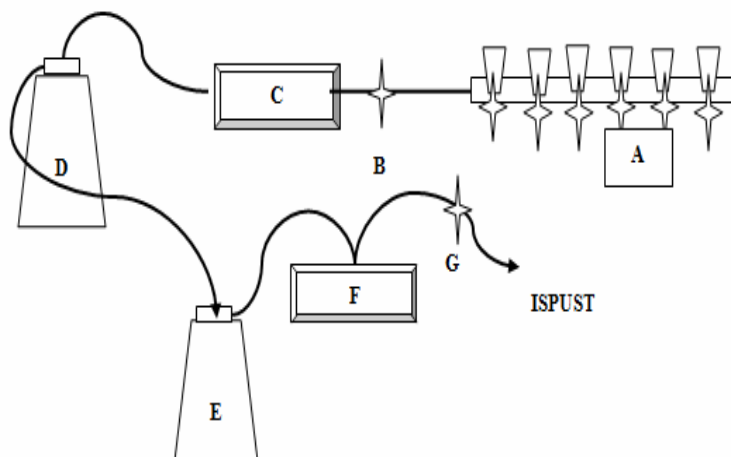
#### 3.5.4.1.1.4. Određivanje umjernih pravaca

Kvantitativno određivanje nepoznate koncentracije metalnih iona u uzorcima vode provedeno je korištenjem umjernih pravaca. Umjerni pravci su dobiveni mjerenjem apsorpcije standardnih otopina poznatih koncentracija, pri točno određenim radnim uvjetima. Iz navedenih koncentracija originalnih standarda, pripremljene su otopine standardnih koncentracija razrjeđivanjem originalnih standardnih otopina s demineraliziranom vodom. U radu su za svaki metal pripremljene po dvije standardne otopine poznate koncentracije i nacrtani umjerni pravci.


### 3.6. Određivanje bakterija *Legionella spp.*

Metoda kultivacije i identifikacije *Legionella spp.* provodila se sukladno normi ISO 11731–2:2004<sup>113</sup>. Prije postupka membranske filtracije boce s uzorcima su se dobro protresle, u svrhu homogeniziranja njihova sadržaja. Uzorci voda, volumena od 1 l, su filtrirani pomoću sustava za membransku filtraciju (Slika 3.7.).





Slika 3.7. Shema sustava za membransku filtraciju.

-  ventil  
 A sterilni membranski filtri s pripadajućim ventilima  
 B ventil na cijevi prema sigurnosnoj boci  
 C vakuum pumpa  
 D sigurnosna boca  
 E boca za prikupljanje filtrata  
 F vakuum pumpa za pražnjenje filtrata  
 G ventil na cijevi prema ispustu.

Sustav za membransku filtraciju je smješten unutar sigurnosnog kabineta. Filtracija se provodi kroz dva sterilna filtra, metalni filtar (inkorporiran u aparaturi za membransku filtraciju) i celulozni koji je postavljen na metalni filtar s malim porama od  $0,20 \mu\text{m}$  jer je *Legionella spp.* male veličine.

Poslije membranske filtracije sa sterilnom pincetom uzima se celulozni filtar s metalnog membranskog filtra. Celulozni filtar papir s koncentriranom mikroflorom se zatim položi licem prema gore u sterilnu plastičnu posudicu, u koju se ulilo 10 ml uzorka vode. Poslije se filtar papir par puta lagano ostruže sa sterilnom ezom, a potom se provede nasijavanje s ezom, na selektivnu GVPC agar podlogu ( $\text{pH} = 6,9 \pm 0,1$  pri  $25^\circ\text{C}$ ), a zatim i inkubiranje 7 dana pri  $36 \pm 1^\circ\text{C}$ .

Tablica 3.2. Sastav GVPC agara.

Sastav	g/l
kvašćev ekstrakt	10,00
L–cistein hidroklorid	0,40
željezov piro-sulfat	0,25
$\alpha$ –ketoglutarat	1,00
aktivni ugljen	2,00
ACES (N–2–acetamido–2–aminoetan sulfonska kiselina)	12,80
agar	16,00
glicin	3,00
Vancomycin	0,001
Cycloheximid	0,08
Polimiksin B	80 000 IU*

IU\* – internacionalne jedinice

Nakon inkubacije, morfološki karakteristične kolonije su se subkultivirale na BCYE i BCY agaru. Inkubacija se provodila najmanje 2 dana pri  $36 \pm 1^\circ\text{C}$ . Poslije 2 dana provjeren je porast na BCYE i BCY agaru (Tablica 3.3. i Tablica 3.4.).

Tablica 3.3. Sastav BCYE agara.

Sastav	g/l
kvašćev ekstrakt	10,00
ACES (N–2–acetamido–2–aminoetan sulfonska kiselina)	12,80
aktivni ugljen	2,00
agar	12,00
$\alpha$ –ketoglutarat	1,00
željezov piro-sulfat	0,25
L–cistein hidroklorid	0,40

Tablica 3.4. Sastav BCY agara.

Sastav	g/l
kvašćev ekstrakt	10,00
aktivni ugljen	2,00
ACES (N–2–acetamido–2–aminoetan sulfonska kiselina)	12,80
$\alpha$ –ketoglutarat	1,00
željezov piro-sulfat	0,25
agar	12,00

Kolonije koje su se razvile samo na BCYE agaru, ali ne i na BCY agaru, jesu potvrda da se radi o prisutnosti *Legionella spp.* u uzorku. BCYE agar (pH =  $6,9 \pm 0,1$  pri 25°C) je selektivna podloga koja omogućava rast Gram-negativnih bakterija iz roda *Legionella spp.*. Za potvrdni test koristi se test aglutinacije koji omogućava odvojeno prepoznavanje *Legionella pneumophila* seroskupine 01 i seroskupina 2–14.

### 3.7. Metode statističke obrade eksperimentalnih rezultata

Statistička obrada rezultata provedena je s ciljem određivanja povezanosti vrijednosti temperature, koncentracije slobodnog rezidualnog klora, pH vrijednosti, te koncentracije iona Fe, Zn, Cu, Mn, Ca i Mg s prisutnošću bakterija *Legionella spp.* u uzorcima tople vode.

U statističkoj obradi je korišten programski paket MedCalc 11.3.0.0; Windows 2000/XP/Vista/7 versions (Copyright 1993-2010, MedCalc Software byba).

Prije statističke obrade rezultata provjeri se raspodjela dobivenih vrijednosti podataka. Ako raspodjela nije pravilna, te u slučaju malog broja uzoraka podatci se obrađuju neparametrijskim metodama. Pri tom su korišteni Spearmanov koeficijent korelacije ( $\rho$ ), Mann–Whitneyev U test, Kruskal–Wallisov K test i Hi–kvadrat test ( $\chi^2$  – test)<sup>114</sup>.

Spearmanov koeficijent korelacije ( $\rho$ ) korišten je za određivanje povezanosti dviju ordinalnih varijabli, tj. mjerenih vrijednosti fizikalno–kemijskih pokazatelja s prisustvom *Legionella spp.*.

Formula za izračunavanje Spearmanova koeficijenta korelacije je:

$$\rho = 1 - 6 \sum_{i=1}^n \frac{d_i^2}{n(n^2 - 1)} \quad (3-3)$$

gdje su:

$\rho$  – Spearmanov koeficijent korelacije

$d_i$  – razlika vrijednosti „rangova“  $i$ -tog para podataka

$n$  – broj parova podataka.

Spearmanov koeficijent korelacije tumači se s obzirom na vrijednost  $\rho$  i na njegovu pripadajuću statističku značajnost (P). Statistički značajna korelacija je ona koja ima  $P < 0,050$ <sup>114</sup>.

Kriteriji za tumačenje koeficijenta korelacije jesu<sup>114</sup>:

$\rho = 0 \pm 0,250$  nema povezanosti

$\rho = \pm 0,260 \pm 0,500$  slaba povezanost

$\rho = \pm 0,510 \pm 0,750$  umjerena povezanost

$\rho = \pm 0,760 \pm 1,000$  vrlo dobra povezanost

$\rho = \pm 1,000$  matematička povezanost.

Za usporedbu mjerenih pokazatelja između dva nezavisna uzorka koja su uzeta iz iste skupine korišten je Mann–Whitney U test (Test sume rangova).

Prikaz formula koje koristi Mann–Whitneyev U test:

$$U_1 = R_1 - \frac{n_1(n_1 + 1)}{2} \quad (3-4)$$

gdje su:

$n_1$  – vrijednost uzorka 1

$R_1$  – broj redova u uzorku 1

$$U_2 = R_2 - \frac{n_2(n_2 + 1)}{2} \quad (3-5)$$

gdje su:

$n_2$  – vrijednost uzorka 2

$R_2$  – broj redova u uzorku 2

$$U_1 \cdot U_2 = n_1 \cdot n_2. \quad (3-6)$$

Statistički rezultati dobiveni Mann–Whitneyevim U testom interpretiraju se na razini značajnosti  $P < 0,050$ . Ako je s Mann–Whitneyevim U testom određena niža statistička značajnost P, taj rezultat ukazuje na izraženije razlike mjerenih pokazatelja između uspoređivanih skupina<sup>114</sup>.

Za usporedbe mjerenih pokazatelja između više od dva nezavisna uzorka koja su uzeta iz iste skupine korišten je Kruskal–Wallisov K test, koji će pokazati je li bilo razlika u izmjenjenim vrijednostima. Matematička formula za izračunavanje Kruskal–Wallisova K testa je:

$$K = (N - 1) \frac{\sum_{i=1}^g n_i (\bar{r}_i - \bar{r})^2}{\sum_{i=1}^g \sum_{j=1}^{n_i} (r_{ij} - \bar{r})^2} \quad (3-7)$$

gdje su:

$n_i$  – broj mjerenja u skupini i

$r_{ij}$  – mjesto promatranja j iz skupine i

N – ukupan broj mjerenja u svim skupinama

$$\bar{r}_i = \frac{\sum_{j=1}^{n_i} r_{ij}}{n_i}$$

$$\bar{r} = \frac{1}{2 \cdot (N + 1)} - \text{srednja vrijednost } r_{ij}.$$

U slučaju da je Kruskal–Wallisov K test pokazao da nema statistički značajnih razlika mjerenih pokazatelja između skupina, tada se nisu radile daljnje usporedbe. Ukoliko je Kruskal–Wallisov K test pokazao statistički značajne razlike mjerenih pokazatelja između skupina, za daljnje usporedbe koristio se Mann–Whitneyev U test. Njime su se kvantitativno pokazale već dokazane razlike mjerenih pokazatelja između skupina.

Za određivanje statističke učestalosti *Legionella spp.* kod nezavisnih uzoraka između određenih skupina, koristio se Hi–kvadrat test ( $\chi^2$  – test). Formula za računanje vrijednosti  $\chi^2$  je:

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^n \frac{(O_i - E_i)^2}{E_i} \quad (3-8)$$

gdje su:

$O_i$  – opažena učestalost

$E_i$  – očekivana učestalost.

Rezultate testa predstavljaju vrijednosti  $\chi^2$ , stupnjevi slobode df i statistički značajna P vrijednost. Što je  $\chi^2$  veći to je *Legionella spp.* povezanija s ispitivanim skupinama. Formula za izračunavanje stupnjeva slobode za tablicu s m redaka i n stupaca je:

$$df = (m-1) \cdot (n-1) \quad (3-9)$$

gdje su:

df – stupanj slobode

m – broj redaka

n – broj stupaca.

## **4. REZULTATI**

#### 4.1. Potrošnja vode unutar objekata

Svi objekti u kojima je ispitivana kakvoća vode opskrbljuje se iz vanjske vodovodne mreže, s instaliranim vodomjerima unutar objekata. Mjesečna potrošnja vode, za svaku godinu u četverogodišnjem razdoblju od 2009. do 2012. godine, prikazana je u Tablicama 4.1. – 4.4..

Tablica 4.1. Potrošnja vode u Objektu 1.

Godina/ Mjesec	2009., m <sup>3</sup>	2010., m <sup>3</sup>	2011., m <sup>3</sup>	2012., m <sup>3</sup>
siječanj	3956	3126	3285	3055
veljača	3741	2653	2587	2714
ožujak	3901	3085	2921	2376
travanj	4549	2864	3516	2937
svibanj	4513	3533	3137	2629
lipanj	3102	2595	3443	2800
srpanj	2945	3623	2988	2919
kolovoz	3406	3417	3266	2690
rujan	3449	2986	3104	3210
listopad	2952	2817	2748	2980
studen	3054	2998	3345	2950
prosinac	3093	3001	3025	3100



Tablica 4.2. Potrošnja vode u Objektu 2.

Godina/ Mjesec	2009., m <sup>3</sup>	2010., m <sup>3</sup>	2011., m <sup>3</sup>	2012., m <sup>3</sup>
travanj	2539	2285	2728	2937
svibanj	3295	1739	3720	3649
lipanj	3992	3281	4307	4850
srpanj	5355	4429	5910	5957
kolovoz	6224	5848	7541	6693
rujan	4601	3216	5161	4780
listopad	2821	2560	3474	2900

Tablica 4.3. Potrošnja vode u Objektu 3.

Godina/ Mjesec	2009., m <sup>3</sup>	2010., m <sup>3</sup>	2011., m <sup>3</sup>	2012., m <sup>3</sup>
siječanj	14	13	12	22
veljača	120	100	173	144
ožujak	2170	880	780	1020
travanj	2180	2600	1970	1888
svibanj	2510	3460	2520	2890
lipanj	3020	3628	3220	3450
srpanj	3750	4580	4150	4298
kolovoz	4010	4440	4280	5008
rujan	3450	3060	3382	3100
listopad	2350	2420	2710	2520
studeni	81	600	450	100
prosinac	28	32	75	57

Tablica 4.4. Potrošnja vode u Objektu 4.

Godina/ Mjesec	2009., m <sup>3</sup>	2010., m <sup>3</sup>	2011., m <sup>3</sup>	2012., m <sup>3</sup>
travanj	1120	998	1120	1208
svibanj	1820	1760	1790	1800
lipanj	3000	3420	3660	3980
srpanj	4250	4050	4120	4200
kolovoz	5160	4960	5560	5650
rujan	3620	3820	3710	3200
listopad	2651	2770	3210	2850

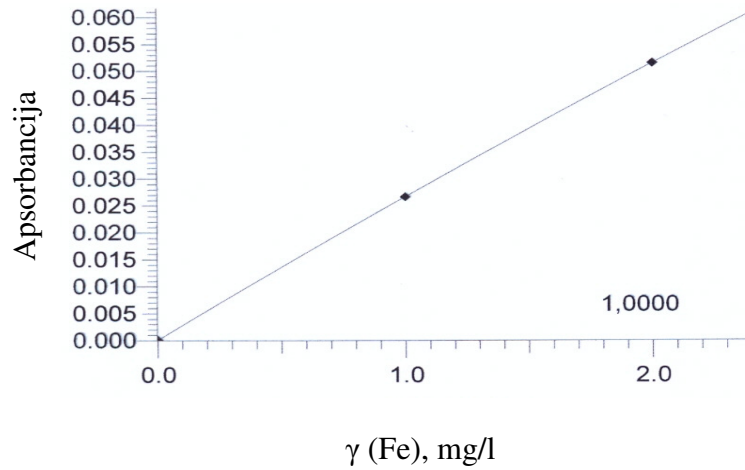
#### 4.2. Umjerni pravci

Mjerena apsorbancija otopinama poznatih masenih koncentracija, navedenih u Tablici 4.5., te korištenjem radnih uvjeta atomskog apsorpcijskog spektrometra (Tablici 3.1.), nacrtani su umjerni pravci<sup>62</sup>.

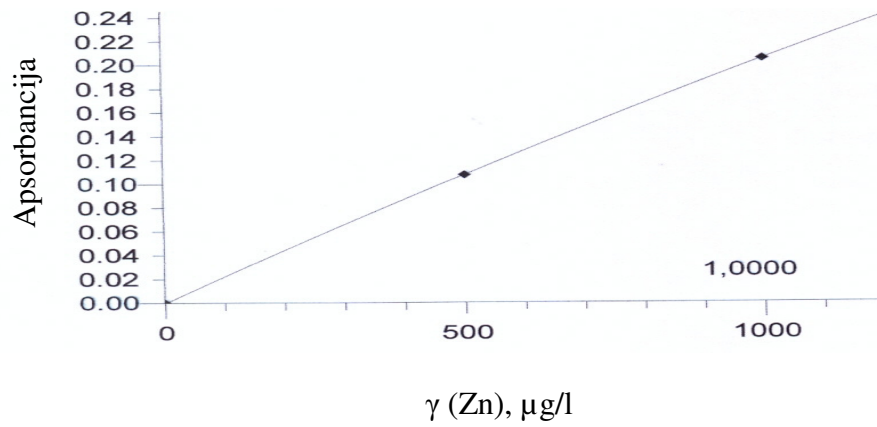
Tablica 4.5. Radne koncentracije standarda.

Metal	$\gamma$ , mg/l	
Fe	1,00	2,00
Zn	0,50	1,00
Cu	0,50	1,00
Mn	0,10	0,20
Ca	5,00	10,00
Mg	0,50	1,00

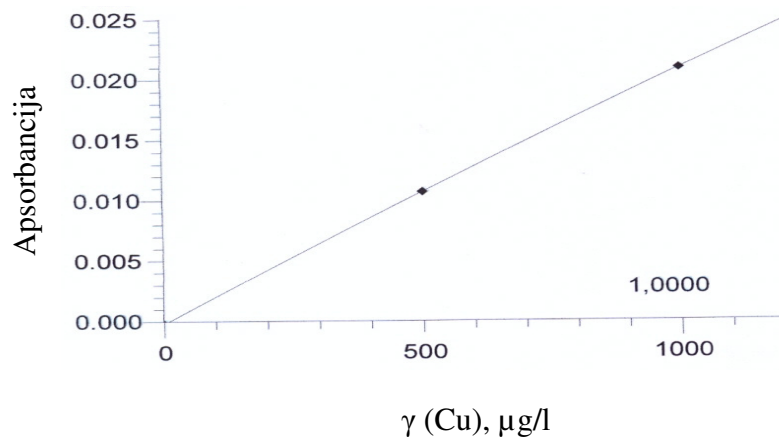
Prikaz umjernih pravaca pomoću kojih je određena nepoznata koncentracija metala u uzorcima (Slike 4.1. – 4.4.).



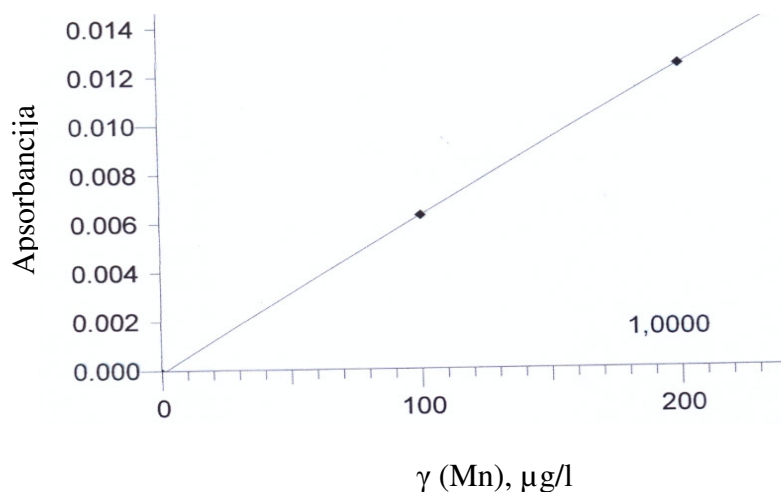
Slika 4.1. Umjerni pravac za željezo.



Slika 4.2. Umjerni pravac za cink.



Slika 4.3. Umjerni pravac za bakar.



Slika 4.4. Umjerni pravac za mangan.

### 4.3. Određivanje bakterija *Legionella spp.*

Nakon provedene metode izolacije i detekcije Gram negativnih bakterija *Legionella spp.*, morfološki karakteristične kolonije na selektivnom GVPC agaru su svjetlucavo–bijele, konveksne/okrugle i imaju cjeloviti rub (Slike 4.5., 4.6. i 4.7.), a pod lupom imaju odsjaj na svijetlo plavu ili zelenu boju (Slika 4.8.).

Kolonije *Legionella spp.*, koje su se razvile na BCYE agaru, ali ne i na BCY agaru, brojile su se kao *Legionella spp.* Dobivene vrijednosti označavaju se kao cfu/l (colony forming units). Broj jedinica koje tvore kolonije s GVPC agara određuje se prema formuli:

$$\text{cfu} = \frac{n \cdot vk}{vi} \cdot \frac{1}{vv} \quad (4-1)$$

gdje su:

cfu – jedinice koje tvore kolonije u analiziranom uzorku, cfu/l

n – broj poraslih kolonija

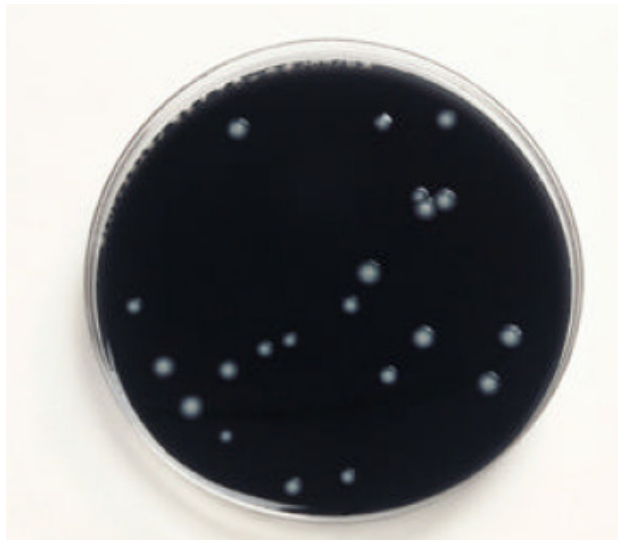
vk – volumen koncentrata, ml

vi – volumen inokuliran na ploču, ml

vv – volumen vode čija se mikroflora koncentrira, l.



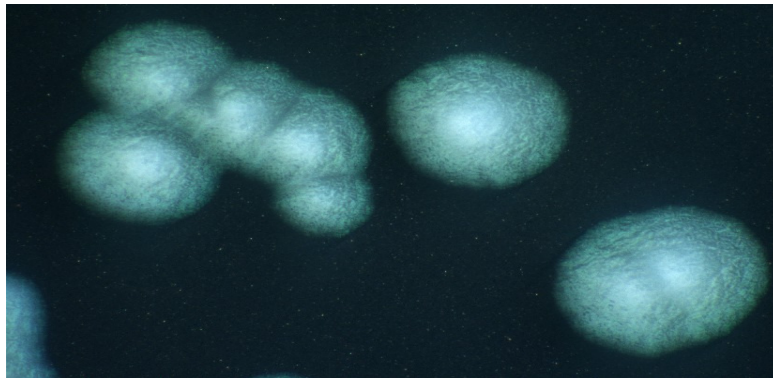
Slika 4.5. GVPC agar bez kolonija *Legionella spp.*



Slika 4.6. GVPC agar s kolonijama *Legionella spp.*, 30 cfu/l.



Slika 4.7. GVPC agar s kolonijama *Legionella spp.*, 6000 cfu/l.



Slika 4.8. Izgled kolonija *Legionella spp.* pod lupom na selektivnom GVPC agaru.

#### 4.4. Fizikalno–kemijski pokazatelji i *Legionella spp.* u uzorcima vode

Rezultati fizikalno, kemijskih pokazatelja i *Legionella spp.* u uzorcima tople vode, prikazani su u Tablicama 4.6. – 4.21.

##### 4.4.1. Rezultati ispitivanja u uzorcima tople vode tijekom 2009. godine

Tablica 4.6. Rezultati fizikalno–kemijskih pokazatelja i *Legionella spp.* u uzorcima vode uzetih u Objektu 1 tijekom 2009. godine.

Mjesec- Uzorak br.	T, °C	$\gamma$ (Cl <sub>2</sub> ), mg/l	$\gamma$ (Fe), mg/l	$\gamma$ (Zn), mg/l	$\gamma$ (Cu), mg/l	$\gamma$ (Mn), mg/l	$\gamma$ (Ca), mg/l	$\gamma$ (Mg), mg/l	$L^*$ , cfu/l
IV-1	61,20	0,20	0,179	0,062	0,436	0,802	65,500	4,010	0
IV-2	61,00	0,20	0,142	0,028	0,303	0,005	64,730	3,925	0
IV-3	61,70	0,20	0,099	0,025	0,249	0,004	66,080	3,925	0
IV-4	61,20	0,20	0,084	0,020	0,245	0,003	68,230	3,970	0
IV-5	59,00	0,20	0,087	0,030	0,252	0,003	68,600	3,875	0
IV-6	59,00	0,20	0,111	0,031	0,238	0,004	66,120	4,070	0
VI-1	52,00	0,25	0,071	0,340	0,041	0,004	56,320	3,865	0
VI-2	53,00	0,25	0,029	0,160	0,003	0,001	53,870	2,200	0
VI-3	50,50	0,25	0,055	0,341	0,001	0,001	53,770	3,150	0
VI-4	50,10	0,25	0,071	0,302	0,005	0,001	64,890	3,615	0
VI-5	52,40	0,25	0,013	0,150	0,010	0,001	65,870	4,690	0
VI-6	59,20	0,25	0,021	0,486	0,004	0,003	52,970	4,495	0
X-1	42,90	0,18	0,053	0,238	0,018	0,006	58,470	4,005	160
X-2	41,30	0,18	0,177	0,265	0,029	0,006	63,220	4,340	260
X-3	43,20	0,18	0,232	0,349	0,022	0,006	61,720	4,405	1000
X-4	43,10	0,18	0,160	0,289	0,031	0,008	60,910	4,285	100
X-5	46,00	0,18	0,055	0,272	0,023	0,004	78,400	4,150	0
X-6	46,90	0,18	0,082	0,278	0,023	0,004	75,820	4,215	0
X-7	57,50	0,18	0,137	0,297	0,029	0,005	78,880	3,990	0
X-8	55,10	0,18	0,018	0,448	0,010	0,005	58,260	3,725	0
X-9	58,10	0,18	0,013	0,440	0,013	0,051	59,360	3,760	0
X-10	60,00	0,18	0,099	0,025	0,249	0,004	53,570	3,925	0
X-11	65,50	0,18	0,084	0,020	0,245	0,003	58,240	3,970	0
X-12	67,50	0,18	0,021	0,441	0,014	0,001	57,630	3,915	0

Nastavak Tablice 4.6.

XII-1	53,10	0,20	0,221	0,441	0,010	0,001	52,980	3,790	500
XII-2	52,00	0,20	0,121	0,444	0,017	0,001	52,780	3,805	700
XII-3	46,10	0,20	0,321	0,444	0,010	0,001	54,340	3,810	1000
XII-4	45,20	0,20	0,313	0,448	0,009	0,001	57,190	3,770	1000
XII-5	46,10	0,20	0,134	0,454	0,012	0,003	60,180	3,845	150
XII-6	45,20	0,20	0,269	0,258	0,028	0,010	49,820	3,645	250

$L^*$  – *Legionella spp.*

Tablica 4.7. Rezultati fizikalno–kemijskih pokazatelja i *Legionella spp.* u uzorcima vode uzetih u Objektu 2 tijekom 2009. godine.

Mjesec- Uzorak br.	T, °C	$\gamma$ (Cl <sub>2</sub> ), mg/l	$\gamma$ (Fe), mg/l	$\gamma$ (Zn), mg/l	$\gamma$ (Cu), mg/l	$\gamma$ (Mn), mg/l	$\gamma$ (Ca), mg/l	$\gamma$ (Mg), mg/l	$L^*$ , cfu/l
IV-1	53,00	0,25	0	0,001	0,008	0,001	51,980	3,705	0
IV-2	55,70	0,25	0	0	0,010	0,001	53,460	3,525	0
IV-3	53,70	0,25	0,002	0,002	0,007	0,001	52,990	3,735	0
IV-4	55,00	0,25	0	0,001	0,006	0,001	55,580	3,515	0
IV-5	56,00	0,25	0	0,006	0,005	0,001	55,300	3,450	0
VI-1	51,00	0,20	0,029	0,160	0,003	0,007	53,870	2,200	0
VI-2	51,00	0,20	0,055	0,041	0,001	0,016	53,770	3,150	0
VI-3	50,50	0,20	0,071	0,302	0,005	0,013	64,890	3,615	0
VI-4	52,00	0,20	0,013	0,150	0,010	0,007	65,870	4,690	0
VI-5	52,10	0,20	0,021	0,086	0,004	0,015	52,970	4,495	0
VI-6	52,30	0,20	0,089	0,039	0,002	0,014	54,330	3,745	0

$L^*$  – *Legionella spp.*



Tablica 4.8. Rezultati fizikalno–kemijskih pokazatelja i *Legionella spp.* u uzorcima vode uzetih u Objektu 3 tijekom 2009. godine.

Mjesec- Uzorak br.	T, °C	$\gamma$ (Cl <sub>2</sub> ), mg/l	$\gamma$ (Fe), mg/l	$\gamma$ (Zn), mg/l	$\gamma$ (Cu), mg/l	$\gamma$ (Mn), mg/l	$\gamma$ (Ca), mg/l	$\gamma$ (Mg), mg/l	$L^*$ , cfu/l
III-1	45,20	0,10	0,237	0,176	0,003	0,007	70,770	4,565	0
III-2	47,20	0,10	0,065	0,163	0,003	0,037	72,410	4,325	0
III-3	44,60	0,10	0,055	0,150	0,005	0,003	72,450	4,350	0
III-4	44,80	0,20	0,050	0,165	0,003	0,003	72,580	4,145	0
III-5	48,60	0,20	0,048	0,141	0,005	0,003	72,330	3,980	0
III-6	47,70	0,20	0,036	0,126	0,004	0,003	68,150	3,690	0
III-7	44,00	0,20	0,002	0,002	0,005	0,001	56,130	3,580	0
III-8	44,10	0,20	0	0,001	0,008	0,001	51,980	3,705	0
III-9	45,20	0,20	0	0	0,010	0,001	53,460	3,525	0
III-10	45,30	0,20	0,002	0,002	0,007	0,001	52,990	3,735	0
III-11	46,00	0,20	0	0,001	0,006	0,001	55,580	3,515	0
III-12	56,00	0,20	0	0,006	0,005	0,001	55,300	3,450	0
VI-1	52,40	0,15	0,021	0,041	0,010	0,001	52,300	3,790	0
VI-2	53,40	0,15	0,021	0,044	0,016	0,001	54,200	3,805	0
VI-3	55,00	0,15	0,021	0,044	0,010	0,001	58,120	3,810	0
VI-4	54,00	0,15	0,013	0,048	0,010	0,001	54,210	3,770	0
VI-5	54,00	0,15	0,034	0,054	0,012	0,003	60,770	3,845	0
VI-6	53,00	0,15	0,029	0,051	0,013	0,001	51,070	3,785	0

$L^*$  – *Legionella spp.*

Tablica 4.9. Rezultati fizikalno–kemijskih pokazatelja i *Legionella spp.* u uzorcima vode uzetih u Objektu 4 tijekom 2009. godine.

Mjesec- Uzorak br.	T, °C	$\gamma$ (Cl <sub>2</sub> ), mg/l	$\gamma$ (Fe), mg/l	$\gamma$ (Zn), mg/l	$\gamma$ (Cu), mg/l	$\gamma$ (Mn), mg/l	$\gamma$ (Ca), mg/l	$\gamma$ (Mg), mg/l	$L^*$ , cfu/l
III-1	44,50	0,30	0,111	0,087	0,008	0,010	55,880	3,790	50
III-2	44,80	0,30	0,156	0,086	0,007	0,010	54,720	3,860	50
III-3	45,20	0,30	0,187	0,426	0,010	0,009	46,780	3,490	150
III-4	46,00	0,30	0,099	0,142	0,007	0,010	57,190	4,470	70
III-5	44,00	0,30	0,083	0,054	0,005	0,007	54,820	3,820	0
III-6	45,00	0,30	0,079	0,212	0,007	0,009	48,940	3,990	150
VI-1	52,10	0,20	0,060	0,089	0,022	0,010	61,720	4,405	0
VI-2	48,20	0,20	0,232	0,349	0,031	0,008	60,910	4,285	150
VI-3	47,90	0,20	0,255	0,272	0,023	0,004	78,400	4,150	200
VI-4	48,40	0,20	0,082	0,078	0,023	0,004	75,820	4,215	0
VI-5	47,90	0,20	0,137	0,097	0,029	0,005	78,880	3,990	0
VI-6	47,80	0,20	0,029	0,051	0,013	0,001	69,800	3,785	0

$L^*$  – *Legionella spp.*

**4.4.2. Rezultati ispitivanja u uzorcima tople vode tijekom 2010. godine**Tablica 4.10. Rezultati fizikalno–kemijskih pokazatelja i *Legionella spp.* u uzorcima vode uzetih u Objektu 1 tijekom 2010. godine.

Mjesec- Uzorak br.	T, °C	$\gamma$ (Cl <sub>2</sub> ), mg/l	$\gamma$ (Fe), mg/l	$\gamma$ (Zn), mg/l	$\gamma$ (Cu), mg/l	$\gamma$ (Mn), mg/l	$\gamma$ (Ca), mg/l	$\gamma$ (Mg), mg/l	L*, cfu/l
I-1	42,70	0,25	0,083	0,260	0,073	0,002	92,680	2,450	250
I-2	48,40	0,25	0,009	0,240	0,009	0,001	91,080	2,210	0
I-3	45,00	0,25	0,099	0,260	0,060	0,002	92,950	2,570	500
I-4	52,40	0,25	0,049	0,229	0,078	0,002	91,180	2,400	500
I-5	58,40	0,25	0,008	0,190	0,008	0,001	90,080	2,110	0
I-6	61,80	0,25	0,007	0,200	0,009	0,001	88,210	2,130	0
III-1	46,00	0,20	0,245	0,536	0,132	0,001	81,100	2,240	600
III-2	45,50	0,20	0,242	0,341	0,123	0,010	83,190	2,220	2000
III-3	48,10	0,20	0,108	0,273	0,105	0,006	83,410	2,140	800
III-4	47,00	0,20	0,177	0,210	0,100	0,010	81,630	2,190	1500
III-5	50,20	0,20	0,008	0,190	0,008	0,008	80,220	2,100	0
III-6	50,30	0,20	0,007	0,180	0,098	0,007	81,050	2,080	0
XII-1	54,10	0,20	0,059	0,061	0,023	0,004	82,750	2,110	500
XII-2	40,10	0,20	0,245	0,219	0,009	0,004	85,220	2,130	1000
XII-3	41,20	0,20	0,003	0,120	0,008	0,003	81,020	2,070	0
XII-4	43,30	0,20	0,278	0,659	0,100	0,010	81,830	2,200	2000
XII-5	43,20	0,20	0,013	0,150	0,078	0,008	80,990	1,990	500
XII-6	42,80	0,20	0,155	0,154	0,032	0,004	82,260	2,200	1500

L\* – *Legionella spp.*

Tablica 4.11. Rezultati fizikalno–kemijskih pokazatelja i *Legionella spp.* u uzorcima vode uzetih u Objektu 2 tijekom 2010. godine.

Mjesec- Uzorak br.	T, °C	$\gamma$ (Cl <sub>2</sub> ), mg/l	$\gamma$ (Fe), mg/l	$\gamma$ (Zn), mg/l	$\gamma$ (Cu), mg/l	$\gamma$ (Mn), mg/l	$\gamma$ (Ca), mg/l	$\gamma$ (Mg), mg/l	$L^*$ , cfu/l
V-1	59,10	0,20	0,002	0,130	0,087	0,003	70,120	2,010	0
V-2	59,50	0,20	0,195	0,143	0,172	0,001	73,310	4,940	700
V-3	60,00	0,20	0,047	0,131	0,078	0,002	72,110	4,020	0
V-4	57,40	0,20	0,064	0,184	0,075	0,001	72,040	3,980	0
V-5	58,10	0,20	0,050	0,121	0,087	0,002	71,110	3,900	0
V-6	58,90	0,20	0,002	0,174	0,074	0,003	73,180	3,870	0
V-7	58,10	0,20	0,025	0,085	0,078	0,002	70,990	3,880	0
V-8	59,10	0,20	0,064	0,130	0,082	0,001	71,250	3,210	0
V-9	59,30	0,20	0,011	0,128	0,088	0,002	70,980	3,870	0
V-10	58,80	0,20	0,015	0,187	0,095	0,002	71,820	3,240	0
V-11	58,80	0,20	0,093	0,183	0,182	0,002	72,950	4,190	500
V-12	59,30	0,20	0,133	0,116	0,019	0,003	73,130	4,180	2000
VIII									
VIII-1	60,10	0,30	0,102	0,169	0,172	0,002	62,930	5,120	1000
VIII-2	58,20	0,30	0,108	0,251	0,092	0,002	65,800	4,660	2000
VIII-3	58,30	0,30	0,098	0,170	0,028	0,003	66,190	4,750	500
VIII-4	56,70	0,30	0,113	0,167	0,043	0,002	58,140	5,320	2500
VIII-5	57,30	0,30	0,172	0,148	0,048	0,003	72,690	5,190	2000
VIII-6	57,50	0,30	0,116	0,122	0,035	0,001	67,210	4,710	2000
VIII-7	55,10	0,30	0,118	0,158	0,038	0,001	69,670	5,380	1500
VIII-8	56,20	0,30	0,132	0,151	0,043	0,002	71,930	4,820	1500
VIII-9	55,10	0,30	0,126	0,184	0,038	0,002	71,950	5,300	1000
VIII-10	55,80	0,30	0,109	0,182	0,009	0,002	81,910	5,930	500
IX									
IX-1	55,10	0,20	0,068	0,053	0,005	0,002	71,550	4,370	0
IX-2	55,80	0,20	0,044	0,032	0,008	0,001	68,770	3,990	0
IX-3	55,40	0,20	0,152	0,060	0,038	0,003	69,810	5,440	1000
IX-4	55,30	0,20	0,250	0,058	0,038	0,003	67,330	4,840	1500
IX-5	55,80	0,20	0,122	0,057	0,024	0,002	71,370	4,750	750
IX-6	55,60	0,20	0,099	0,157	0,028	0,002	63,440	4,660	1000

$L^*$  – *Legionella spp.*

Tablica 4.12. Rezultati fizikalno–kemijskih pokazatelja i *Legionella spp.* u uzorcima vode uzetih u Objektu 3 tijekom 2010. godine.

Mjesec- Uzorak br.	T, °C	$\gamma$ (Cl <sub>2</sub> ), mg/l	$\gamma$ (Fe), mg/l	$\gamma$ (Zn), mg/l	$\gamma$ (Cu), mg/l	$\gamma$ (Mn), mg/l	$\gamma$ (Ca), mg/l	$\gamma$ (Mg), mg/l	<i>L</i> <sup>*</sup> , cfu/l
III-1	40,30	0,20	0,041	0,166	0,032	0,002	80,910	2,330	150
III-2	40,80	0,20	0,033	0,185	0,023	0,002	73,510	2,130	100
III-3	40,70	0,20	0,017	0,174	0,009	0,002	80,690	2,250	50
III-4	41,20	0,20	0,023	0,189	0,014	0,001	72,830	2,020	50
III-5	41,40	0,20	0,008	0,098	0,009	0,001	69,870	2,010	0
III-6	44,20	0,20	0,011	0,088	0,008	0,002	68,880	1,950	0
III-7	44,10	0,20	0,013	0,077	0,008	0,002	67,220	1,880	0
III-8	42,80	0,20	0,053	0,193	0,041	0,001	79,670	2,220	200
III-9	43,40	0,20	0,009	0,098	0,024	0,001	67,780	1,960	0
III-10	42,90	0,20	0,012	0,162	0,005	0,001	82,410	2,160	400
III-11	41,20	0,20	0,019	0,176	0,005	0,001	95,400	2,380	100
III-12	42,40	0,20	0,007	0,167	0,014	0,002	84,750	2,110	50
X-1	49,70	0,30	0,009	0,120	0,008	0,002	77,520	2,050	0
X-2	50,60	0,30	0,017	0,130	0,007	0,001	79,110	2,030	0
X-3	52,20	0,30	0,008	0,151	0,009	0,002	78,880	2,110	0
X-4	52,90	0,30	0,002	0,128	0,007	0,001	77,220	2,170	0
X-5	52,80	0,30	0,004	0,139	0,009	0,001	73,470	2,130	0
X-6	53,10	0,30	0,003	0,124	0,008	0,002	71,220	2,090	0
X-7	52,00	0,30	0,019	0,148	0,007	0,001	73,310	2,080	0
X-8	47,90	0,30	0,002	0,122	0,008	0,002	71,170	2,070	0
X-9	52,90	0,30	0,012	0,129	0,007	0,001	70,090	2,110	0
X-10	53,30	0,30	0,009	0,131	0,058	0,002	69,920	2,140	0
X-11	55,60	0,30	0,078	0,187	0,085	0,001	69,870	2,610	0
X-12	53,90	0,30	0,022	0,099	0,007	0,002	70,110	2,090	0

*L*<sup>\*</sup> – *Legionella spp.*

Tablica 4.13. Rezultati fizikalno–kemijskih pokazatelja i *Legionella spp.* u uzorcima vode uzetih u Objektu 4 tijekom 2010. godine.

Mjesec- Uzorak br.	T, °C	$\gamma$ (Cl <sub>2</sub> ), mg/l	$\gamma$ (Fe), mg/l	$\gamma$ (Zn), mg/l	$\gamma$ (Cu), mg/l	$\gamma$ (Mn), mg/l	$\gamma$ (Ca), mg/l	$\gamma$ (Mg), mg/l	$L^*$ , cfu/l
V-1	44,80	0,30	0,119	0,164	0,202	0,006	116,570	2,650	1000
V-2	30,10	0,30	0,346	0,129	0,028	0,005	137,610	2,920	1500
V-3	44,80	0,30	0,139	0,156	0,172	0,009	126,540	2,840	1000
V-4	46,30	0,30	0,118	0,146	0,185	0,006	124,440	2,810	600
V-5	45,40	0,30	0,023	0,398	0,254	0,002	134,900	2,980	200
X-1	57,00	0	0,115	0,135	0,035	0,005	132,610	2,960	2000
X-2	38,00	0	0,385	0,128	0,022	0,004	136,220	2,990	5000
X-3	62,00	0	0,202	0,087	0,098	0,009	114,230	2,560	0
X-4	56,00	0	0,116	0,069	0,087	0,008	115,880	2,480	0

$L^*$  – *Legionella spp.*

**4.4.3. Rezultati ispitivanja u uzorcima tople vode tijekom 2011. godine**Tablica 4.14. Rezultati fizikalno–kemijskih pokazatelja i *Legionella spp.* u uzorcima vode uzetih u Objektu 1 tijekom 2011. godine.

Mjesec- Uzorak br.	T, °C	$\gamma$ (Cl <sub>2</sub> ), mg/l	pH	$\gamma$ (Fe), mg/l	$\gamma$ (Zn), mg/l	$\gamma$ (Cu), mg/l	$\gamma$ (Mn), mg/l	L* , cfu/l
I-1	52,30	0,20	8,20	0,026	0,048	0,012	0,005	0
I-2	53,20	0,20	8,18	0	0,061	0,012	0,004	0
I-3	51,80	0,20	8,13	0,007	0,038	0,008	0,006	0
I-4	51,80	0,20	8,22	0,002	0,139	0,008	0,004	0
I-5	52,10	0,20	8,19	0	0,050	0,004	0,008	0
I-6	53,10	0,20	8,34	0,002	0,046	0,023	0,008	0
V-1	38,50	0,20	7,67	0,153	0,279	0,015	0,020	2000
V-2	54,50	0,20	7,84	0,177	0,185	0,015	0,024	1500
V-3	50,90	0,20	7,98	0,160	0,318	0,008	0,024	2000
V-4	53,20	0,20	8,01	0,232	0,392	0,016	0,023	3000
V-5	56,10	0,20	8,03	0,012	0,130	0,004	0,022	0
V-6	57,60	0,20	7,88	0,021	0,080	0,016	0,023	0
V-7	48,80	0,20	8,09	0,014	0,130	0,023	0,021	0
V-8	47,30	0,20	8,01	0,028	0,186	0,023	0,023	0
V-9	50,10	0,20	8,13	0,002	0,126	0,020	0,022	0
V-10	52,10	0,20	8,06	0,002	0,115	0,016	0,023	0
V-11	56,10	0,20	8,00	0,021	0,075	0,016	0,023	0
V-12	57,20	0,20	7,99	0,155	0,125	0,050	0,038	0
X-1	57,20	0,15	7,84	0,038	0,510	0,078	0,002	0
X-2	54,30	0,15	7,73	0,030	0,059	0,016	0,001	0
X-3	58,40	0,15	7,83	0,052	0,247	0,003	0,004	0
X-4	59,20	0,15	7,74	0,055	0,072	0,015	0,001	0
X-5	59,40	0,15	7,66	0,042	0,073	0,008	0,001	0
X-6	60,80	0,15	7,73	0,008	0,034	0,001	0,001	0
XII-1	43,20	0,20	8,02	0,068	0,112	0,011	0,002	0
XII-2	49,20	0,20	7,88	0,200	0,199	0,012	0,004	8000
XII-3	51,40	0,20	7,92	0,047	0,293	0,007	0,004	1000
XII-4	42,30	0,20	7,90	0,068	0,420	0,010	0,006	1800
XII-5	41,00	0,20	7,82	0,032	0,029	0,007	0,001	0

Nastavak Tablice 4.14.

XII-6	42,90	0,20	7,97	0,032	0,029	0,006	0,001	0
XII-7	59,10	0,20	8,07	0,039	0,527	0,101	0,002	0
XII-8	45,10	0,20	8,04	0,027	0,086	0,011	0,001	1000
XII-9	44,90	0,20	7,95	0,054	0,120	0,015	0,004	2400
XII-10	45,10	0,20	7,85	0,078	0,254	0,020	0,006	0
XII-11	46,70	0,20	8,04	0,298	0,322	0,230	0,007	7000
XII-12	45,20	0,20	7,93	0,045	0,263	0,015	0,005	0
XII-13	44,30	0,20	7,66	0,073	0,154	0,014	0,003	0
XII-14	44,10	0,20	7,97	0,071	0,220	0,063	0,021	0
XII-15	45,10	0,20	8,09	0,039	0,465	0,063	0,002	0

$L^*$  – *Legionella spp.*

Tablica 4.15. Rezultati fizikalno–kemijskih pokazatelja i *Legionella spp.* u uzorcima vode uzetih u Objektu 2 tijekom 2011. godine.

Mjesec- Uzorak br.	T, °C	$\gamma$ (Cl <sub>2</sub> ), mg/l	pH	$\gamma$ (Fe), mg/l	$\gamma$ (Zn), mg/l	$\gamma$ (Cu), mg/l	$\gamma$ (Mn), mg/l	$L^*$ , cfu/l
IV-1	54,10	0,15	8,08	0,012	0,026	0,015	0,014	0
IV-2	53,80	0,15	8,03	0,028	0,021	0,015	0,015	0
IV-3	52,90	0,15	8,10	0,005	0,036	0,019	0,014	0
IV-4	54,30	0,15	8,08	0,028	0,023	0,015	0,014	0
IV-5	55,10	0,15	8,04	0,023	0,024	0,012	0,015	0
IV-6	53,80	0,15	7,99	0,021	0,035	0,012	0,014	0
VI-1	44,10	0,20	8,08	0,029	0,160	0,003	0,007	0
VI-2	43,80	0,20	8,07	0,055	0,341	0,001	0,016	0
VI-3	42,10	0,20	7,87	0,071	0,022	0,005	0,013	0
VI-4	42,10	0,20	7,92	0,220	0,450	0,010	0,037	8400
VI-5	60,10	0,20	7,99	0,021	0,486	0,004	0,015	0
VI-6	61,20	0,20	7,89	0,089	0,439	0,002	0,014	0
VIII-1	61,20	0,20	8,38	0,033	0,046	0,011	0,003	0
VIII-2	62,10	0,20	8,34	0,018	0,041	0,009	0,005	0
VIII-3	61,30	0,20	8,36	0,018	0,037	0,007	0,003	0
VIII-4	61,80	0,20	8,33	0,033	0,047	0,003	0,003	0
VIII-5	61,30	0,20	8,28	0,029	0,044	0,005	0,004	0
VIII-6	61,70	0,20	8,27	0,119	0,149	0,008	0,003	1000

$L^*$  – *Legionella spp.*



Tablica 4.16. Rezultati fizikalno–kemijskih pokazatelja i *Legionella spp.* u uzorcima vode uzetih u Objektu 3 tijekom 2011. godine.

Mjesec- Uzorak br.	T, °C	$\gamma$ (Cl <sub>2</sub> ), mg/l	pH	$\gamma$ (Fe), mg/l	$\gamma$ (Zn), mg/l	$\gamma$ (Cu), mg/l	$\gamma$ (Mn), mg/l	$L^*$ , cfu/l
IV-1	45,10	0,30	8,08	0,230	0,162	0,012	0,018	1500
IV-2	45,80	0,30	8,04	0,139	0,165	0,039	0,016	1000
IV-3	45,70	0,30	8,01	0,118	0,162	0,118	0,016	2500
IV-4	47,10	0,30	8,04	0,123	0,201	0,023	0,023	1000
IV-5	49,10	0,30	7,80	0,115	0,193	0,115	0,020	900
IV-6	55,30	0,30	8,01	0,210	0,202	0,020	0,021	1000
IV-7	40,10	0,30	7,80	0,095	0,283	0,008	0,030	500
IV-8	65,10	0,30	7,93	0,030	0,017	0,027	0,027	0
IV-9	45,80	0,30	7,82	0,007	0,236	0,012	0,027	0
IV-10	66,10	0,30	7,70	0,007	0,136	0,015	0,027	0
IV-11	48,10	0,30	8,16	0,033	0,055	0,139	0,021	1000
IV-12	55,30	0,30	7,99	0,030	0,052	0,004	0,020	500
VI-1	52,10	0,20	8,19	0,029	0,160	0,003	0,017	0
VI-2	51,80	0,20	8,35	0,155	0,341	0,001	0,016	2000
VI-3	51,30	0,20	8,39	0,071	0,002	0,005	0,013	0
VI-4	52,10	0,20	8,34	0,013	0,150	0,010	0,013	0
VI-5	53,10	0,20	8,33	0,121	0,086	0,004	0,015	0
VI-6	52,80	0,20	8,35	0,189	0,039	0,002	0,014	0
VI-7	51,80	0,20	8,36	0,237	0,176	0,003	0,013	1000
VI-8	52,10	0,20	8,36	0,065	0,163	0,003	0,015	0
VI-9	53,00	0,20	8,33	0,055	0,150	0,005	0,012	1000
VI-10	52,10	0,20	8,33	0,050	0,165	0,003	0,012	0
VI-11	51,80	0,20	8,35	0,048	0,141	0,005	0,012	0
VI-12	51,90	0,20	8,36	0,236	0,126	0,004	0,020	3000
VII-1	50,10	0,30	8,29	0,023	0,045	0,004	0,028	0
VII-2	51,10	0,30	8,27	0,026	0,041	0,004	0,022	0
VII-3	52,10	0,30	8,28	0,023	0,038	0	0,023	0
VII-4	50,80	0,30	8,29	0,030	0,041	0,004	0,023	0
VII-5	50,80	0,30	8,27	0,026	0,044	0	0,023	0
VII-6	50,50	0,30	8,27	0,026	0,040	0	0,025	0
VII-7	50,50	0,30	8,28	0,023	0,038	0,008	0,024	0

Nastavak Tablice 4.16.

VII-8	50,70	0,30	8,26	0,035	0,063	0,004	0,022	0
VII-9	50,30	0,30	8,26	0,026	0,040	0	0,021	0
VII-10	50,40	0,30	8,29	0,021	0,043	0,004	0,021	0
VII-11	50,10	0,30	8,29	0,026	0,037	0	0,022	0
VII-12	50,80	0,30	8,27	0,026	0,040	0,004	0,024	0
IX-1	50,10	0,20	8,11	0,120	0,111	0,003	0,025	3000
IX-2	51,80	0,20	8,18	0,186	0,256	0,003	0,005	5400
IX-3	51,30	0,20	8,09	0,129	0,117	0,004	0,002	6000
IX-4	51,10	0,20	8,19	0,120	0,199	0,004	0,001	5000

$L^*$  – *Legionella spp.*

Tablica 4.17. Rezultati fizikalno–kemijskih pokazatelja i *Legionella spp.* u uzorcima vode uzetih u Objektu 4 tijekom 2011. godine.

Mjesec- Uzorak br.	T, °C	$\gamma$ (Cl <sub>2</sub> ), mg/l	pH	$\gamma$ (Fe), mg/l	$\gamma$ (Zn), mg/l	$\gamma$ (Cu), mg/l	$\gamma$ (Mn), mg/l	$L^*$ , cfu/l
IV-1	55,10	0,30	7,96	0,033	0,177	0,094	0,018	0
IV-2	56,10	0,30	7,98	0,016	0,143	0,012	0,006	0
IV-3	56,10	0,30	7,99	0,023	0,141	0,012	0,009	0
IV-4	55,80	0,30	7,98	0,282	0,051	0,020	0,020	0
IV-5	55,30	0,30	8,02	0,119	0,093	0,012	0,016	0
IV-6	57,10	0,30	7,99	0,005	0,059	0,008	0,011	0
IV-7	60,10	0,10	8,01	0,012	0,030	0,085	0,013	0
IV-8	60,80	0,10	7,88	0,021	0,010	0,085	0,011	0
IV-9	60,30	0,10	7,99	0,009	0,019	0,093	0,014	0
IV-10	60,20	0,10	8,00	0,023	0,014	0,081	0,013	0
IV-11	63,50	0,10	8,00	0,019	0,013	0,078	0,013	0
IV-12	63,50	0,10	8,13	0,026	0,169	0,004	0,015	0
VI-1	58,10	0,30	8,32	0,045	0,136	0	0,030	0
VI-2	58,70	0,30	8,15	0,068	0,125	0	0,030	0
VI-3	59,10	0,30	8,18	0,066	0,128	0,004	0,029	0
VI-4	58,60	0,30	8,13	0,095	0,154	0,004	0,032	1000
VI-5	58,10	0,30	8,13	0,019	0,148	0,004	0,029	0
VI-6	56,70	0,30	8,09	0,026	0,136	0	0,027	0

Nastavak Tablice 4.17.

VIII-1	47,10	0,20	8,35	0,025	0,079	0,003	0,006	0
VIII-2	47,30	0,20	8,39	0,125	0,186	0,001	0,005	1300
VIII-3	47,80	0,20	8,43	0,018	0,083	0,005	0,008	0
VIII-4	47,70	0,20	8,36	0,129	0,184	0,007	0,006	2700
VIII-5	46,90	0,20	8,32	0,121	0,181	0,004	0,006	3900
VIII-6	46,80	0,20	8,36	0,129	0,291	0,019	0,006	8000
IX-1	58,10	0,30	7,65	0,051	0,191	0,001	0,008	0
IX-2	58,70	0,30	7,65	0,120	0,201	0,006	0,010	0
IX-3	51,30	0,30	7,69	0,120	0,261	0,004	0,010	0
IX-4	51,80	0,30	7,55	0,066	0,259	0,006	0,012	0
IX-5	50,80	0,30	7,60	0,036	0,212	0,009	0,010	0
IX-6	53,40	0,30	7,61	0,146	0,241	0,005	0,012	0
IX-7	53,40	0,30	7,61	0,146	0,069	0,018	0,012	0

*L\** – *Legionella spp.*

**4.4.4. Rezultati ispitivanja u uzorcima tople vode tijekom 2012. godine**Tablica 4.18. Rezultati fizikalno–kemijskih pokazatelja i *Legionella spp.* u uzorcima vode uzetih u Objektu 1 tijekom 2012. godine.

Mjesec- Uzorak br.	T, °C	$\gamma$ (Cl <sub>2</sub> ), mg/l	pH	$\gamma$ (Fe), mg/l	$\gamma$ (Zn), mg/l	$\gamma$ (Cu), mg/l	$\gamma$ (Mn), mg/l	<i>L</i> *, cfu/l
II-1	54,10	0,20	8,24	0,038	0,047	0,002	0,001	0
II-2	52,10	0,20	8,31	0,031	0,047	0,003	0,010	0
II-3	48,90	0,20	8,23	0,030	0,039	0,002	0,001	0
II-4	49,40	0,20	8,16	0,130	0,161	0,003	0,001	1200
II-5	47,90	0,20	8,29	0,135	0,146	0,003	0,001	2000
II-6	49,10	0,20	8,32	0,036	0,148	0,002	0,001	2400
II-7	60,30	0,20	8,34	0,029	0,040	0,003	0,001	0
III-1	41,80	0,20	8,09	0,011	0,042	0,003	0,001	0
III-2	41,20	0,20	8,08	0,010	0,018	0,002	0,001	0
III-3	41,50	0,20	8,10	0,013	0,149	0,010	0,001	0
III-4	41,30	0,20	8,05	0,007	0,013	0,001	0,001	0
III-5	41,60	0,20	7,72	0,008	0,009	0,001	0,001	0
III-6	65,10	0,20	7,91	0,003	0,204	0,032	0,001	0
III-7	60,10	0,20	7,92	0,004	0,069	0,021	0,001	0
III-8	41,90	0,20	8,10	0,007	0,064	0,001	0,001	0
III-9	41,30	0,20	8,09	0,007	0,030	0,001	0,001	0
III-10	41,60	0,20	8,20	0,014	0,218	0,032	0,002	0
III-11	41,40	0,20	8,06	0,012	0,079	0,008	0,006	0
III-12	41,70	0,20	7,73	0,007	0,014	0,001	0,001	0
III-13	65,20	0,20	7,92	0,003	0,195	0,022	0,001	0
III-14	60,20	0,20	8,20	0,004	0,002	0,001	0,001	0
V-1	53,10	0,25	7,70	0,012	0,031	0,018	0	0
V-2	44,10	0,25	7,80	0,017	0,131	0,005	0	0
V-3	43,00	0,25	7,70	0,015	0,244	0,012	0	0
V-4	58,10	0,25	7,86	0,042	0,149	0,015	0	0
V-5	54,10	0,25	7,62	0,022	0,045	0,009	0	0
V-6	57,30	0,25	7,77	0,013	0,072	0,015	0	0
V-7	51,00	0,25	7,85	0,134	0,223	0,007	0	11000
V-8	51,20	0,25	7,70	0,121	0,129	0,021	0	6000
V-9	52,10	0,25	7,88	0,117	0,115	0,024	0	1000

Nastavak Tablice 4.18.

V-10	54,50	0,25	7,75	0,011	0,082	0,012	0	0
V-11	53,20	0,25	7,70	0,001	0,064	0,019	0,001	0
V-12	52,10	0,25	7,67	0,164	0,082	0,029	0	0
IX-1	54,70	0,15	7,79	0,034	0,111	0,009	0,003	0
IX-2	54,00	0,15	7,93	0,021	0,037	0,007	0,004	0
IX-3	54,60	0,15	7,94	0,017	0,029	0,003	0,004	0
IX-4	57,60	0,15	7,90	0,011	0,121	0,005	0,003	0
IX-5	63,50	0,15	7,87	0,039	0,045	0,066	0,006	0
IX-6	66,50	0,15	7,98	0,099	0,041	0,009	0,005	0

*L*<sup>\*</sup> – *Legionella spp.*

Tablica 4.19. Rezultati fizikalno–kemijskih pokazatelja i *Legionella spp.* u uzorcima vode uzetih u Objektu 2 tijekom 2012. godine.

Mjesec- Uzorak br.	T, °C	$\gamma$ (Cl <sub>2</sub> ), mg/l	pH	$\gamma$ (Fe), mg/l	$\gamma$ (Zn), mg/l	$\gamma$ (Cu), mg/l	$\gamma$ (Mn), mg/l	<i>L</i> <sup>*</sup> , cfu/l
IV-1	60,10	0,25	8,31	0,021	0,020	0,010	0,001	0
IV-2	61,20	0,25	8,29	0,012	0,069	0,009	0,004	0
IV-3	60,80	0,25	8,30	0,026	0,029	0,013	0,020	0
IV-4	60,30	0,25	8,21	0,103	0,010	0,009	0,002	0
IV-5	55,80	0,25	8,15	0,008	0,012	0,006	0,002	0
IV-6	60,10	0,25	8,31	0,017	0,033	0,008	0,002	0
IV-7	60,20	0,25	8,32	0,017	0,014	0,003	0,001	0
IV-8	61,30	0,25	8,30	0,014	0,012	0,003	0,004	0
IV-9	60,90	0,25	8,40	0,028	0,029	0,009	0,005	0
IV-10	60,40	0,25	8,20	0,009	0,010	0,006	0,002	0
IV-11	55,90	0,25	8,16	0,008	0,001	0,003	0,001	0
IV-12	60,20	0,25	8,32	0,016	0,006	0,004	0,002	0
IV-13	55,00	0,30	7,25	0,004	0,029	0,006	0,002	0
IV-14	56,10	0,30	7,94	0,017	0,032	0,003	0,005	0
IV-15	60,30	0,30	7,87	0,044	0,076	0,004	0,001	0
IV-16	60,20	0,30	7,37	0,004	0,083	0,010	0,003	0
IV-17	60,10	0,30	7,89	0,008	0,060	0,006	0,004	0
IV-18	61,20	0,30	7,86	0,028	0,007	0,003	0,003	0
IV-19	58,20	0,30	7,90	0,004	0,026	0,007	0,003	0

Nastavak Tablice 4.19.

IV-20	61,80	0,30	7,91	0,008	0,104	0,008	0,003	0
IV-21	60,80	0,30	7,94	0,006	0,047	0,008	0,002	0
IV-22	61,20	0,30	7,91	0,007	0,097	0	0,001	0
IV-23	55,80	0,30	7,45	0,004	0,001	0,006	0,001	0
IV-24	60,10	0,30	7,97	0,007	0,025	0,007	0,003	0
VI-1	60,10	0,10	7,97	0,001	0,040	0,002	0,001	0
VI-2	60,20	0,10	8,01	0,006	0,064	0,004	0,001	0
VI-3	60,70	0,10	7,97	0,006	0,045	0,003	0,001	0
VI-4	60,30	0,10	7,90	0,005	0,070	0	0,001	0
VI-5	60,30	0,10	7,90	0,008	0,053	0,003	0,001	0
VI-6	60,70	0,10	7,95	0,010	0,041	0,003	0,001	0
VI-7	60,10	0,10	7,97	0,007	0,041	0,003	0,001	0
VI-8	60,20	0,10	8,01	0,006	0,070	0,002	0,001	0
VI-9	60,70	0,10	7,97	0,006	0,049	0,002	0,001	0
VI-10	60,30	0,10	7,90	0,005	0,077	0,001	0	0
VI-11	60,30	0,10	7,90	0,007	0,066	0,002	0,001	0
VI-12	60,70	0,10	7,95	0,009	0,046	0,003	0,001	0

*L*<sup>\*</sup> – *Legionella spp.*

Tablica 4.20. Rezultati fizikalno–kemijskih pokazatelja i *Legionella spp.* u uzorcima vode uzetih u Objektu 3 tijekom 2012. godine.

Mjesec- Uzorak br.	T, °C	$\gamma$ (Cl <sub>2</sub> ), mg/l	pH	$\gamma$ (Fe), mg/l	$\gamma$ (Zn), mg/l	$\gamma$ (Cu), mg/l	$\gamma$ (Mn), mg/l	<i>L</i> <sup>*</sup> , cfu/l
V-1	55,10	0,20	8,09	0,113	0,134	0,003	0,001	2000
V-2	55,20	0,20	8,00	0,104	0,145	0,002	0,002	1000
V-3	55,20	0,20	8,05	0,005	0,020	0,001	0,001	0
V-4	54,80	0,20	8,12	0,095	0,133	0	0,001	5000
V-5	54,30	0,20	8,12	0,006	0,002	0	0,001	0
V-6	54,20	0,20	8,04	0,11	0,204	0	0,001	5000
V-7	55,10	0,20	8,02	0,093	0,140	0,001	0,001	4000
V-8	55,00	0,20	7,97	0,104	0,114	0,001	0,001	2000
V-9	54,70	0,20	7,98	0,094	0,103	0	0,001	3000
V-10	53,30	0,20	8,11	0,123	0,129	0,001	0,001	0
V-11	53,70	0,20	8,12	0,105	0,095	0	0	3000

Nastavak Tablice 4.20.

V-12	55,20	0,20	8,11	0,004	0,006	0,006	0,001	0
VI-1	60,10	0,20	7,89	0,011	0,040	0,004	0,003	0
VI-2	60,20	0,20	7,86	0	0,027	0,004	0,003	0
VI-3	60,30	0,20	7,95	0,014	0,033	0,004	0,002	0
VI-4	60,70	0,20	8,01	0,007	0,026	0,005	0,003	0
VI-5	60,00	0,20	7,97	0	0,029	0,005	0,003	0
VI-6	60,10	0,20	8,03	0,010	0,032	0,005	0,003	0
VI-7	59,80	0,20	7,95	0,002	0,042	0,004	0,003	0
VI-8	59,70	0,20	7,94	0,005	0,040	0,004	0,003	0
VI-9	60,10	0,20	7,95	0,004	0,031	0,005	0,003	0
VI-10	60,30	0,20	7,94	0,003	0,036	0,004	0,003	0
VI-11	60,10	0,20	7,95	0,003	0,029	0,005	0,003	0
VI-12	59,80	0,20	8,05	0,001	0,027	0,005	0,003	0
VI-13	60,10	0,20	7,89	0,015	0,038	0,004	0,003	0
VI-14	60,20	0,20	7,86	0	0,028	0,005	0,003	0
VI-15	60,30	0,20	7,95	0,026	0,036	0,004	0,003	0
VI-16	60,70	0,20	8,01	0,011	0,029	0,005	0,001	0
VI-17	60,00	0,20	7,97	0,002	0,039	0,005	0,003	0
VI-18	60,10	0,20	8,03	0,011	0,045	0,005	0,003	0
VI-19	59,80	0,20	7,95	0,001	0,050	0,005	0,003	0
VI-20	59,70	0,20	7,94	0,007	0,051	0,004	0,003	0
VI-21	60,10	0,20	7,95	0,003	0,030	0,004	0	0
VI-22	60,30	0,20	7,94	0,002	0,035	0,004	0,001	0
VI-23	60,10	0,20	7,95	0,004	0,027	0,005	0	0
VI-24	59,80	0,20	8,05	0,001	0,029	0,005	0,003	0

*L*\* – *Legionella* spp.

Tablica 4.21. Rezultati fizikalno–kemijskih pokazatelja i *Legionella spp.* u uzorcima vode uzetih u Objektu 4 tijekom 2012. godine.

Mjesec- Uzorak br.	T, °C	$\gamma$ (Cl <sub>2</sub> ), mg/l	pH	$\gamma$ (Fe), mg/l	$\gamma$ (Zn), mg/l	$\gamma$ (Cu), mg/l	$\gamma$ (Mn), mg/l	<i>L</i> *, cfu/l
IV-1	46,80	0,25	8,01	0,001	0,099	0,004	0,001	0
IV-2	46,70	0,25	8,00	0,003	0,071	0,002	0,001	0
IV-3	46,10	0,25	7,99	0,004	0,023	0,002	0,001	0
IV-4	46,30	0,25	8,03	0,002	0,015	0,001	0,001	0
IV-5	42,10	0,25	8,07	0,105	0,092	0	0,001	1000
IV-6	43,20	0,25	8,16	0,103	0,132	0	0,001	1500
IV-7	47,80	0,25	8,02	0,002	0,017	0,005	0,001	0
IV-8	47,70	0,25	8,01	0,003	0,048	0,002	0,001	0
IV-9	47,10	0,25	8,00	0,005	0,016	0,001	0,001	0
IV-10	48,20	0,25	8,04	0,004	0,084	0,001	0,001	0
IV-11	43,10	0,25	8,08	0,194	0,174	0,001	0,001	1000
IV-12	44,20	0,25	8,17	0,203	0,122	0	0,001	1500
IV-13	50,10	0,30	7,67	0,002	0,023	0,004	0,014	0
IV-14	50,20	0,30	7,64	0,002	0,020	0,004	0,013	0
IV-15	50,30	0,30	7,73	0,002	0,028	0,001	0,012	0
IV-16	50,80	0,30	7,54	0,001	0,029	0,001	0,012	0
IV-17	50,30	0,30	7,64	0,003	0,177	0,004	0,013	0
IV-18	50,10	0,30	7,53	0,002	0,021	0,002	0,014	0
IV-19	46,80	0,30	7,80	0,005	0,049	0,002	0,001	0
IV-20	46,70	0,30	8,00	0,003	0,064	0,001	0,001	0
IV-21	46,10	0,30	7,97	0,005	0,059	0,002	0,001	0
IV-22	46,30	0,30	8,02	0,144	0,093	0	0,001	500
IV-23	42,10	0,30	8,01	0,144	0,178	0	0,001	1500
IV-24	43,20	0,30	7,98	0,143	0,149	0	0,001	500
VI-1	59,10	0,15	8,20	0,032	0,049	0,031	0,001	0
VI-2	58,70	0,15	8,04	0,055	0,072	0,023	0,003	0
VI-3	52,40	0,15	7,60	0,082	0,078	0,023	0,004	0
VI-4	53,50	0,15	7,90	0,137	0,097	0,029	0,005	0
VI-5	51,70	0,15	8,20	0,179	0,062	0,436	0,007	0
VI-6	55,60	0,15	7,77	0,142	0,028	0,303	0,005	0
VI-7	59,40	0,15	8,19	0,014	0,029	0,006	0,001	0
VI-8	58,30	0,15	8,00	0,039	0,034	0,008	0,001	0
VI-9	52,50	0,15	7,70	0,018	0,037	0,012	0,001	0
VI-10	53,60	0,15	7,79	0,016	0,027	0,008	0,001	0



Nastavak Tablice 4.21.

VI-11	51,80	0,15	8,30	0,018	0,130	0,007	0,001	0
VI-12	55,70	0,15	7,80	0,021	0,127	0,011	0,001	0

*L*<sup>\*</sup> – *Legionella spp.*

## **5. RASPRAVA**

### 5.1. Analiza rezultata fizikalno–kemijskih pokazatelja i *Legionella spp.* za sve analizirane uzorke tople vode iz vodoopskrbnih sustava četiriju objekata na području Splitsko–dalmatinske županije

Statistički su obrađeni rezultati mjerenja fizikalno–kemijskih pokazatelja kakvoće tople vode i *Legionella spp.* iz vodoopskrbnih sustava triju hotela i jednog doma za starije i nemoćne osobe na području Splitsko–dalmatinske županije, u razdoblju od 2009. do 2012. godine. Pri tome su se koristile osnovne statističke metode kao i neparametrijski testovi za određivanje povezanosti između fizikalno–kemijskih pokazatelja i *Legionella spp.*.

Mjereni fizikalno–kemijski pokazatelji kakvoće vode su: temperatura, slobodni rezidualni klor, pH vrijednost, te koncentracije Fe, Zn, Cu, Mn, Ca i Mg. Navedeni metali su se određivali u uzorcima tople vodovodne vode, prvenstveno zbog toga jer sustavi za distribuciju vode za piće i sustavi za klimatizaciju, grijanje i hlađenje imaju navedene metale kao građevne jedinice. Kao dio osnovne statističke analize rezultata izračunate su sljedeće vrijednosti: minimalna i maksimalna vrijednost, raspon vrijednosti, te vrijednost medijana, a rezultati su prikazani u Tablici 5.1..

Tablica 5.1. Osnovne statističke vrijednosti fizikalno–kemijskih pokazatelja kakvoće vode.

Pokazatelji	Broj uzoraka (N)	Minimum	Maksimum	Raspon vrijednosti	Medijan	MDK*
T, °C	425	30,10	67,50	37,40	53,10	
Cl <sub>2</sub> , mg/l	425	0,00	0,30	0,30	0,20	0,5
pH	275	7,25	8,43	1,18	8,01	6,5-9,5
Fe, mg/l	425	0,000	0,390	0,390	0,030	0,2
Zn, mg/l	425	0,000	0,660	0,660	0,100	3
Cu, mg/l	425	0,000	0,440	0,440	0,010	2
Mn, mg/l	425	0,000	0,802	0,802	0,002	0,05
Ca, mg/l	150	46,780	137,610	90,830	69,900	
Mg, mg/l	150	1,880	5,930	4,050	3,740	

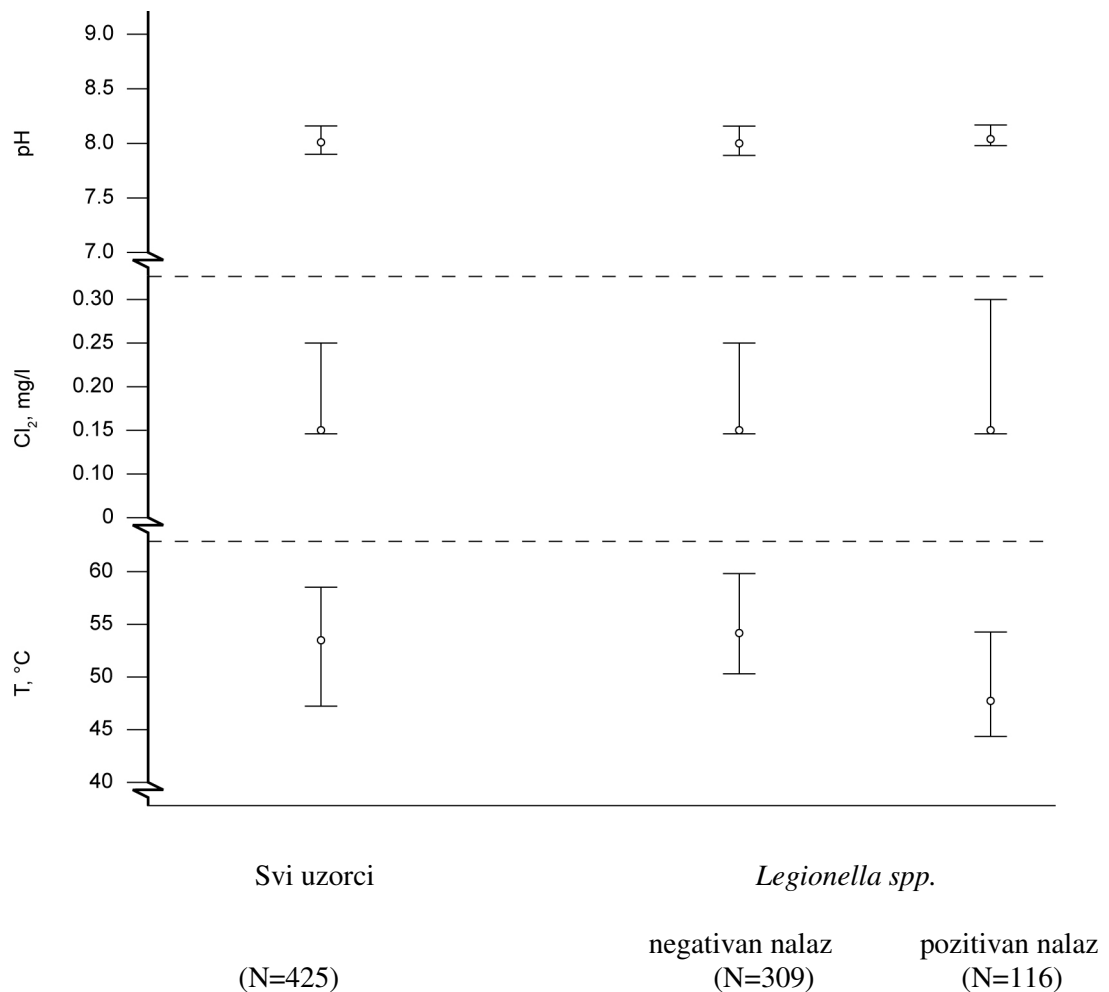
\*MDK – maksimalno dopuštena koncentracija prema Pravilniku o zdravstvenoj ispravnosti vode za piće<sup>13</sup>.

Na temelju dobivenih rezultata osnovne statističke analize (Tablica 5.1.) može se zaključiti o prirodi promjena vrijednosti mjerenih pokazatelja. Rasponi vrijednosti za slobodni rezidualni klor, željezo, bakar, cink i mangan ukazuju na povremena značajna odstupanja koncentracija od vrijednosti medijana. Vrijednosti koncentracija kalcija i magnezija, te pH su uglavnom ujednačene i pripadajući im raspon vrijednosti nije velik. Vrijednosti medijana za sve fizikalno–kemijske pokazatelja su ispod maksimalno dopuštenih koncentracija (MDK) koje propisuje Pravilnik o zdravstvenoj ispravnosti vode za piće<sup>13</sup> kao i maksimalno izmjerene koncentracije za slobodni rezidualni klor, pH, Zn, Cu, Ca i Mg. Međutim, maksimalna koncentracija za Fe je približno dva puta veća, a za Mn čak oko šesnaest puta veća od propisanih koncentracija.

Budući da raspon minimalne i maksimalne vrijednosti predstavlja grubu mjeru raspršenosti rezultata, izračunati su interkvartilni rasponi rezultata fizikalno–kemijskih pokazatelja za sve analizirane uzorke tople vode i odvojeno za uzorke u kojima je dokazana prisutnost *Legionella spp.* i one u kojima *Legionella spp.* nije identificirana.

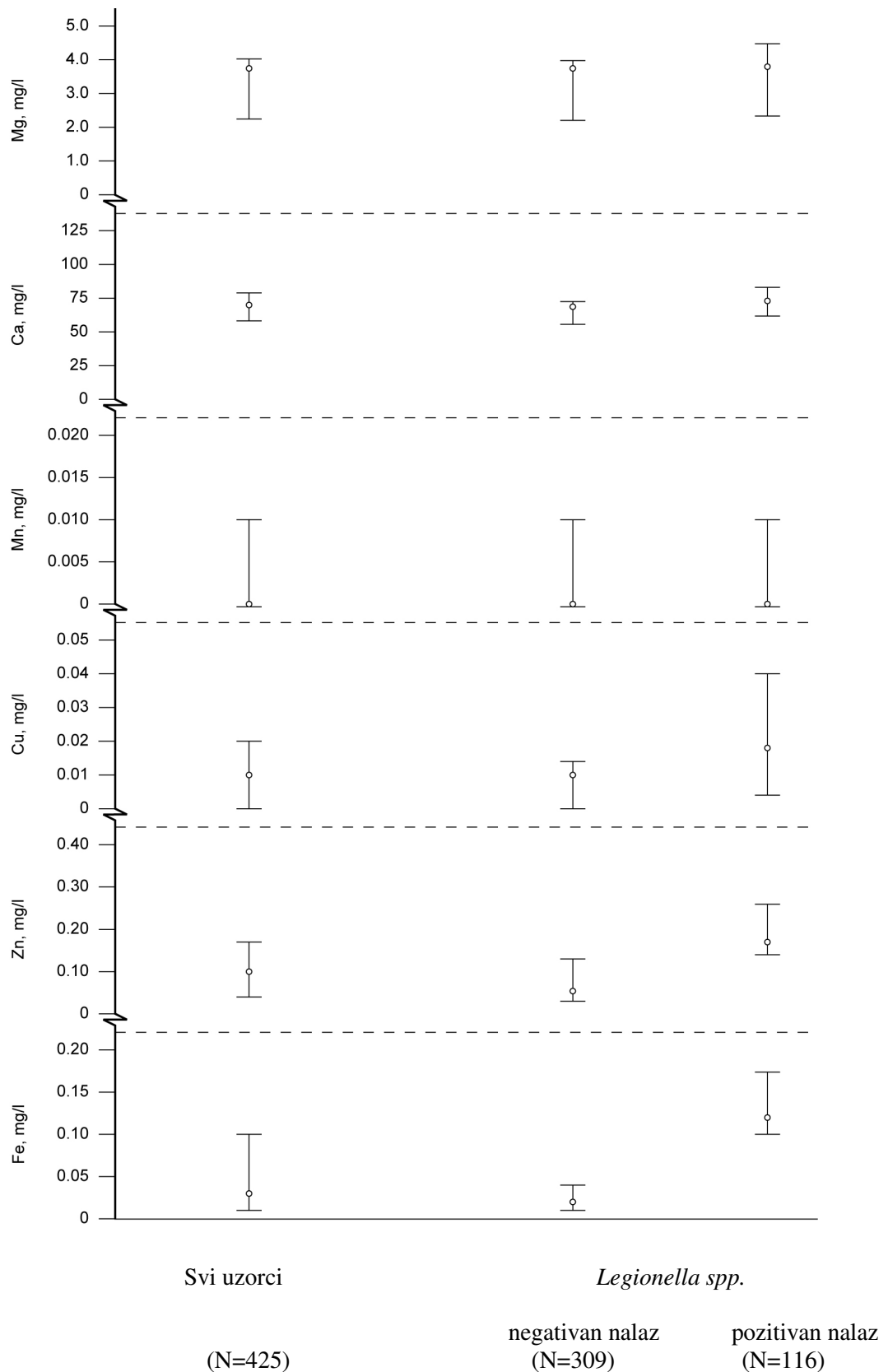
Rezultati su grafički prikazani na Slikama 5.1. i 5.2..

Od ukupno 425 analizirana uzorka vode na *Legionella spp.* je bilo pozitivno 116 (27,2%), što je u prosjeku rezultata dobivenih analizom toplih voda iz javnih ustanova u više zemalja. Tako su Leoni i sur.<sup>115</sup> u Italiji dokazali prisutnost *Legionella spp.* u 33,3%, Zietz i sur.<sup>116</sup> u Njemačkoj u 26,0% i Edagawa i sur.<sup>117</sup> u Japanu u 20,0% uzoraka vode uzetih iz toplovodnih sustava javne vodoopskrbe.



Slika 5.1. Interkvartilni prikaz rezultata koncentracije slobodnog rezidualnog klora, temperature i pH za sve uzorke tople vode, te za uzorke s negativnim i pozitivnim nalazom *Legionella spp.*.

Na Slici 5.1. vidljiva je manja vrijednost medijana za temperaturu (47°C) u uzorcima pozitivnim na *Legionella spp.* u odnosu na vrijednost medijana za temperaturu (54°C) u uzorcima u kojima *Legionella spp.* nije identificirana. Temeljem ovoga može se zaključiti da je temperatura utjecajni čimbenik na pojavu *Legionella spp.*, što će se kasnije detaljnije objasniti statističkom analizom korelacije prisutnosti *Legionella spp.* s temperaturom. Vrijednosti medijana za pH i slobodni rezidualni klor su približno iste u uzorcima negativnim i pozitivnim na *Legionella spp.* i u utvrđenom rasponu pH = 7,25 – 8,43 i koncentracija slobodnog rezidualnog klora 0,00 – 0,30 mg/l, nije dokazan njihov utjecaj na pojavu *Legionella spp.*.



Slika 5.2. Interkvartilni prikaz rezultata koncentracije metalnih iona za sve uzorke tople vode, te za uzorke s negativnim i pozitivnim nalazom *Legionella spp.*.

Na Slici 5.2. uočava se veći interkvartilni raspon koncentracija i veća vrijednost medijana za Fe, Zn i Cu za uzorke pozitivne na *Legionella spp.*, kao i da su vrijednosti medijana bliže vrijednosti prvog, odnosno donjeg kvartila. Interkvartilni raspon koncentracija za Mn, kao i za Ca i Mg je sličan za uzorke negativne i pozitivne na *Legionella spp.*, što ukazuje da nemaju utjecaja na pojavu *Legionella spp.*.

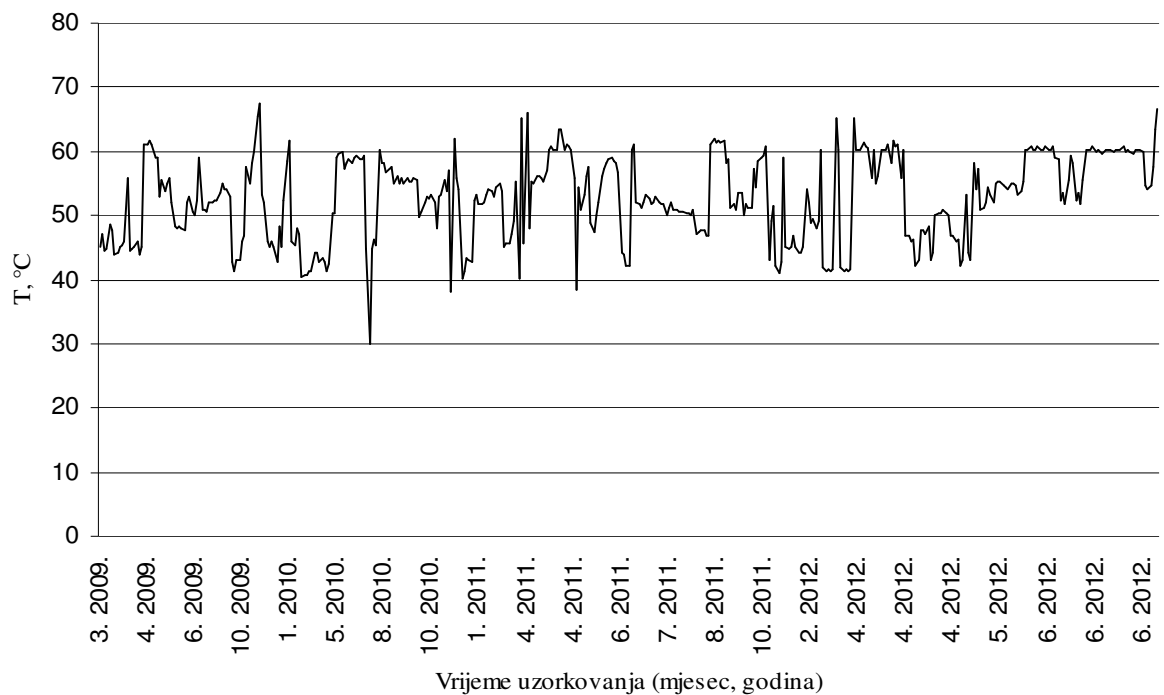
Budući da se vodoopskrbni sustavi tople vode pojedinih objekata opskrbljuju vodom iz dvaju različitih izvora (izvor Jadra i vodozahvat na rijeci Cetini) i da svaki objekt ima različite tehničko-tehnološke karakteristike unutarnje mreže i različitu dinamiku potrošnje, što može utjecati na promjenu kakvoće vode, nije smisleno statistički obrađivati zbirno rezultate analize uzoraka tople vode iz svih objekata. Jedino je temperatura vode pokazatelj koji je zajednički za sve uzorke, pa je statistički utvrđena povezanost između temperature vode i pojave *Legionella spp.* za sve objekte.

### **5.1.1. Korelacija *Legionella spp.* s temperaturom**

Budući da se radi o relativno malom broju uzoraka i da promatrani pokazatelji nisu linearno povezani<sup>114</sup>, korelacija između temperature vode i *Legionella spp.* je određena pomoću Spearmanova koeficijenta korelacije ( $\rho$ ) i pripadajuće statističke značajnosti (P), a koji su pak izračunati prema jednadžbi (3–3) u poglavlju Metodologija.

Iz vrijednosti Spearmanova koeficijenta korelacije  $\rho = -0,364$  i pripadajuće statističke značajnosti  $P = 0,000$  utvrđena je negativna korelacija prisutnosti *Legionella spp.* s temperaturom.

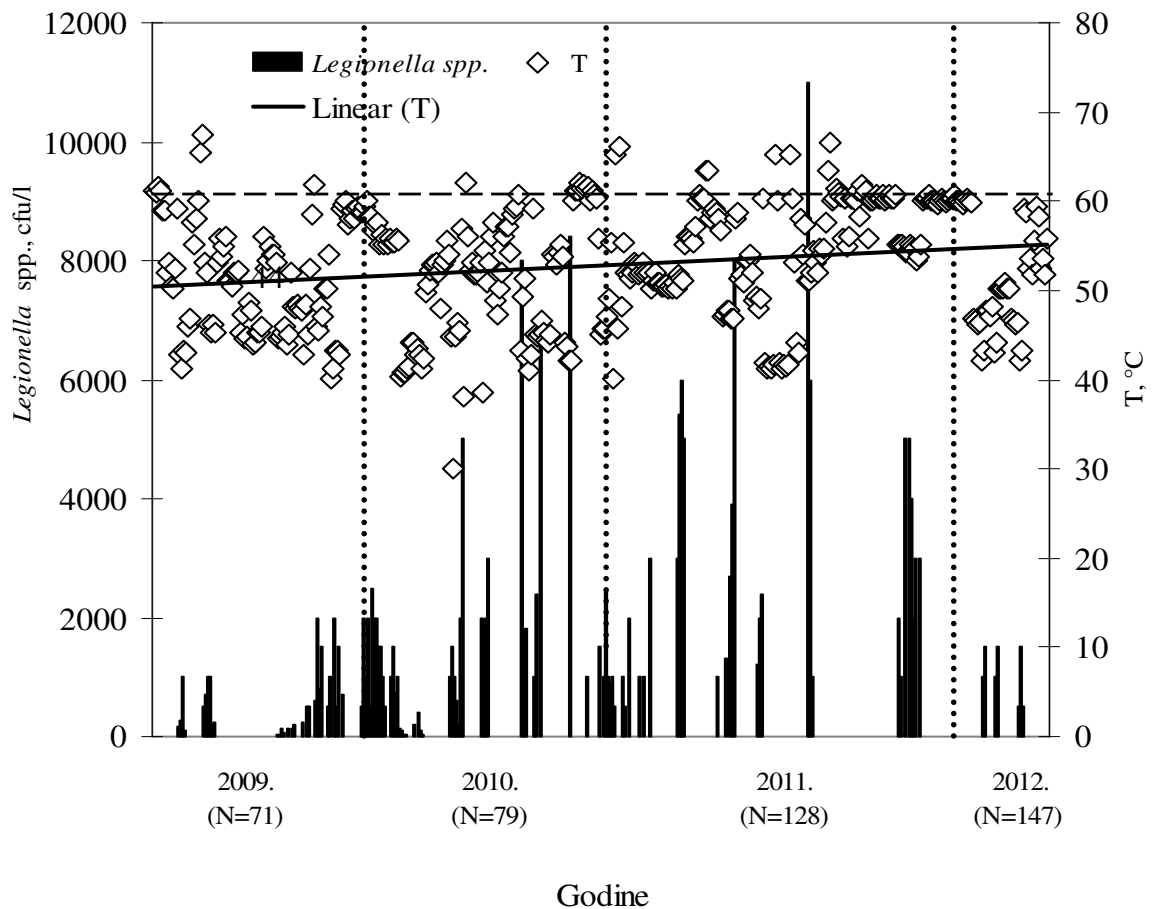
S obzirom na dokazanu negativnu korelaciju *Legionella spp.* s temperaturom, izmjerene temperature u istraživanom razdoblju od 2009. do 2012. godine, prikazane su pomoću linijskog dijagrama, Slika 5.3..



Slika 5.3. Linijski dijagram vremenskih serija praćenja temperature.

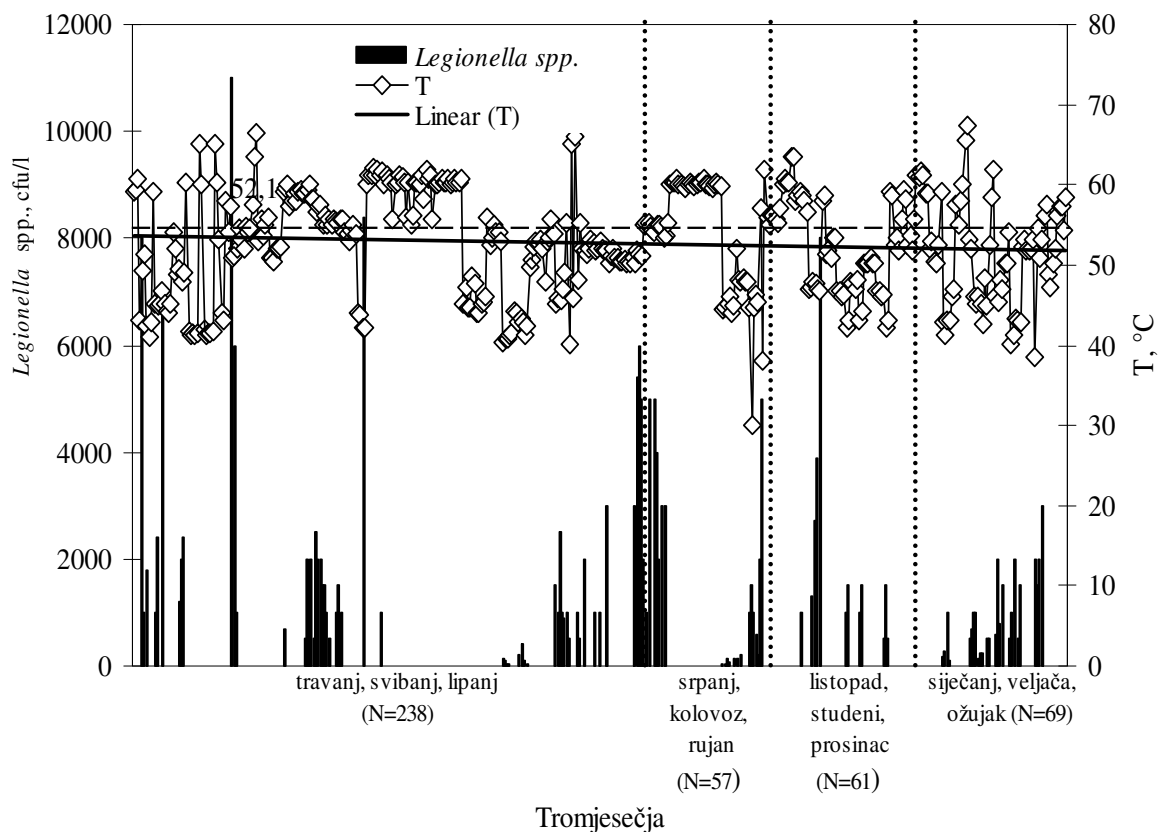
Iz linijskog dijagrama vremenskih serija, uočavaju se promjene temperature kroz istraživano razdoblje. Međutim, da bi se dobio uvid o utjecaju temperature na prisutnost *Legionella spp.* nacrtani su dijagrami koji prikazuju koncentraciju *Legionella spp.* pri različitim temperaturama, po godinama i po tromjesečjima u razdoblju od 2009. do 2012. godine (Slika 5.4. i Slika 5.5.).





Slika 5.4. Dijagram koncentracije *Legionella* spp. pri različitim temperaturama, po godinama u razdoblju od 2009. do 2012. godine.

Kroz istraživano razdoblje *Legionella* spp. je prisutna u koncentracijskom rasponu od 500 do 2000 cfu/l, te se s godinama zamjećuje trend porasta maksimalnih koncentracija. Tako je 2009. zabilježena maksimalna koncentracija od 1000 cfu/l, 2010. 5000 cfu/l, 2011. 8400 cfu/l, a 2012. maksimalna koncentracija iznosila je 11000 cfu/l. Povezanost porasta maksimalne koncentracije *Legionella* spp. s godinama upućuje na stvaranje biofilmova unutar sustava unutarnje mreže, što je pokazatelj *starenja* cijevi, ventila, slavina, bojlera i drugih sastavnih dijelova unutarnje mreže. U svrhu praćenja prisutnosti *Legionella* spp. s temperaturom po tromjesečjima, nacrtan je dijagram (Slika 5.5.).



Slika 5.5. Dijagram koncentracije *Legionella spp.* pri različitim temperaturama, po tromjesečjima u razdoblju od 2009. do 2012. godine.

Na Slici 5.5. uočavaju se promjene prisutnosti *Legionella spp.* s temperaturom. U proljetnom i ljetnom razdoblju određen je veći broj uzoraka pozitivnih na *Legionella spp.* s koncentracijama većim od 3000 cfu/l. Dok su tijekom jesenskog i zimskog razdoblja vrijednosti temperature tople vode bile niže s većom učestalošću uzoraka pozitivnih na *Legionella spp.*, ali s manjom određenom koncentracijom. Dakle, može se zaključiti da postoji trend smanjenja koncentracije *Legionella spp.* tijekom zimske sezone (četvrto i prvo tromjesečje). Također je iz Slike 5.5. vidljivo da ukoliko je temperatura vode iznad vrijednosti medijana od 53,10°C, *Legionella spp.* je određena samo u dva uzorka tijekom drugog tromjesečja u rasponu od 11000 i 8400 cfu/l.

## 5.2. Tehničko–tehnološke karakteristike objekata

### 5.2.1. Analiza rezultata fizikalno–kemijskih pokazatelja s obzirom na vrstu cijevi za distribuciju tople vode

U sklopu istraživanja je provedena anketa i prikupljene su informacije o tehnološkim čimbenicima koji mogu utjecati na kakvoću tople vodovodne vode. Anketom su dokumentirani podatci o konstrukcijskom materijalu cjevovoda za distribuciju tople vode, o tipu bojlera i sustavu grijanja vode u istraživanim objektima.

Tablica 5.2. Tehničke karakteristike objekata iz kojih su uzeti uzorci tople vode.

Tehničke karakteristike objekata	Objekti			
	O1	O2	O3	O4
cjevovod: plastične cijevi	Ne	Da (PVC)*	Da (HDPE)**	Da (PVC)*
pocinčane cijevi	Da	Ne	Ne	Ne
sustav grijanja vode: centralni	Da	Da	Da	Ne
neovisan	Da	Ne	Ne	Da
tip bojlera: akumulacijski	Da	Da	Da	Da

\* PVC – polivinil–klorid

\*\* HDPE – polietilen visoke gustoće.

Prema podacima iz Ankete o tehničkim karakteristikama objekata svi objekti koriste akumulacijski tip bojlera, pa se ne može razmatrati utjecaj tipa bojlera na promjenu kakvoće tople vode.

Prema literaturnim spoznajama, prisutnost mikrobioloških vrsta i opasnost od zaraze s mikroorganizmima je veća u objektima s centralnim sustavima za grijanje vode u usporedbi s objektima koji imaju neovisan sustav grijanja vode<sup>61</sup>. U ovoj studiji to se ne može sa sigurnošću utvrditi, jer Objekt 1 u kojemu je dokazana povećana prisutnost *Legionella spp.* ima centralni i neovisan sustav za grijanje vode.

Od četiri objekta iz kojih su uzimani uzorci vode za analizu, u tri objekta su cijevi unutarne mreže plastične i to od PVC–a i HDPE–a, a unutar jednog su pocinčane cijevi.

Analizirano je 299 uzoraka tople vode iz objekata koji imaju unutarnju mrežu za distribuciju tople vode s plastičnim cijevima, te 126 uzoraka iz objekta s pocinčanim cijevima.

U Tablici 5.3. i na Slikama 5.6. i 5.7. prikazani su rezultati statističke analize rezultata fizikalno–kemijskih pokazatelja, prema vrstama cijevi za sve godine istraživanja zajedno.

Tablica 5.3. Prikaz minimalne i maksimalne vrijednosti, raspona vrijednosti i vrijednosti medijana za ispitivane fizikalno–kemijske pokazatelje u uzorcima vode uzetim u razdoblju od 2009. do 2012. godine s obzirom na vrstu cijevi za distribuciju tople vode.

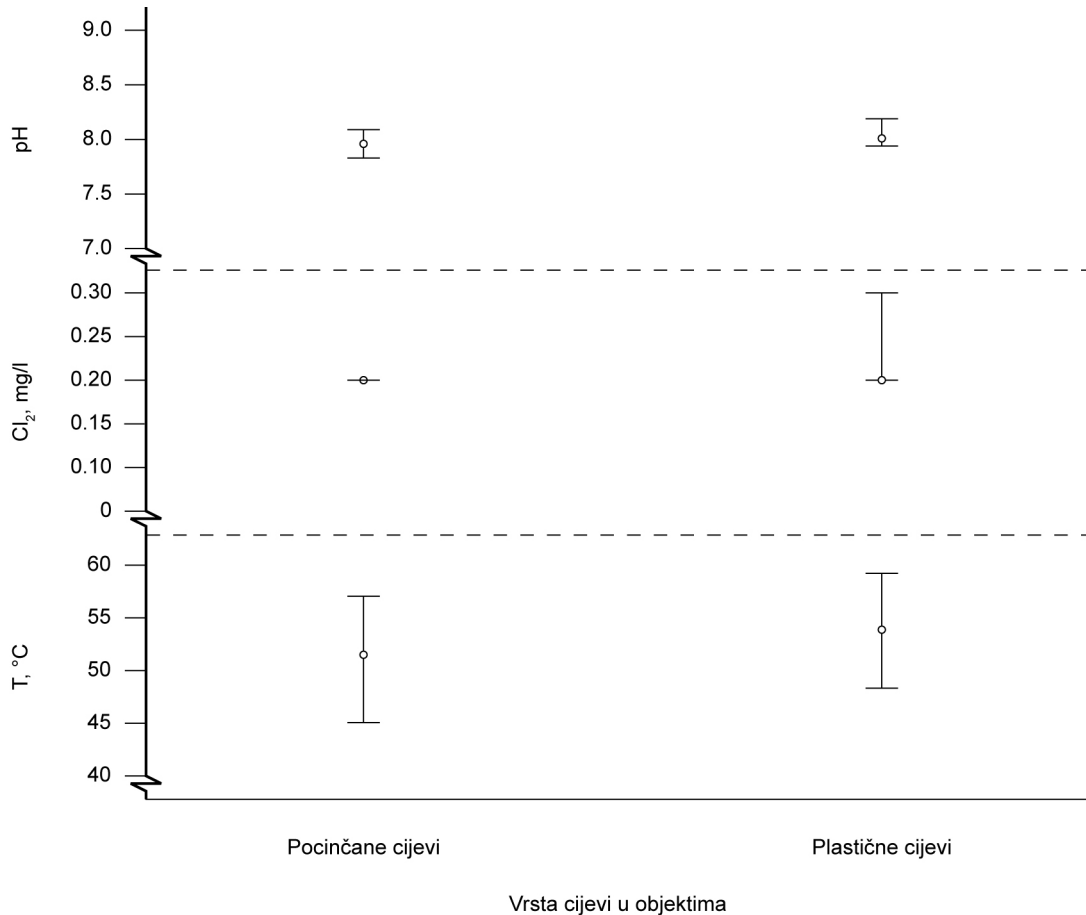
Vrsta cijevi	Pokazatelji	Broj uzoraka (N)	Minimum	Maksimum	Raspon vrijednosti	Medijan
pocinčane	T, °C	126	38,50	67,50	29,00	51,60
	Cl <sub>2</sub> , mg/l	126	0,15	0,25	0,10	0,20
	pH	78	7,62	8,34	0,72	7,96
	Fe, mg/l	126	0,000	0,313	0,313	0,040
	Zn, mg/l	126	0,000	0,660	0,660	0,150
	Cu, mg/l	126	0,000	0,436	0,436	0,016
	Mn, mg/l	126	0,000	0,802	0,802	0,002
	Ca, mg/l	48	49,820	92,950	43,130	66,100
	Mg, mg/l	48	1,990	4,690	2,700	3,760
plastične	T, °C	299	30,10	66,10	36,00	54,00
	Cl <sub>2</sub> , mg/l	299	0,00	0,30	0,30	0,20
	pH	197	7,25	8,43	1,18	8,01
	Fe, mg/l	299	0,000	0,390	0,390	0,030
	Zn, mg/l	299	0,000	0,490	0,490	0,080
	Cu, mg/l	299	0,000	0,440	0,440	0,010
	Mn, mg/l	299	0,000	0,040	0,040	0,000
	Ca, mg/l	102	46,780	137,610	90,830	70,120
	Mg, mg/l	102	1,880	5,930	4,050	3,740

U Tablici 5.3. uočavaju se veći rasponi koncentracija za slobodni rezidualni klor, Fe, Zn, Cu i Mn, kao i da su vrijednosti medijana svih fizikalno–kemijskih pokazatelja ispod propisanih graničnih vrijednosti<sup>13</sup> bez obzira o vrsti cijevi unutarnje mreže vodoopskrbnog sustava. Međutim, maksimalna koncentracija za Fe, kako u uzorcima

vode iz pocinčanih cijevi (0,313 mg/l), tako i u uzorcima iz plastičnih cijevi (0,390 mg/l), znatno premašuje propisanu maksimalno dopuštenu koncentraciju (0,200 mg/l). Iz interkvartilnih prikaza koncentracija metalnih iona na Slici 5.7., uočavaju se malo povećane vrijednosti medijana za koncentracije Fe, Zn i Cu u uzorcima vode iz pocinčanih cijevi. Kako nisu dokazane zamjetne razlike njihovih koncentracija, može se zaključiti da povećanju koncentracija metalnih iona u vodi, vrsta konstrukcijskog materijala cijevi unutarnje mreže za distribuciju tople vode nije od presudnog utjecaja. Vjerojatno značajnu ulogu imaju i različiti metalni dijelovi cijelog vodoopskrbnog sustava, kao što su razvodna mreža cjevovoda kojima se voda transportira od izvorišta preko svih uređaja za kondicioniranje vode do vodospremnika i potrošača, hidranti i zasuni, koji su sastavni dijelovi razvodne mreže, te različiti fazonski dijelovi i vodovodne armature u unutarnjoj mreži, tj. u stambenim i drugim objektima nakon vodomjera javne vodoopskrbe. U Tablici 5.3. uočava se izrazito visoka koncentracija Mn (0,802 mg/l), koja je određena u jednom uzorku vode iz slavine s pocinčanim cijevima (maksimalno dopuštena koncentracija je 50 µg/l). To može biti slučajna pogreška u uzorkovanju i mogućem onečišćenju uzorka, ali i posljedica korozije. Naime, pocinčane cijevi su pocinčane čelične cijevi, a čelik uz željezo i ugljik može sadržavati mangan kao legirajući element, pa kao produkt korozije mangan dospijeva u vodu u obliku različitih otopljenih i koloidnih specija manganovih iona.

Budući da je analiza raspodjele rezultata svake skupine (sustava s pocinčanim i plastičnim cijevima) pokazala da raspodjela nije pravilna, u daljnjoj statističkoj obradi podataka primijenjen je neparametrijski test Mann–Whitneyev U test, primjenjujući jednadžbe (3–4), (3–5) i (3–6) iz poglavlja Metodologija. Usporedbom mjerenih pokazatelja između uzoraka iz sustava s pocinčanim cijevima i uzoraka iz sustava s plastičnim cijevima, izračunate su statističke značajnosti testa za određene pokazatelja preko P vrijednosti. Tako su za temperaturu, slobodni rezidualni klor, koncentracije Zn i Cu dobivene vrijednosti  $P = 0,000$ , za pH  $P = 0,001$ , te za koncentracije Fe  $P = 0,035$ . Budući da su izračunate vrijednosti P manje od 0,05 može se zaključiti da su razlike mjerenih pokazatelja u uzorcima vode uzetih iz različitih cijevi statistički značajne. Niža P vrijednost upućuje na veće statističke značajnosti mjerenih pokazatelja između dvije skupine uzoraka.

Na Slikama 5.6. i 5.7. prikazane su promjene fizikalno–kemijskih pokazatelja s obzirom na vrstu cijevi u objektima iz kojih su uzimani uzorci za analizu.

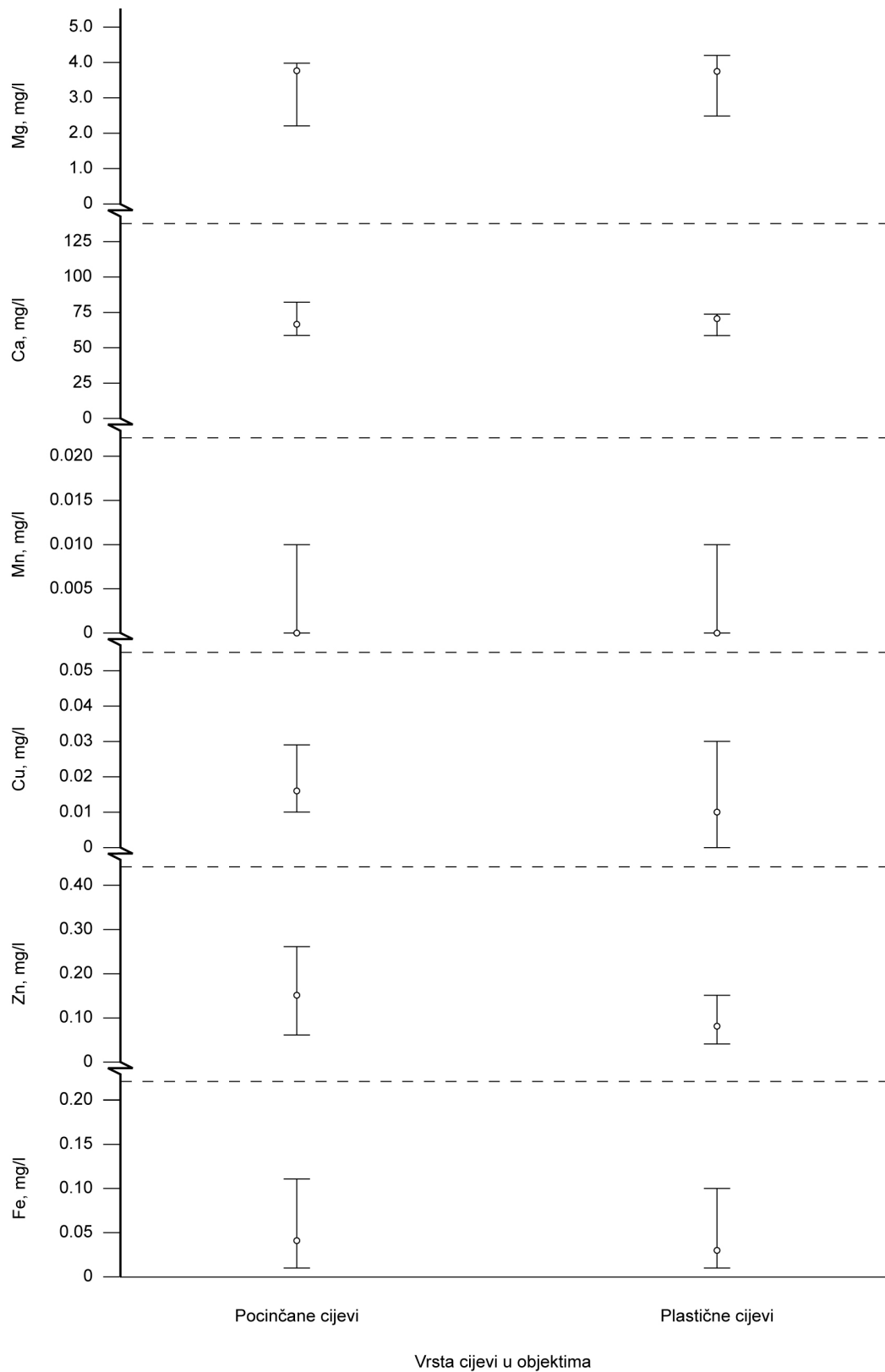


Slika 5.6. Interkvartilni prikaz rezultata temperature, slobodnog rezidualnog klora i pH za uzorke vode iz sustava pocinčanih i sustava plastičnih cijevi u razdoblju od 2009. do 2012. godine.

Vrijednost medijana za temperaturu za uzorke vode iz sustava s pocinčanim cijevima iznosi 51,60°C s pripadajućim interkvartilnim rasponom od 45 do 57°C te je manja u odnosu na vrijednost medijana za temperaturu iz sustava s plastičnim cijevima, a koja iznosi 54°C s pripadajućim interkvartilnim rasponom od 48 do 60°C (Tablica 5.3. i Slika 5.6.). Uočava se veća vrijednost medijana za temperaturu iz sustava s plastičnim cijevima, s tim da je položaj medijana iz oba sustava približno isti.

U 126 uzoraka iz pocinčanih cijevi određen je slobodni rezidualni klor vrijednosti medijana od 0,20 mg/l, te s pripadajućim rasponom od minimalne do maksimalne vrijednosti 0,15 – 0,25 mg/l. Od 299 uzoraka iz sustava s plastičnim cijevima, u četiri uzorka nije određen slobodni rezidualni klor. Iz tih sustava raspon od minimalne do maksimalne vrijednosti iznosio je 0,00 – 0,30 mg/l s pripadajućom vrijednosti medijana od 0,20 mg/l (Slika 5.6.). Vidljiv je isti iznos vrijednosti medijana za slobodni rezidualni klor iz sustava s pocinčanim i plastičnim cijevima, s tim da je veći interkvartilni raspon zabilježen u uzorcima iz plastičnih cijevi.

Sve izmjerene pH vrijednosti uzoraka vode iz sustava s obje vrste cijevi se kreću u blago lužnatom području i u granicama su propisanih vrijednosti<sup>13</sup>.



Slika 5.7. Interkvartilni prikaz rezultata koncentracije metalnih iona u uzorcima vode uzetih iz sustava s pocinčanim i sustava s plastičnim cijevima u razdoblju od 2009. do 2012. godine.



Iz Slike 5.7. je vidljivo da nisu dokazane veće razlike koncentracija metalnih iona između različitih vrsta cijevi za distribuciju tople vode. Ipak, vidljiva je malo povećana vrijednost medijana za željezo, cink i bakar u uzorcima iz pocinčanih cijevi. Razlog je u većoj zastupljenosti pocinčanih cijevi koje su isključivo konstrukcijski materijal i razvodne i unutarnje mreže, te sustava za distribuciju tople vode s različitim priključcima, ventilima, slavinama i drugim dijelovima izrađenih od različitih metalnih legura.

Zbog prisutnosti dvije skupine uzoraka, iz sustava s pocinčanim i plastičnim cijevima, u svrhu izračuna statističkih značajnosti fizikalno–kemijskih pokazatelja primijenjen je Mann–Whitneyev U test. Izračunate statističke značajnosti P su:

- P = 0,000 za temperaturu, slobodni rezidualni klor, Zn i Cu
- P = 0,004 za pH
- P = 0,035 za Fe
- P = 0,397 za Mg
- P = 0,573 za Mn
- P = 0,747 za Ca.

Dobivene vrijednosti P ukazuju na statističku značajnost temperature, slobodnog rezidualnog klora, Zn, Cu, pH i Fe, dok za Mg, Mn i Ca nije utvrđena statistička značajnost između uzoraka uzetih iz različitih sustava cijevi.

#### 5.2.1.1. Korelacije između fizikalno–kemijskih pokazatelja i *Legionella spp.*

Da bi se statistički odredila učestalost *Legionella spp.* u uzorcima vode iz objekata s različitim vrstama cijevi koristio se Hi–kvadrat test ( $\chi^2$  – test), pri čemu su se primijenile jednadžbe (3–8) i (3–9) iz poglavlja Metodologija.

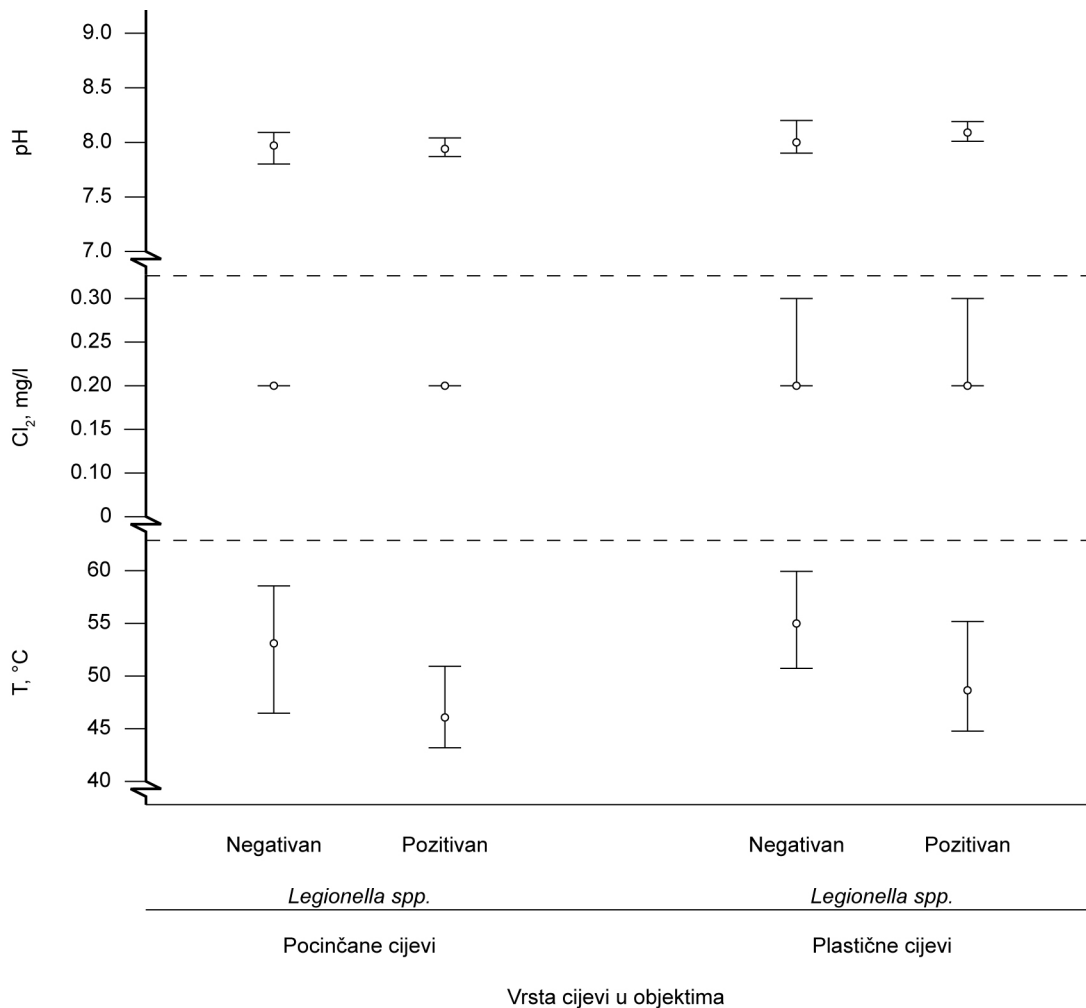
Tablica 5.4. Prikaz negativnih i pozitivnih nalaza na *Legionella spp.* u uzorcima vode uzetim iz objekata sa sustavom s različitim vrstama cijevi u razdoblju od 2009. do 2012. godine.

<i>Legionella spp.</i>		Vrsta cijevi	
		pocinčane	plastične
	Ukupan broj uzoraka (N)	126	299
negativan nalaz	broj uzoraka (N)	88	221
	%	69,8	73,9
pozitivan nalaz	broj uzoraka (N)	38	78
	%	30,2	26,1

Iz Tablice 5.4. se vidi da je od ukupno 126 uzoraka vode iz sustava za distribuciju tople vode s pocinčanim cijevima u 38 uzoraka (30,2%) identificirana *Legionella spp.*, dok je od ukupno 299 uzoraka vode iz sustava s plastičnim cijevima u 78 uzoraka (26,1%) dokazana *Legionella spp.*.

Statističkom obradom podataka izračunata je mala statistička značajnost prisutnosti *Legionella spp.* između sustava s različitim vrstama cijevi. Dobivene vrijednosti Hi–kvadrat testom  $\chi^2 = 0,550$ ;  $df = 1$  i  $P = 0,458$  dokazuju da nema izraženije razlike u učestalosti *Legionella spp.* u toplovodnom sustavu s pocinčanim i plastičnim cijevima. Razlog je u velikoj zastupljenosti metalnih konstrukcijskih dijelova vodoopskrbnog sustava razvodne i unutarnje mreže objekata. To je u skladu s prijašnjim istraživanjima<sup>21,22,27,28,51,55-61,118</sup> koja su dokazala povezanost produkata korozije metalnih segmenata vodoopskrbnog sustava s formiranjem biofilma unutar njih, stvaranjem optimalnih uvjeta za preživljavanje i rast *Legionella spp.*. Cijevi od plastičnih materijala su postojane prema koroziji i imaju izuzetno glatke unutrašnje površine, ali često sadrže različite stabilizatore (kao što su organokositreni spojevi) radi poboljšavanja njihove toplinske postojanosti, koji se s vremenom otapaju, mijenjaju kakvoću vode i pridonose razvoju biofilмова. Isto tako, gumene brtve i spojnice vodovodnih armatura, koje se koriste za spajanje i montiranje dijelova vodoopskrbnog sustava, mogu biti važan izvor nutrijenata nužnih za preživljavanje i razvoj mikroorganizama neovisno o vrsti cijevi<sup>83</sup> koje se upotrebljavaju u vodoopskrbnom sustavu nekog objekta.

Na Slikama 5.8. i 5.9. prikazani su fizikalno–kemijski pokazatelji tople vode iz sustava s pocinčanim i plastičnim cijevima za uzorke u kojima je nalaz bio negativan i pozitivan na *Legionella spp.*.



Slika 5.8. Interkvartilni prikaz rezultata temperature, slobodnog rezidualnog klora i pH u uzorcima vode iz sustava s pocinčanim i plastičnim cijevima za uzorke u kojima je nalaz bio negativan i pozitivan na *Legionella spp.* u razdoblju 2009. – 2012. godine.

Uspoređujući vrijednosti temperature vode iz Slike 5.8. vidljiv je manji interkvartilni raspon i manja vrijednost medijana za temperaturu u uzorcima iz sustava od pocinčanih cijevi. Određene vrijednosti odnose se na uzorke u kojima je dokazana i u kojima nije dokazana *Legionella spp.*. Tako vrijednost medijana za temperaturu u

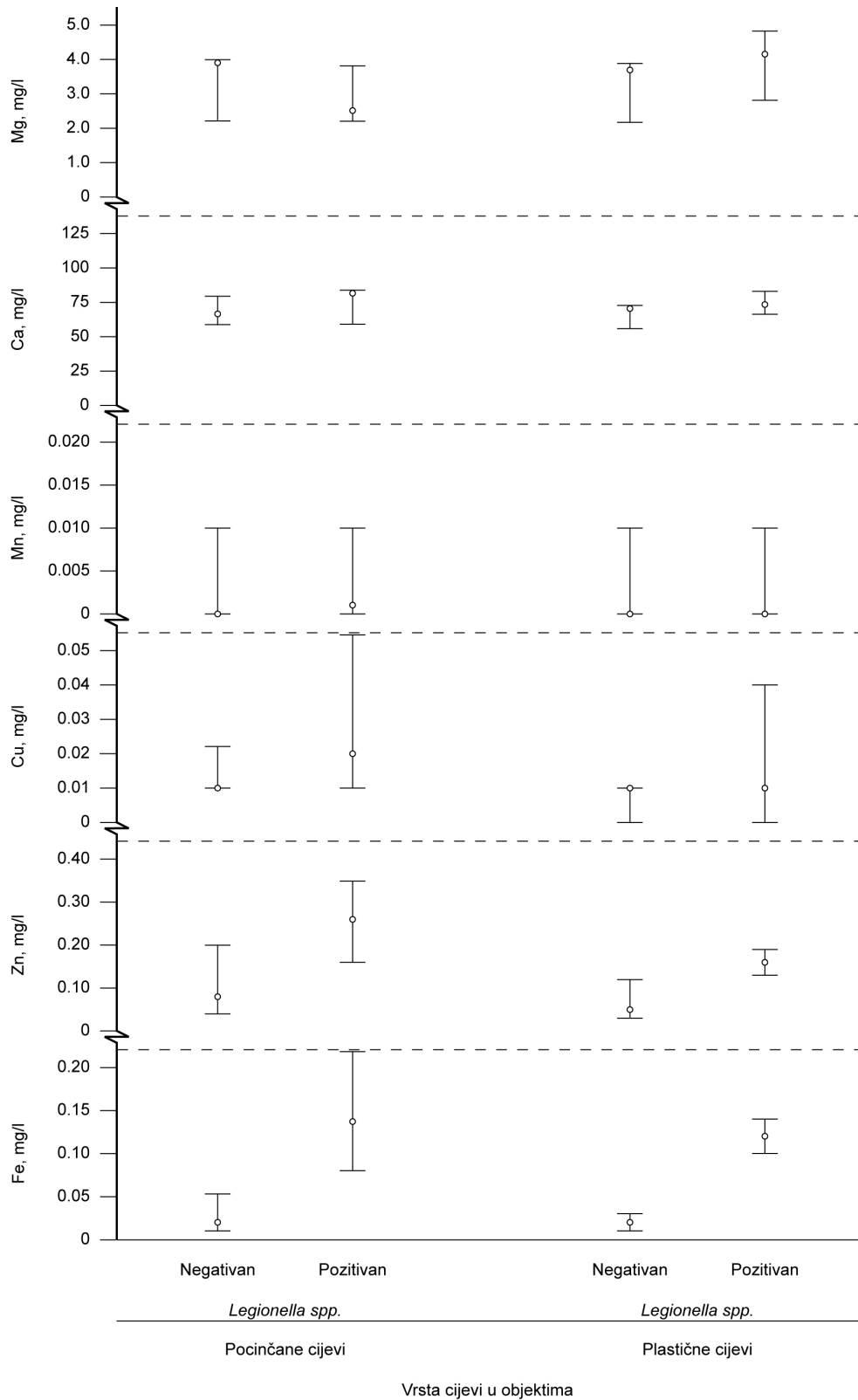
uzorcima negativnim na *Legionella spp.* iz sustava od pocinčanih cijevi iznosi 53°C (interkvartilni raspon 47 – 58°C), a iz mreže s plastičnim cijevima je 55°C (interkvartilni raspon 51 – 60°C). U uzorcima pozitivnim na *Legionella spp.* vrijednost medijana za temperaturu je 46°C s pripadajućim interkvartilnim rasponom 43 – 51°C, a iz sustava od plastičnih cijevi vrijednost medijana je 48°C (interkvartilni raspon 44 – 55°C). Dakle, bez obzira na vrstu cijevi ova studija je potvrdila negativnu korelaciju prisutnosti *Legionella spp.* s temperaturom što je dokazano i u ranijim istraživanjima Huanga i sur.<sup>69</sup>, Moritza i sur.<sup>70</sup>. Nakupljanje mikroorganizama na unutarnjim površinama cjevovoda i stvaranje biofilma unutar njih je pod utjecajem mnogih čimbenika, npr. površine konstrukcijskih materijala, temperature vode, hidrodinamičkih uvjeta, odnosno laminarnog i turbulencnog strujanja vode u vodoopskrbnom sustavu<sup>14,21,22</sup>. Temperatura vode je važan čimbenik u kolonizaciji *Legionella spp.*, a njezin utjecaj na preživljavanje *Legionella spp.* unutar vodoopskrbnog sustava istraživali su brojni istraživači<sup>51,117,119,120,121,122</sup>. Njihovi radovi su pokazali da niže temperature tople vode pogoduju prisutnosti *Legionella spp.*. U tim radovima je dokazano da temperature vode između 44 i 54°C najviše pogoduju kolonizaciji *Legionella spp.* predstavljajući opasnost za razvoj legionarske bolesti. Temperature vode više od 54°C smanjuju mogućnost stvaranja biofilmova i kolonizaciju *Legionella spp.*. Stoga se u cilju smanjenja mikrobne populacije preporučuje dezinfekcija cjevovoda za distribuciju tople vode zagrijavanjem vode<sup>3,12,29</sup> na 70°C.

Vrijednost medijana za slobodni rezidualni klor je ista u uzorcima vode iz sustava s pocinčanim i plastičnim cijevima i iznosi 0,20 mg/l, dok je raspon koncentracija iz sustava od pocinčanih cijevi manji (0,15 – 0,25 mg/l) u odnosu na plastične cijevi (0,00 – 0,30 mg/l), kao što se vidi iz Tablice 5.3. i Slike 5.8.. U uzorcima iz pocinčanih cijevi vrijednost medijana se poklapa s gornjim i donjim kvartilom, a u uzorcima iz plastičnih cijevi vrijednost medijana je identična s donjim kvartilom.

U svih 126 uzoraka voda iz mreže s pocinčanim cijevima određen je slobodni rezidualni klor i u 295 od 299 uzoraka iz mreže s plastičnim cijevima. Budući da je identificirana prisutnost *Legionella spp.* u prvom slučaju 30,2%, odnosno u drugom slučaju 26,1% uzoraka (Tablica 5.4.), to dokazuje da klor u utvrđenim koncentracijama ima slabo biocidno djelovanje na *Legionella spp.*. Otpornost *Legionella spp.* na dezinfekcijsko djelovanje slobodnog rezidualnog klora može se pripisati zaštitnom

djelovanju biofilma. Formirani biofilm prisutnim mikroorganizmima kao što je *Legionella spp.* osigurava hranjive tvari i enzime nužne za prehranu, omogućavajući time njihov opstanak i razmnožavanje i u uvjetima koji nisu optimalni za njihov rast i razvoj. To za posljedicu ima njihovu otpornost na toksično djelovanje slobodnog rezidualnog klora. Zaštitno djelovanje biofilma će biti tim veće kad se on formira i čvršće veže na hrapavijim (najčešće zbog korozije) površinama konstrukcijskog materijala potičući dodatnu biokoroziju na teže dostupnim mjestima (rubovi cijevi, T – profili i različita vodovodna armatura), na mjestima zaštićenim od hidrauličkih udara i promjene tlakova, te na mjestima gdje se voda dulje zadržava, kao što su različiti slijepi završetci, vodospreme, bojleri i drugo<sup>22,24,55-59</sup>. Zato su upravo ovo mjesta na kojima najčešće nastaje biofilm. Povezanost prisutnosti *Legionella spp.* s koncentracijama slobodnog rezidualnog klora dobivena u ovom radu se poklapa s ranijim istraživanjima<sup>75,85</sup>. Ona su pokazala da uobičajene koncentracije slobodnog rezidualnog klora u vodovodnoj vodi u potpunosti ne uništavaju *Legionella spp.*. Dakle, bakterije *Legionella spp.* prisutne unutar biofilma, rezistentne su na djelovanje klora koji se koristi za dezinfekciju vode, što znači da klor kao dezinfekcijsko sredstvo nije dovoljno učinkovit za bakteriju *Legionella spp.*.

Vrijednost medijana za pH vrijednost određena je u uzorcima vode iz sustava s plastičnim cijevima u iznosu od 8,01, a vrlo bliska vrijednost (pH = 7,96) je određena i u vodi iz pocinčanih cijevi (Tablica 5.3.). Također, u uzorcima vode iz obaju sustava za distribuciju tople vode su vidljivi manji interkvartilni rasponi pH vrijednosti za uzorke negativne i pozitivne na *Legionella spp.*, pa se ne može utvrditi utjecaj pH na prisutnost *Legionella spp.*. Poznato je da u vodama s nižim pH vrijednostima dolazi brže do korozije<sup>4,5</sup>, otapanja metala i povećavanja hrapavosti površine stjenke, što pogoduje stvaranju biofilma i kolonizaciji *Legionella spp.* unutar vodoopskrbnog sustava<sup>24</sup>. Wadowsky i sur.<sup>22</sup>, Leoni i sur.<sup>115</sup>, te Katz i sur.<sup>118</sup> dokazali su pozitivnu korelaciju prisutnosti *Legionella spp.* sa smanjenjem pH vrijednosti.



Slika 5.9. Interkvartilni prikaz koncentracija metalnih iona u uzorcima vode iz sustava s pocinčanim i plastičnim cijevima za uzorke u kojima je nalaz bio negativan i pozitivan na *Legionella spp.* u razdoblju od 2009. do 2012. godine.

Analizirajući Sliku 5.9., vidljive su veće koncentracije Fe u uzorcima vode iz sustava s pocinčanim cijevima. Vrijednost medijana za koncentraciju Fe u uzorcima u kojima nije dokazana *Legionella spp.* iznosi 0,002 mg/l (interkvartilni raspon 0,000 – 0,050 mg/l), a u uzorcima s pozitivnim nalazom vrijednost medijana je 0,130 mg/l (interkvartilni raspon 0,080 – 0,200 mg/l). Iz sustava s plastičnim cijevima u uzorcima negativnim na *Legionella spp.* vrijednost medijana za Fe je 0,020 mg/l (interkvartilni raspon 0,000 – 0,030 mg/l), a u pozitivnim uzorcima je 0,120 mg/l (interkvartilni raspon 0,100 – 0,150 mg/l). Primjetna je slična vrijednost medijana za koncentraciju Fe u uzorcima pozitivnim na *Legionella spp.* u promatranim sustavima. Međutim, ipak veći interkvartilni raspon zabilježen je u uzorcima vode iz sustava s pocinčanim cijevima. Navedeni rezultati ukazuju na korelaciju prisutnosti *Legionella spp.* s povećanom koncentracijom Fe, što je i u ranijim istraživanjima potvrđeno<sup>18,38,51,76</sup>. Budući da je željezo nužno potrebno za rast mikrobnih stanica prokariota i eukariota, njegova povećana koncentracija pospješuje nastanak i razvoj mikroorganizama<sup>123,124</sup>. U vodoopskrbnom sustavu opasna mjesta za razvoj *Legionella spp.* su slijepi završetci cijevi, kao i mjesta na kojima postoje naslage sedimenta, korozije, te stvoreni biofilm<sup>21,22</sup>. Korozija metalnih dijelova cjevovoda povećava koncentraciju hranjivih tvari potrebnih za rast biofilma kao i hrapavost površine unutarnje stjenke cijevi. Time se povećava dodirna površina koja je važna za kolonizaciju mikroorganizama, što pak pospješuje formiranje ekoloških niša u kojima su mikroorganizmi zaštićeni od mehaničkih i kemijskih djelovanja<sup>124,125</sup>. Korozija može izazvati i pukotine na stjenkama cjevovoda koje također mogu biti skloništa za *Legionella spp.* i druge patogene bakterije, te biti uzrok povećane mutnoće vode u vodoopskrbnom sustavu<sup>126,127</sup>. Borella i sur.<sup>61</sup> su istraživali brzinu kolonizacije *Legionella spp.* s obzirom na vrstu materijala od kojega su izrađene vodovodne cijevi. Njihovi rezultati su pokazali prisutnost manje koncentracije mikroorganizama na glatkim površinama cijevi, u odnosu na hrapave površine. Ovim provedenim istraživanjem je dokazano 30,2% uzoraka pozitivnih na *Legionella spp.* iz sustava s pocinčanim cijevima i 26,1% iz sustava s plastičnim cijevima (Tablica 5.4.) što je u skladu s rezultatima Borelle i sur.<sup>61</sup>. Pozitivnu korelaciju između prisutnosti *Legionella spp.* i iona željeza u koncentracijama većim od 0,042 mg/l dokazali su Bargellini i sur.<sup>26</sup> i Habich i sur.<sup>76</sup>.

Iz Slike 5.9. su vidljivi veći interkvartilni rasponi i vrijednosti medijana za koncentracije Zn u uzorcima negativnim i pozitivnim na *Legionella spp.* iz mreže s

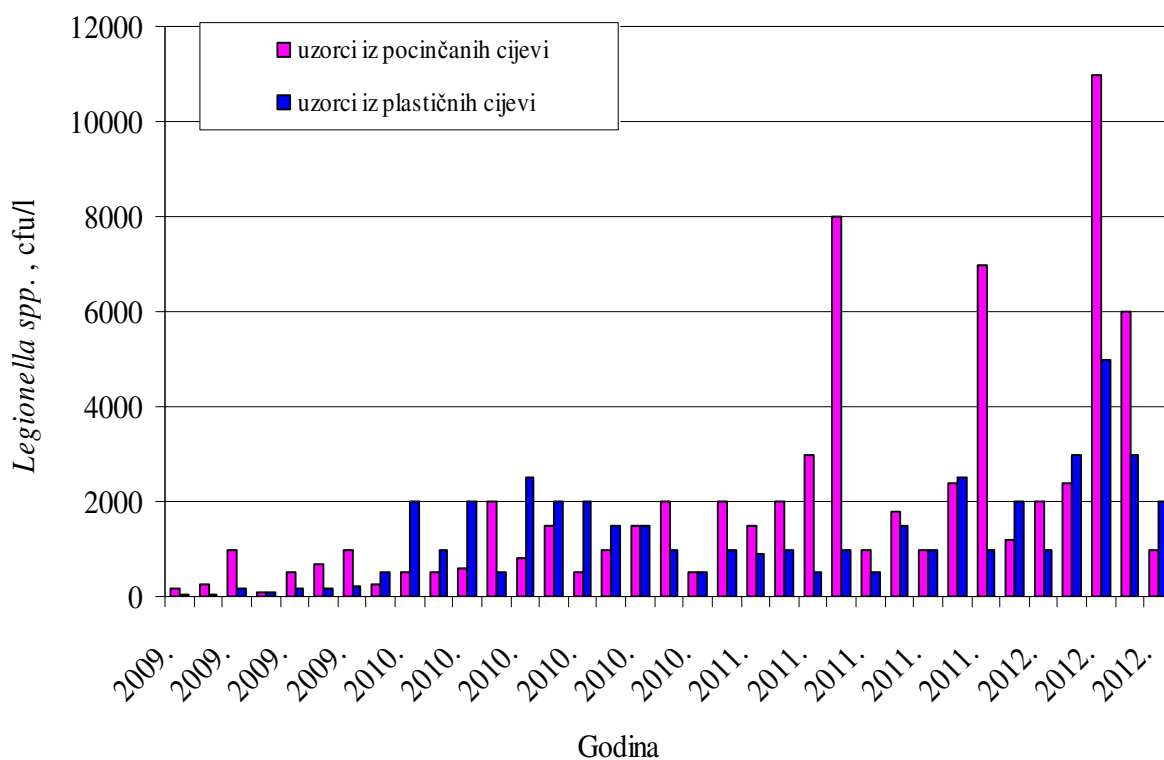
pocinčanim cijevima. Iz pocinčanih cijevi vrijednost medijana za koncentracije Zn u uzorcima negativnim na *Legionella spp.* je 0,080 mg/l (interkvartilni raspon 0,003 – 0,200 mg/l), a u pozitivnim uzorcima njezina vrijednost je veća za više od tri puta i iznosi 0,270 mg/l (interkvartilni raspon 0,170 – 0,360 mg/l). Vrijednost medijana za koncentracije Zn iz sustava s plastičnim cijevima u uzorcima negativnim na *Legionella spp.* iznosi 0,005 mg/l (interkvartilni raspon 0,002 – 0,130 mg/l), a u pozitivnim uzorcima je 0,180 mg/l (interkvartilni raspon 0,130 – 0,200 mg/l). Dakle, vidljive su povećane koncentracije Zn u vodi iz jednih i drugih sustava u uzorcima pozitivnim na *Legionella spp.*. Također, utvrđena je i približno upola manja vrijednost medijana za koncentracije Zn u uzorcima negativnim i pozitivnim na *Legionella spp.* iz sustava s plastičnim cijevima. Ovom studijom je dokazana pozitivna korelacija prisutnosti *Legionella spp.* s koncentracijom Zn. Kao sastavni dio konstrukcijskih materijala vodovodnih instalacija (cijevovoda, fazonskih komada, vodovodnih armatura)<sup>6,9</sup> cink je dosta zastupljen. Cink se u vodi nalazi u obliku otopljenih soli što je rezultat otapanja cinka iz metalnih konstrukcija (pocinčane cijevi ili mjedene vodovodne armature) koje se koriste za distribuciju vode<sup>23,34</sup>. Na površinama pocinčanih cijevi koje su u dodiru s vodenim medijem zbiva se korozija i jednim dijelom otopljeni metalni ioni odlaze u vodu, a dijelom stvaraju oksidni sloj na kojem se formira biofilm u kojemu se nakupljaju različite mikrobiološke vrste<sup>27</sup>. Proces oslobađanja cinka ovisi o dodiru s drugim metalima, protoku i pH vrijednosti vode. Dakle, interakcijom fizikalno–kemijskih čimbenika u vodi s pocinčanim konstrukcijskim materijalom dolazi do različitih fizikalno–kemijskih reakcija i promjene kakvoće vode, posebno povećanja koncentracije Zn. Rezultati ovoga istraživanja su sukladni rezultatima Bargellini i sur.<sup>26</sup> te Leoni i sur.<sup>115</sup> koji su dokazali da koncentracije Zn veće od 0,370 mg/l pozitivno utječu na prisutnost *Legionella spp.*.

Vrijednost medijana za koncentracije Cu u vodi iz sustava s pocinčanim cijevima iznosi 0,020 mg/l u uzorcima pozitivnim na *Legionella spp.*, dok je u uzorcima vode iz plastičnih cijevi *Legionella spp.* dokazana i pri upola manjoj vrijednosti medijana za koncentracije Cu (0,010 mg/l), kao što se vidi na Slici 5.9.. Međutim, ono što je zajedničko za obje skupine uzoraka je znatno veći interkvartilni raspon koncentracija Cu u uzorcima pozitivnim na *Legionella spp.* u odnosu na uzorke vode u kojima *Legionella spp.* nije dokazana. Kao građevni materijal vodovodne armature sustava od pocinčanih i plastičnih cijevi najčešće se koristi mesing (legura bakra s cinkom)<sup>9,12,33,34</sup> i



to zbog veće otpornosti na koroziju i trošenje. Ipak, pri različitim uvjetima (temperatura i kemijski sastav vode) s vremenom dolazi do korozije takvih materijala, predstavljajući time glavni izvor bakrovih iona u vodi. U slučaju nastanka korozije kod bakrenih materijala najčešće se javlja bimetalna ili bakrom inducirana dubinska korozija. U novijim istraživanjima<sup>26,60,81,82,115,116,119,128</sup> je utvrđeno da koncentracije bakra veće od 0,050 mg/l imaju inhibični učinak na rast i razmnožavanje *Legionella spp.*. Također, u istraživanju Edagawa i sur.<sup>117</sup> provedenom u Japanu za uzorke tople vode iz javne vodoopskrbe, dobiveni su slični rezultati.

Na Slici 5.10. grafički je prikazana vremenska promjena koncentracije *Legionella spp.* u uzorcima vode iz različitih vrsta cijevi.



Slika 5.10. Dijagram koncentracije *Legionella spp.* s obzirom na vrstu cijevi iz kojih su uzeti uzorci na analizu u razdoblju od 2009. do 2012. godine.

Za obje vrste cijevi se vidi povećanje koncentracije *Legionella spp.* s vremenom, a izraženije je u uzorcima vode iz pocinčanih cijevi. Dakle, može se zaključiti da

pocinčane cijevi u odnosu na plastične, predstavljaju veću opasnost za razvoj biofilma i za preživljavanje *Legionella spp.*. Ipak, treba naglasiti da postoji mogućnost i da iz plastičnih (PVC) cijevi, gumenih brtvi i spojnica vodovodne armature s vremenom i pri određenim uvjetima (posebno povišena temperatura) dolazi do ispiranja (*engl. leaching*) organskih sastojaka koji potiču razvoj biofilma i kolonizaciju *Legionella spp.*

### **5.2.2. Analiza rezultata fizikalno–kemijskih pokazatelja kakvoće vode s obzirom na vrijeme rada objekata**

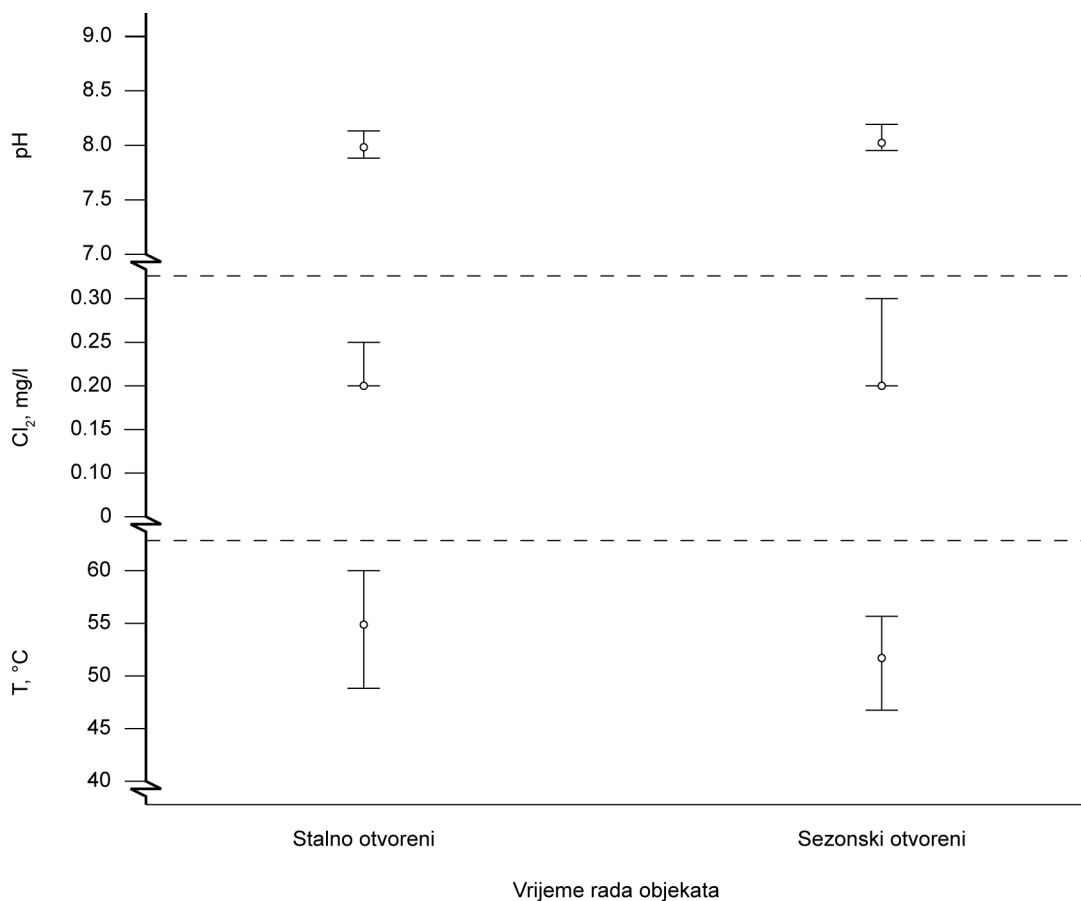
Provedenim istraživanjem ispitana je kakvoća vode u ovisnosti o vremenu rada pojedinog objekta. Analizirano je 206 uzoraka toplih voda iz dva objekta koja su otvorena sezonski od travnja do listopada i 219 uzoraka iz dva objekta koja su otvorena tijekom cijele godine.

Koristeći osnovnu statističku analizu dobiveni su rezultati koji su prikazani tabelarno (Tablica 5.5.) i grafički (Slika 5.11. i Slika 5.12.) s obzirom na vrijeme rada objekata za sve godine istraživanja u razdoblju od 2009. do 2012. godine.

Tablica 5.5. Prikaz minimalne i maksimalne vrijednosti, raspona vrijednosti i vrijednosti medijana za ispitivane fizikalno–kemijske pokazatelje u uzorcima vode uzetim iz stalno i sezonski otvorenih objekata u razdoblju od 2009. do 2012. godine.

Vrijeme rada	Pokazatelji	Broj uzoraka (N)	Minimum	Maksimum	Raspon vrijednosti	Medijan
stalno otvoreni	T, °C	219	38,50	67,50	29,00	55,00
	Cl <sub>2</sub> , mg/l	219	0,10	0,30	0,20	0,20
	pH	132	7,25	8,40	1,15	7,98
	Fe, mg/l	219	0,000	0,313	0,313	0,030
	Zn, mg/l	219	0,000	0,660	0,660	0,110
	Cu, mg/l	219	0,000	0,436	0,436	0,010
	Mn, mg/l	219	0,000	0,802	0,802	0,001
	Ca, mg/l	87	49,820	92,950	44,130	68,230
	Mg, mg/l	87	1,990	5,930	3,940	3,870
sezonski otvoreni	T, °C	206	30,10	66,10	36,00	51,80
	Cl <sub>2</sub> , mg/l	206	0,00	0,30	0,30	0,20
	pH	143	7,53	8,43	0,90	8,02
	Fe, mg/l	206	0,000	0,390	0,390	0,030
	Zn, mg/l	206	0,000	0,426	0,426	0,090
	Cu, mg/l	206	0,000	0,440	0,440	0,010
	Mn, mg/l	206	0,000	0,037	0,037	0,002
	Ca, mg/l	63	46,780	137,610	90,830	
	Mg, mg/l	63	1,880	4,570	2,690	2,980

U Tablici 5.5. uočava se da svi pokazatelji imaju približno iste raspone vrijednosti u uzorcima vode uzetim iz stalno i sezonski otvorenih objekata. Međutim, to nije slučaj za minimalne i maksimalne vrijednosti koncentracija za sve pokazatelje. Tako, slobodni rezidualni klor nije dokazan u četiri uzorka vode iz sezonski otvorenih objekata, te maksimalna vrijednost koncentracije Mn u jednom uzorku iz stalno otvorenog objekta oko 16 puta premašuje maksimalno dopuštenu koncentraciju. Iako je vrijednost medijana za koncentracije Fe ista za uzorke vode uzete iz stalno i sezonski otvorenih objekata (0,030 mg/l), njegova maksimalna koncentracija u sezonski otvorenim objektima je veća, što se može pripisati većem stupnju korozije u uvjetima duljeg zadržavanja vode, posebice u različitim slijepim završecima cjevovoda i armature. To su upravo i mjesta za povoljan razvoj biofilma<sup>62,64,129</sup>.



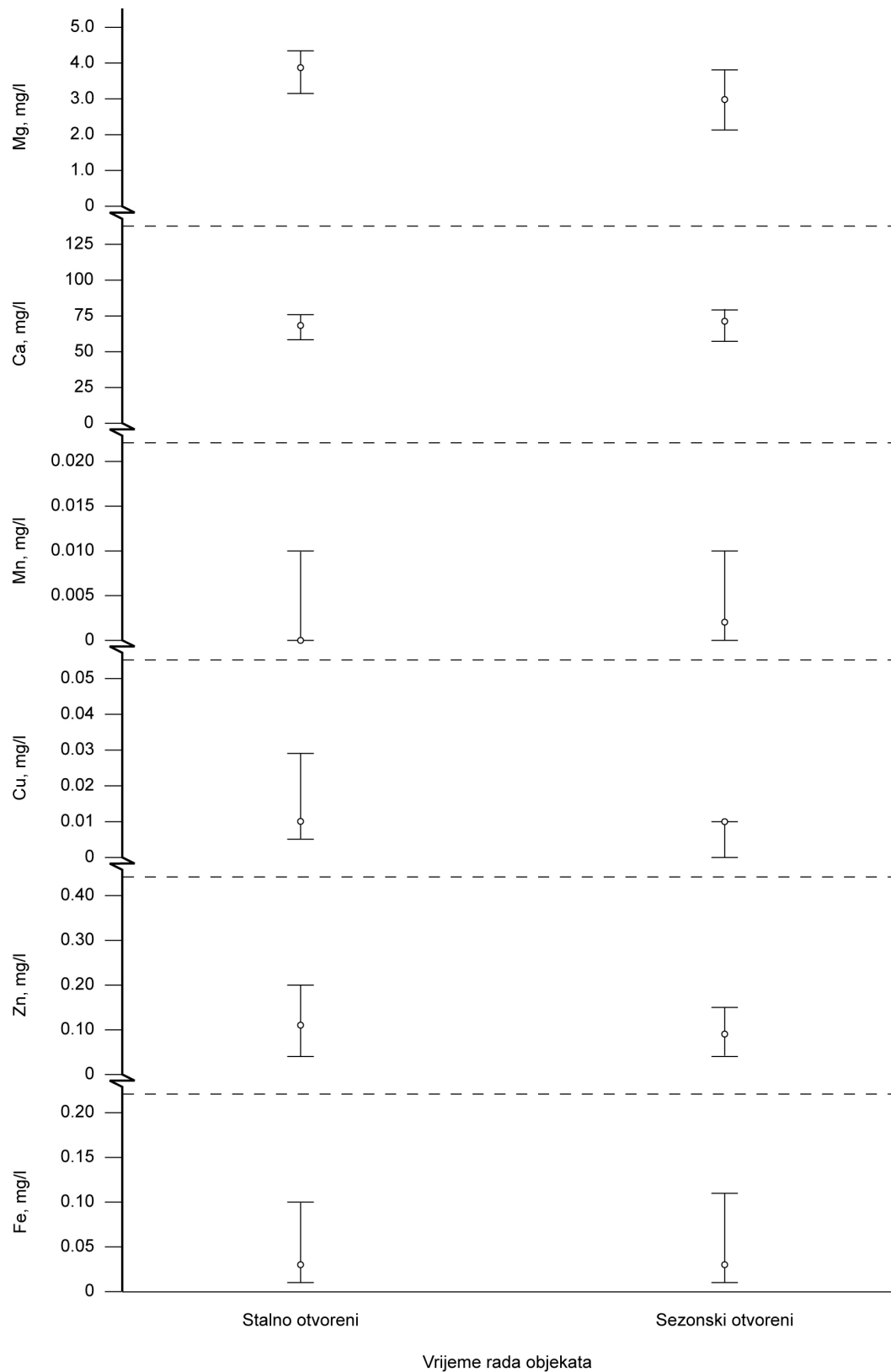
Slika 5.11. Interkvartilni prikaz rezultata temperature, slobodnog rezidualnog klora i pH za uzorke vode iz stalno i sezonski otvorenih objekata u razdoblju od 2009. do 2012. godine.

U stalno otvorenim objektima vrijednost medijana za temperaturu iznosi 55,00°C i manja je u odnosu na uzorke uzete iz sezonski otvorenih objekata u kojima vrijednost medijana iznosi 51,80°C, Tablica 5.5. i Slika 5.11.. Također, u uzorcima iz stalno otvorenih objekata vidljiva je veća vrijednost medijana i veći interkvartilni raspon temperature. U obje skupine uzoraka medijan za temperaturu se nalazi na sredini interkvartilnog raspona rezultata.

Na Slici 5.11. primjetan je veći interkvartilni raspon koncentracija slobodnog rezidualnog klora u uzorcima vode iz sezonski otvorenih objekata (0,20 – 0,30 mg/l) u odnosu na stalno otvorene objekte (0,20 – 0,25 mg/l), dok se vrijednost medijana poklapala s vrijednošću donjeg kvartila za obje skupine uzoraka.

Slika 5.11. pokazuje neznatno veću vrijednost medijana za pH u uzorcima vode iz sezonski otvorenih objekata (pH = 8,02) u odnosu na stalno otvorene objekte (pH = 7,98) kao i to da su interkvartilni rasponi za obje skupine uzoraka vrlo slični.

Na Slici 5.12. prikazani su interkvartilni rasponi koncentracija metalnih iona u uzorcima tople vode uzetih iz stalno i sezonski otvorenih objekata u razdoblju od 2009. do 2012. godine.



Slika 5.12. Interkvartilni prikaz rezultata koncentracija metalnih iona u uzorcima tople vode uzetih iz stalno i sezonski otvorenih objekata u razdoblju od 2009. do 2012. godine.

Na Slici 5.12. se vidi da su vrijednosti medijana za koncentracije Fe, kao i pripadajući interkvartilni rasponi skoro identični za uzorke vode iz stalno otvorenih (medijan 0,030 mg/l i interkvartilni raspon 0,010 – 0,099 mg/l) i sezonski otvorenih objekata (medijan 0,030 mg/l i interkvartilni raspon 0,010 – 0,110 mg/l). Vrijednost medijana i interkvartilni raspon za koncentracije Zn su znatno veći u uzorcima vode iz stalno otvorenih (medijan 0,110 mg/l i interkvartilni raspon 0,040 – 0,200 mg/l) u odnosu na sezonski otvorene objekte (medijan 0,030 mg/l i interkvartilni raspon 0,010 – 0,110 mg/l). Za koncentracije Cu vrijednost medijana je ista (0,010 mg/l) za obje skupine uzoraka vode. U sezonski otvorenim objektima se vrijednost medijana poklapa s vrijednosti gornjeg kvartila i manji je interkvartilni raspon (0,000 – 0,010 mg/l), dok je u stalno otvorenim objektima njegova vrijednost bliža donjem kvartilu i veći je pripadajući interkvartilni raspon (0,005 – 0,029 mg/l).

Da bi se ispitala statistička značajnost fizikalno–kemijskih pokazatelja između dvije skupine uzoraka (stalno i sezonski otvorenih objekata) i s obzirom da distribucija dobivenih rezultata značajno odstupa od normalne distribucije, korišten je Mann–Whitneyev U test. Izračunate su statističke značajnosti P:

- P = 0,000 za temperaturu, slobodni rezidualni klor, Cu, Mn i Mg
- P = 0,049 za pH
- P = 0,076 za Zn
- P = 0,212 za Ca
- P = 0,615 za Fe.

Dakle, između stalno i sezonski otvorenih objekata nisu dokazane statističke značajnosti za Zn, Ca i Fe.

5.2.2.1. Korelacije između fizikalno–kemijskih pokazatelja i *Legionella spp.*

Učestalosti prisutnosti *Legionella spp.* u uzorcima uzetim iz objekata s različitim vremenima rada statistički su dokazane pomoću Hi–kvadrat testa ( $\chi^2$ ).

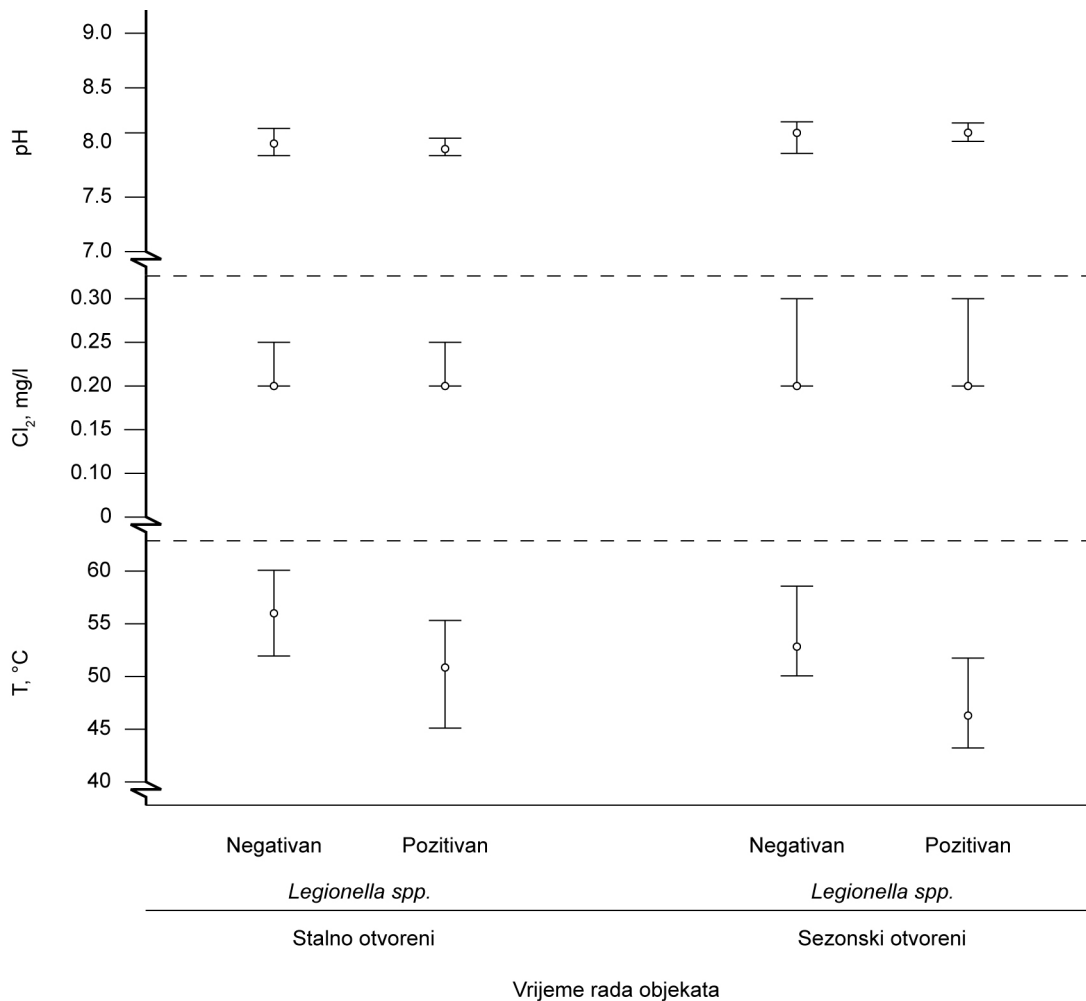
Tablica 5.6. Prikaz negativnih i pozitivnih nalaza na *Legionella spp.* u uzorcima vode iz stalno i sezonski otvorenih objekata u razdoblju od 2009. do 2012. godine.

<i>Legionella spp.</i>		Vrijeme rada	
		stalno otvoreni	sezonski otvoreni
	Ukupan broj uzoraka (N)	219	206
negativan nalaz	broj uzoraka (N)	162	147
	%	73,97	71,36
pozitivan nalaz	broj uzoraka (N)	57	59
	%	26,03	28,64

Izračunate statističke veličine Hi–kvadrat testa:  $\chi^2 = 0,246$ ;  $df = 1$  i  $P = 0,620$  ukazuju da su male statističke značajnosti učestalosti *Legionella spp.* u uzorcima iz objekata s različitim vremenima rada. Tako je u uzorcima tople vode iz stalno otvorenih objekata *Legionella spp.* izolirana iz 26,03% uzoraka, dok je iz sezonski otvorenih objekata primjetan blagi porast prisutnosti *Legionella spp.*, te je dokazano 28,64% uzoraka pozitivnih na *Legionella spp.* (Tablica 5.6.).

Korelacije prisutnosti *Legionella spp.* s promjenama fizikalno–kemijskih pokazatelja između uzoraka uzetih iz stalno i sezonski otvorenih objekata prikazane su na Slikama 5.13. i 5.14..





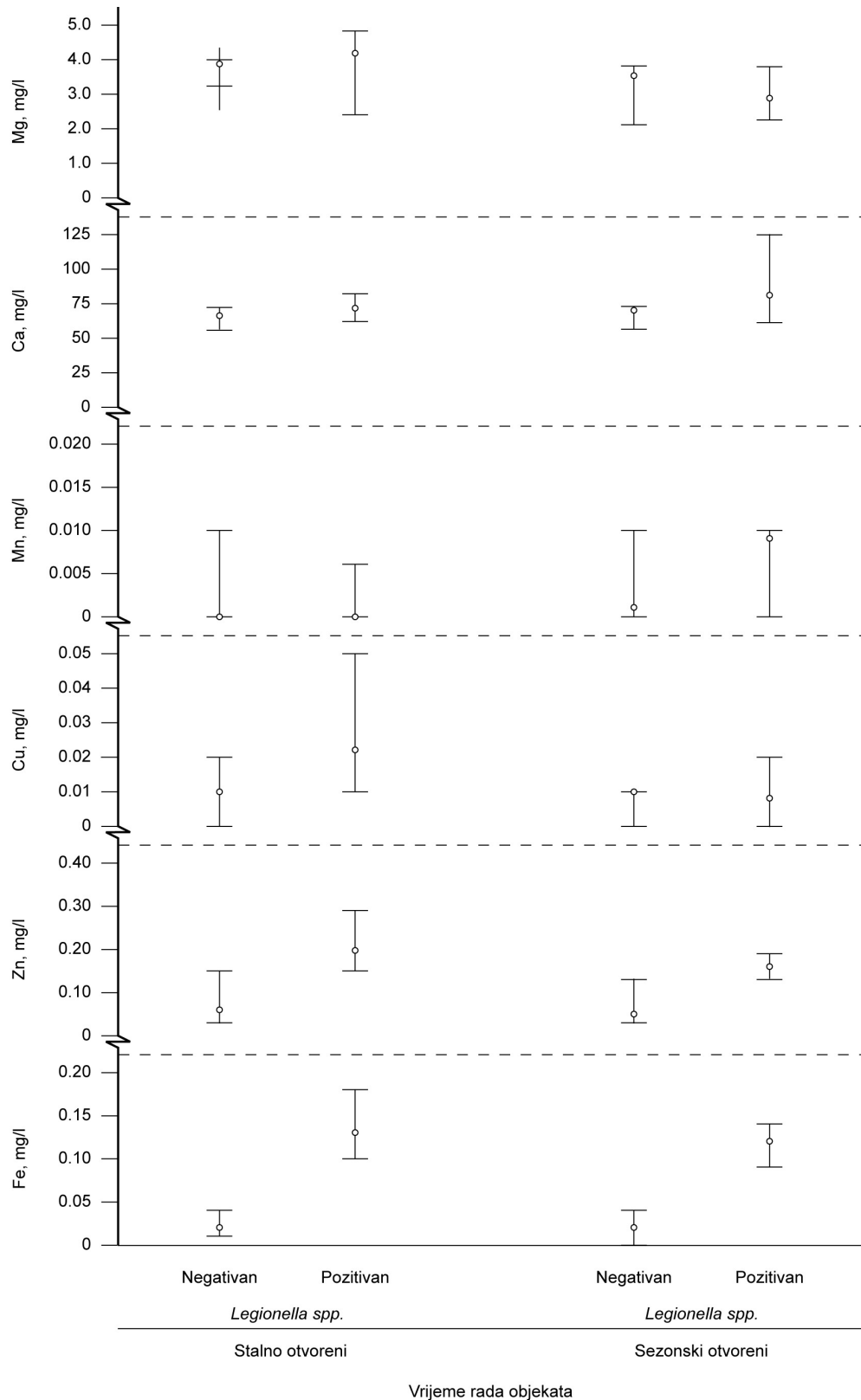
Slika 5.13. Interkvartilni prikaz rezultata temperature, slobodnog rezidualnog klora i pH u uzorcima vode iz stalno i sezonski otvorenih objekata za uzorke u kojima je nalaz bio negativan i pozitivan na *Legionella spp.* u razdoblju od 2009. do 2012. godine.

Na Slici 5.13. se vidi da vrijednost medijana za temperaturu iz stalno otvorenih objekata u uzorcima u kojima nije dokazana *Legionella spp.* iznosi 56°C (interkvartilni raspon 52 – 60°C), a u uzorcima pozitivnim na *Legionella spp.* je 51°C (interkvartilni raspon 45 – 55°C). U uzorcima negativnim na *Legionella spp.* iz sezonski otvorenih objekata vrijednost medijana za temperaturu iznosi 53°C (interkvartilni raspon 50 – 58°C), a u uzorcima pozitivnim na *Legionella spp.* vrijednost medijana je 47°C (interkvartilni raspon 43 – 52°C). Vidljivo je da su vrijednosti medijana za temperature i interkvartilni rasponi veći u uzorcima vode iz stalno otvorenih objekata u kojima nije dokazana i u kojima je dokazana *Legionella spp.*. Također, se vidi da je za obje skupine uzoraka vrijednost medijana za temperaturu manja u uzorcima pozitivnim na *Legionella*

*spp.*. Dobiveni rezultati ukazuju na negativnu korelaciju prisutnosti *Legionella spp.* s temperaturom, što je potvrđeno i u prethodnim istraživanjima<sup>69,70</sup>.

Vrijednost medijana za koncentracije slobodnog rezidualnog klora, kao i pripadajući interkvartilni rasponi su vrlo bliski u uzorcima vode s negativnim i pozitivnim nalazom na *Legionella spp.*, kako u sezonski tako i u stalno otvorenim objektima. To ukazuje da je *Legionella spp.* tolerantna na klor, odnosno da slobodni rezidualni klor nema baktericidni učinak na *Legionella spp.*. Stoga bi u toplovodnim sustavima, za koje se procjenjuje da su potencijalno osjetljivi na pojavu *Legionella spp.*, dezinfekciju trebalo provoditi sa sredstvima jačeg biocidnog učinka, odnosno sredstvima koja sadrže u kombinaciji više aktivnih tvari tako da pokrivaju što je moguće širi spektar biocidnog djelovanja. Jedan od takvih višekomponentnih dezinficijenasa je na bazi vodikova peroksida kao glavne aktivne tvari.

Uspoređujući vrijednosti medijana za pH (Slika 5.13.) između uzoraka pozitivnih na *Legionella spp.* iz stalno (pH = 7,98) i sezonski otvorenih objekata (pH = 8,02) primjetna je mala razlika. S obzirom na prisutnost *Legionella spp.* u uzorcima iz stalno otvorenih (26,03%) i iz sezonski otvorenih objekata (28,64%), te zbog neznatne razlike u utvrđenim vrijednostima pH ne može se zaključiti o međusobnoj korelaciji.

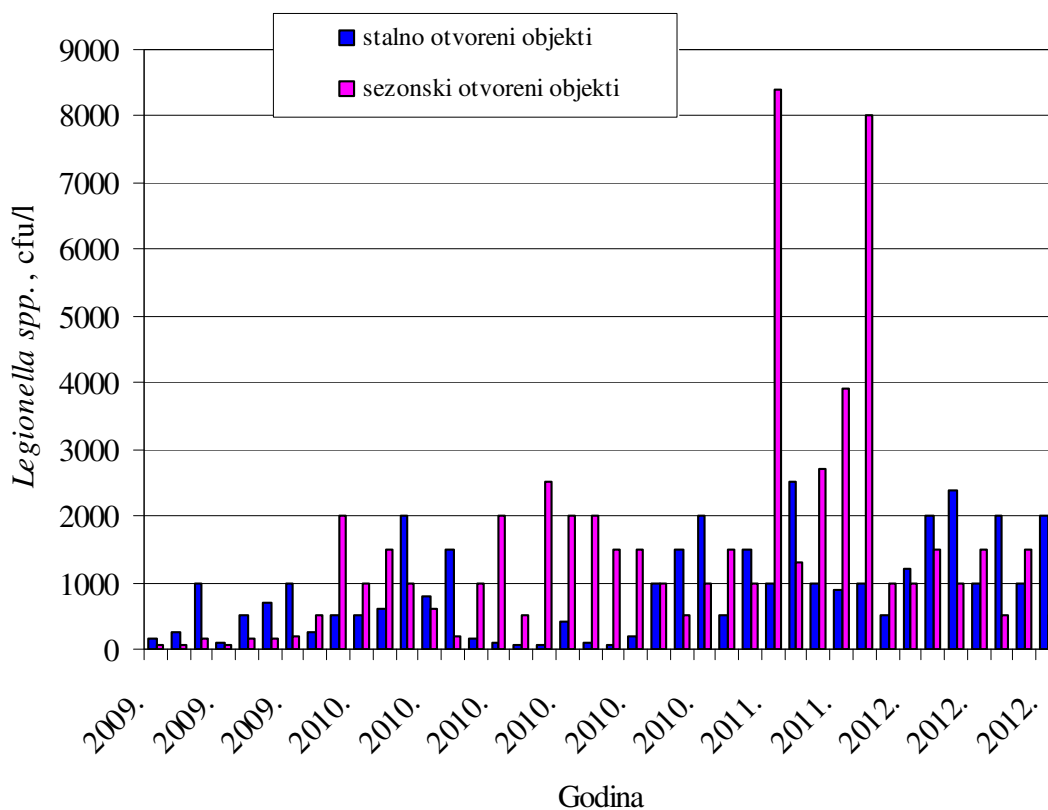


Slika 5.14. Interkvartilni prikaz koncentracija metalnih iona u uzorcima vode iz stalno i sezonski otvorenih objekata za uzorke u kojima je nalaz bio negativan i pozitivan na *Legionella spp.* u razdoblju od 2009. do 2012. godine.

Uspoređujući negativne i pozitivne nalaze na *Legionella spp.* u uzorcima vode iz stalno i sezonski otvorenih objekata na Slici 5.14. uočavaju se veće vrijednosti medijana i veći interkvartilni raspon koncentracija Fe u uzorcima vode pozitivnim na *Legionella spp.* uzete kako iz stalno (medijan 0,130 mg/l, interkvartilni raspon 0,100 – 0,180 mg/l), tako i iz sezonski otvorenih objekata (medijan 0,120 mg/l, interkvartilni raspon 0,080 – 0,140 mg/l). Isto tako su u uzorcima vode pozitivnim na *Legionella spp.* dokazane veće vrijednosti medijana i interkvartilni raspon koncentracija Zn iz stalno (medijan 0,200 mg/l i interkvartilni raspon 0,150 – 0,300 mg/l) i sezonski otvorenih objekata (medijan 0,180 mg/l i interkvartilni raspon 0,130 – 0,200 mg/l), dok je određena veća vrijednost medijana za koncentracije Cu (0,023 mg/l) i veći interkvartilni raspon (0,010 – 0,050 mg/l) za uzorke vode pozitivne na *Legionella spp.* uzete iz stalno otvorenih objekata.

Budući da su u uzorcima vode iz svih objekata, bez obzira na vrijeme rada, određeni fizikalno–kemijski pokazatelji za koje su prethodno dokazane korelacije s pozitivnim nalazom *Legionella spp.*, može se zaključiti da na pojavu *Legionella spp.* nije od presudnog značaja vrijeme rada objekta. Upravo je to potvrđeno, kao što se vidi u Tablici 5.6., bliskim postotkom uzoraka vode s pozitivnim nalazom *Legionella spp.* iz stalno i iz sezonski otvorenih objekata. Sezonski rad objekta, zadržavanje vode u pojedinim dijelovima vodoopskrbnog sustava dulje vrijeme, neujednačena dinamika korištenja vode, taloženje kamenca i produkata korozije na stjenkama cijevi mogu pogodovati razvoju biofilmova unutar kojih se osiguravaju uvjeti za preživljavanje, razmnožavanje i kolonizaciju različitih mikroorganizama, pa tako i *Legionella spp.*<sup>2,54-59,130</sup>. Stoga, da bi se ove pretpostavke potvrdile, u uzorcima vode s pozitivnim nalazom provedena je i kvantitativna analiza, odnosno određene su koncentracije *Legionella spp.*.

Na Slici 5.15. grafički su prikazane usporedne vrijednosti koncentracija *Legionella spp.* za stalno i sezonski otvorene objekte u vremenskom razdoblju od 2009. do 2012. godine.



Slika 5.15. Promjena koncentracije *Legionella spp.* s obzirom na vrijeme rada objekata iz kojih su uzeti uzorci voda za analizu u vremenskom razdoblju od 2009. do 2012. godine.

Na Slici 5.15. se vidi da koncentracije *Legionella spp.* pokazuju tendenciju rasta u obje istraživane skupine uzoraka, osim za stalno otvorene objekte u 2010.–oj godini. Porast koncentracije *Legionella spp.* je izraženiji u objektima koji rade sezonski, te su tijekom 2011. godine određene maksimalne koncentracije (8000 i 8400 cfu/l) što dokazuje ostvarivanje optimalnih uvjeta za razvoj mikroorganizama u vodoopskrbnom sustavu sezonski otvorenih objekata. Dobiveni rezultati istraživanja potvrđuju da je nužno provoditi preventivne mjere u cilju zaštite od legionarske bolesti kako u objektima koji su otvoreni sezonski, tako i u onima koji rade cijelu godinu. Neke od preporuka<sup>72</sup> za sezonski otvorene objekte su da se prije otvaranja sezone bojler, spremnik i drugi dijelovi razvodne mreže tople vode očiste od nakupljenog mulja i taloga, cijeli sustav temeljito ispere s vrućom vodom temperature od 70 do 90°C i kasnije tijekom rada da se temperatura tople vode održava iznad 50°C, a temperatura hladne vode ispod 20°C. Za sigurnost stalno otvorenih objekata bi trebalo povremeno i

redovito provesti ispiranje distribucijskog sustava za toplu i za hladnu vodu, te održavati optimalne temperature vode tijekom rada, kao što je navedeno za sezonski otvorene objekte.

Primjenom navedenih postupaka bi se znatno smanjila mogućnost pojave i razmnožavanja *Legionella spp.* u stalno i sezonski otvorenim objektima i time osigurala zdravstvena ispravnost vode. Uz navedene preventivne mjere preporučljivo je češće provoditi uzorkovanje i analiziranje uzoraka s potencijalno opasnijih mjesta unutar vodoopskrbnog sustava na kojima se stvaraju optimalni uvjeti za razvoj *Legionella spp.* (slijepi završetci vodoopskrbnih sustava poput spremnika, bojlera i T – profila vodovodnih cijevi) iz stalno i sezonski otvorenih objekata.

### **5.3. Analiza rezultata fizikalno–kemijskih pokazatelja i *Legionella spp.* u vodi iz sustava za distribuciju tople vode po objektima i tromjesečjima rada**

#### **5.3.1. Objekt 1**

Objekt 1 je dom za starije i nemoćne osobe koji se opskrbljuje vodom iz Vodoopskrbnog sustava Split–Solun–Kaštela–Trogir, a koji se pak opskrbljuje s izvorišta rijeke Jadro. Cjevovod razvodne mreže, kao i sustav cijevi za distribuciju tople vode je izrađen od pocinčanih cijevi. Dom je otvoren tijekom cijele godine.

##### **5.3.1.1. Analiza rezultata fizikalno–kemijskih pokazatelja po tromjesečjima**

Kako je Objekt 1 otvoren tijekom cijele godine, provedena je statistička obrada rezultata fizikalno–kemijskih pokazatelja uzoraka tople vode iz vodoopskrbnog sustava po tromjesečjima za sve godine istraživanja zajedno i rezultati su prikazani u Tablici 5.7..

Tablica 5.7. Prikaz minimalne i maksimalne vrijednosti, raspona vrijednosti i vrijednosti medijana za ispitivane fizikalno–kemijske pokazatelje u uzorcima tople vode uzetim unutar Objekta 1 u razdoblju od 2009. do 2012. godine.

Tromjesečja	Pokazatelji	Broj uzoraka (N)	Minimum	Maksimum	Raspon vrijednosti	Medijan
Q <sub>1</sub> 1. tromjesečje (siječanj, veljača, ožujak)	T, °C	39	41,20	65,20	24,00	49,10
	Cl <sub>2</sub> , mg/l	39	0,20	0,25	0,050	0,20
	pH	27	7,72	8,34	0,62	8,16
	Fe, mg/l	39	0,000	0,250	0,250	0,010
	Zn, mg/l	39	0,000	0,540	0,540	0,140
	Cu, mg/l	39	0,000	0,130	0,130	0,010
	Mn, mg/l	39	0,000	0,010	0,010	0,000
	Ca, mg/l	12	80,220	92,950	12,730	85,810
	Mg, mg/l	12	2,080	2,570	0,490	2,200
Q <sub>2</sub> 2. tromjesečje (travanj, svibanj, lipanj)	T, °C	36	38,50	61,70	23,20	53,20
	Cl <sub>2</sub> , mg/l	36	0,20	0,25	0,05	0,23
	pH	24	7,62	8,13	0,51	7,86
	Fe, mg/l	36	0,000	0,230	0,230	0,048
	Zn, mg/l	36	0,020	0,486	0,466	0,130
	Cu, mg/l	36	0,000	0,436	0,436	0,020
	Mn, mg/l	36	0,000	0,802	0,802	0,003
	Ca, mg/l	12	52,970	68,600	15,630	65,190
	Mg, mg/l	12	2,200	4,690	2,490	3,930
Q <sub>3</sub> 3. tromjesečje (srpanj, kolovoz, rujan)	T, °C	6	54,00	66,50	12,50	56,20
	Cl <sub>2</sub> , mg/l	6	0,15	0,15	0,00	0,15
	pH	6	7,79	7,98	0,19	7,92
	Fe, mg/l	6	0,010	0,100	0,090	0,025
	Zn, mg/l	6	0,030	0,120	0,090	0,045
	Cu, mg/l	6	0,000	0,070	0,070	0,010
	Mn, mg/l	6	0,000	0,010	0,010	0,000
	Ca, mg/l	0	–	–	–	–
	Mg, mg/l	0	–	–	–	–
Q <sub>4</sub> 4. tromjesečje (listopad, studeni, prosinac)	T, °C	45	40,10	67,50	27,40	46,00
	Cl <sub>2</sub> , mg/l	45	0,15	0,20	0,05	0,20
	pH	21	7,66	8,09	0,43	7,90
	Fe, mg/l	45	0,000	0,313	0,313	0,070
	Zn, mg/l	45	0,020	0,660	0,640	0,258
	Cu, mg/l	45	0,000	0,249	0,249	0,020
	Mn, mg/l	45	0,000	0,051	0,051	0,001
	Ca, mg/l	24	49,820	85,220	35,400	60,550
	Mg, mg/l	24	1,990	4,410	2,420	3,810

Na temelju dobivenih rezultata uočavaju se promjene mjerenih pokazatelja tijekom tromjesečja. Najveće raspone vrijednosti pokazale su koncentracije Fe, Cu i Mn. Ovakvi rezultati upućuju na povremeno povećane vrijednosti navedenih pokazatelja. Rasponi vrijednosti za pH i slobodni rezidualni klor upućuju na ujednačena odstupanja tijekom tromjesečja. Vrijednosti medijana za sve fizikalno–kemijske pokazatelje su ispod maksimalno dopuštenih koncentracija<sup>13</sup>. Međutim, maksimalne koncentracije za Fe izmjerene tijekom prvog ( $Q_1$ ), drugog ( $Q_2$ ) i četvrtog tromjesečja ( $Q_4$ ), te maksimalne koncentracije za Mn izmjerene tijekom drugog ( $Q_2$ ) i četvrtog tromjesečja ( $Q_4$ ) su iznad maksimalno dopuštenih vrijednosti.

S ciljem utvrđivanja statističke značajnosti između pojedinih pokazatelja po tromjesečjima korišteni su statistički neparametrijski testovi Kruskal–Wallisov K i Mann–Whitneyev U test. Oni su korišteni zbog malog broja uzoraka po pojedinim tromjesečjima i zbog normaliteta raspodjele mjerenih pokazatelja. Pomoću Kruskal–Wallisova K testa su se usporedili mjereni pokazatelji između četiri tromjesečja primjenjujući jednadžbu (3–7), koja je prikazana u poglavlju Metodologija. Za pokazatelje za koje Kruskal–Wallisov K test nije pokazao statističke značajnosti, daljnje se usporedbe nisu radile. Za dokazane statističke značajnosti mjerenih pokazatelja između tromjesečja, daljnje usporedbe fizikalno–kemijskih pokazatelja između dviju tromjesečja provedene su s Mann–Whitneyevim U testom primjenjujući jednadžbe (3–4), (3–5) i (3–6) iz poglavlja Metodologija. Na temelju dobivenih statističkih značajnosti (P) koristeći navedene testove, utvrđena je statistička značajnost mjerenih pokazatelja između tromjesečja.

Usporedbom vrijednosti fizikalno–kemijskih pokazatelja tople vode između tromjesečja Kruskal–Wallisovim K testom utvrđene su statističke značajnosti P:

- P = 0,000 za pH, slobodni rezidualni klor, Fe, Zn
- P = 0,001 za temperaturu
- P = 0,010 za Cu
- P = 0,015 za Mn.

Budući da su Kruskal–Wallisovim K testom dobivene sve vrijednosti  $P < 0,05$ , dokazana je statistička značajnost između tromjesečja za određivane fizikalno–kemijske pokazatelje tople vode. Stoga je daljnja statistička obrada provedena Mann–



Whitneyevim U testom kojim su se usporedile vrijednosti pokazatelja između dvaju tromjesečja.

Usporedbom rezultata fizikalno–kemijskih pokazatelja dobivenih tijekom prvog ( $Q_1$ ) i drugog tromjesečja ( $Q_2$ ) izračunate su statističke značajnosti P:

- $P = 0,000$  za pH
- $P = 0,001$  za slobodni rezidualni klor i Mn
- $P = 0,004$  za temperaturu
- $P = 0,006$  za Cu
- $P = 0,007$  za Fe
- $P = 0,493$  za Zn.

Iz dobivenih vrijednosti P se vidi da su za sve pokazatelje, osim za Zn, utvrđene statističke značajnosti u usporedbi njihovih rezultata dobivenih u prvom ( $Q_1$ ) i drugom tromjesečju ( $Q_2$ ).

Usporedbom rezultata fizikalno–kemijskih pokazatelja određenih tijekom prvog ( $Q_1$ ) i trećeg tromjesečja ( $Q_3$ ) izračunate su statističke značajnosti P:

- $P = 0,000$  za slobodni rezidualni klor
- $P = 0,004$  za temperaturu
- $P = 0,005$  za pH
- $P = 0,132$  za Zn
- $P = 0,235$  za Fe
- $P = 0,799$  za Mn.

Izračunate vrijednosti P ukazuju na statističku značajnost za koncentracije slobodnog rezidualnog klora, te za temperaturu i pH, dok za koncentracije Zn, Fe i Mn nisu utvrđene statističke značajnosti.

Usporedbom rezultata fizikalno–kemijskih pokazatelja određenih tijekom prvog ( $Q_1$ ) i četvrtog tromjesečja ( $Q_4$ ) izračunate su statističke značajnosti P:

- $P = 0,000$  za pH, slobodni rezidualni klor, Fe, Zn
- $P = 0,007$  za Cu

- $P = 0,103$  za Mn
- $P = 0,754$  za temperaturu.

Dakle, između trećeg ( $Q_3$ ) i četvrtog tromjesečja ( $Q_4$ ) nisu dokazane statističke značajnosti samo za Mn i temperaturu.

Usporedbom rezultata fizikalno–kemijskih pokazatelja dobivenih tijekom drugog ( $Q_2$ ) i trećeg tromjesečja ( $Q_3$ ) izračunate su statističke značajnosti P:

- $P = 0,000$  za slobodni rezidualni klor
- $P = 0,039$  za temperaturu
- $P = 0,106$  za Cu
- $P = 0,156$  za Mn
- $P = 0,438$  za Fe
- $P = 0,586$  za pH.

Usporedbom fizikalno–kemijskih pokazatelja određenih tijekom drugog ( $Q_2$ ) i trećeg tromjesečja ( $Q_3$ ) utvrđeno je da za koncentracije Cu, Mn, Fe i pH nisu dokazane statističke značajnosti.

Usporedbom rezultata fizikalno–kemijskih pokazatelja dobivenih tijekom drugog ( $Q_2$ ) i četvrtog tromjesečja ( $Q_4$ ) izračunate su statističke značajnosti P:

- $P = 0,000$  za slobodni rezidualni klor
- $P = 0,004$  za temperaturu
- $P = 0,006$  za Zn
- $P = 0,102$  za Fe
- $P = 0,111$  za Mn
- $P = 0,593$  za pH
- $P = 0,873$  za Cu.

Provedenom statističkom analizom rezultata fizikalno–kemijskih pokazatelja između drugog ( $Q_2$ ) i četvrtog tromjesečja ( $Q_4$ ) utvrđena je statistička značajnost za slobodni rezidualni klor, temperaturu i Zn, dok za koncentracije Fe, Mn, Cu i za pH nisu dokazane statističke značajnosti.

Usporedbom rezultata fizikalno–kemijskih pokazatelja dobivenih tijekom trećeg (Q<sub>3</sub>) i četvrtog tromjesečja (Q<sub>4</sub>) izračunate su statističke značajnosti P:

- P = 0,000 za slobodni rezidualni klor
- P = 0,003 za Fe
- P = 0,006 za Zn
- P = 0,013 za temperaturu
- P = 0,094 za Cu
- P = 0,620 za Mn
- P = 0,861 za pH.

Vidljivo je da između uspoređivanih tromjesečja nisu dokazane statističke značajnosti za koncentracije Cu, Mn i pH.

### 5.3.1.2. Korelacije između fizikalno–kemijskih pokazatelja i *Legionella spp.* po tromjesečjima

U Tablici 5.8. prikazana je učestalost uzoraka pozitivnih na *Legionella spp.* unutar Objekta 1 po tromjesečjima za sve godine istraživanja zajedno.

Tablica 5.8. Prikaz negativnih i pozitivnih nalaza na *Legionella spp.* u uzorcima tople vode uzetim unutar Objekta 1 tijekom tromjesečja za razdoblje od 2009. do 2012. godine.

Tromjesečja	Ukupan broj uzoraka (N)		<i>Legionella spp.</i>	
			negativan nalaz	pozitivan nalaz
Q <sub>1</sub>	39	broj uzoraka (N)	29	10
		%	74,4	25,6
Q <sub>2</sub>	36	broj uzoraka (N)	29	7
		%	80,6	19,4
Q <sub>3</sub>	6	broj uzoraka (N)	6	0
		%	100,0	0,0
Q <sub>4</sub>	45	broj uzoraka (N)	24	21
		%	53,3	46,7
ukupno	126	broj uzoraka (N)	88	38
		%	69,8	30,2

Od ukupno 126 uzoraka tople vode uzetih iz vodoopskrbnog sustava Objekta 1 u 38 uzoraka (30,2%) je identificirana *Legionella spp.*. Tijekom prvog tromjesečja od 39 uzoraka dokazano je 10 pozitivnih na *Legionella spp.* i to po tri uzorka u siječnju i veljači, te četiri u ožujku. Od ukupno 36 uzoraka uzetih tijekom drugog tromjesečja sedam je uzoraka bilo pozitivno na *Legionella spp.* i to u mjesecu svibnju. U četvrtom tromjesečju analizirano je 45 uzoraka od kojih su četiri bila pozitivna na *Legionella spp.* uzeta u listopadu, a 17 uzoraka je bilo pozitivno na *Legionella spp.* uzeta u prosincu.

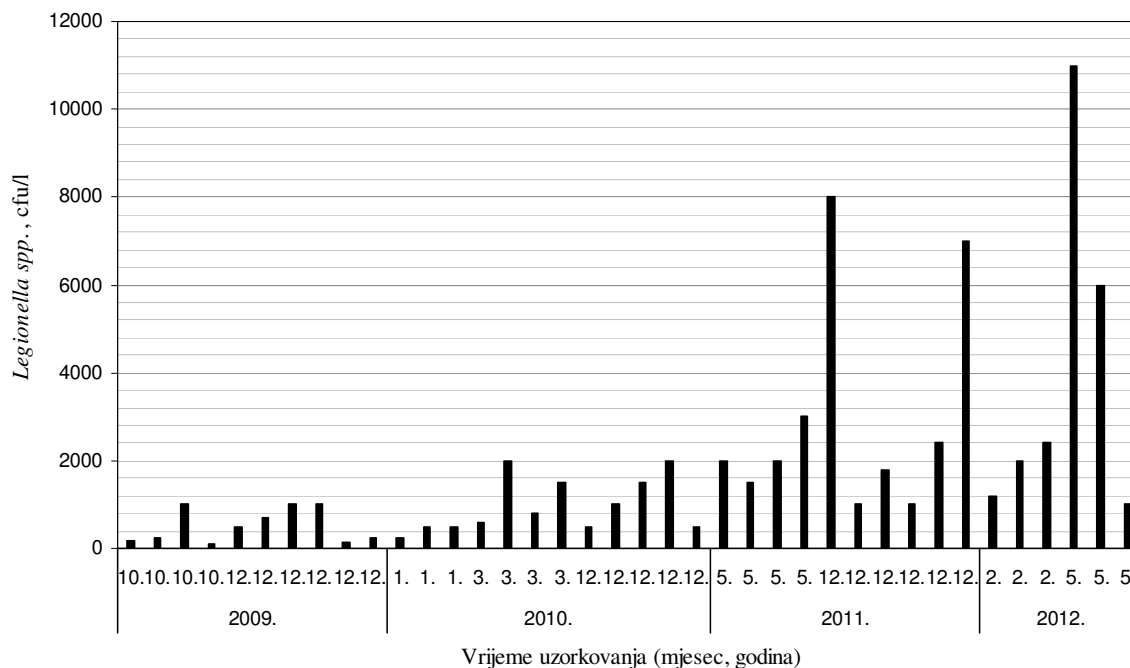
Da bi se statistički odredila učestalost *Legionella spp.* po tromjesečjima za sve godine istraživanja koristio se Hi–kvadrat test ( $\chi^2$ ). Izračunate vrijednosti testa  $\chi^2 = 10,753$ ;  $df = 3$  i  $P = 0,013$  ukazuju da postoji statistička razlika između četiri tromjesečja.

Tijekom četvrtog tromjesečja (Q<sub>4</sub>) i to u listopadu i prosincu u dvadeset i jednom uzorku (46,7%) je identificirana *Legionella spp.*, dok u trećem tromjesečju (Q<sub>3</sub>) nije dokazana u niti jednom uzorku. Ovo se može povezati s nižom temperaturom, te većim koncentracijama Fe, Zn i Cu koje su određene u uzorcima vode u četvrtom tromjesečju (Q<sub>4</sub>) u odnosu na uzorke u trećem tromjesečju.

Naime, najmanja vrijednost medijana za temperaturu izmjerena je tijekom četvrtog tromjesečja (Q<sub>4</sub>) i iznosila je 46,00°C s rasponom od 40,10 do 67,50°C (Tablica 5.7.). Upravo je u tom tromjesečju identificirana *Legionella spp.* u najvećem broju uzoraka (N = 21 odnosno 46,7%). Kako se vrijednosti medijana za temperature povećavaju od prvog do drugog tromjesečja (za Q<sub>1</sub> T = 49,10°C; za Q<sub>2</sub> T = 53,20°C) tako se smanjuje broj, odnosno postotak uzoraka pozitivnih na *Legionella spp.* da bi u trećem tromjesečju (Q<sub>3</sub>) u kojem je određena najveća vrijednost medijana temperature T = 56,20°C i najmanji temperaturni raspon od 54 do 66°C svi uzorci bili negativni na *Legionella spp.*. Tijekom trećeg tromjesečja, uz najveću određenu temperaturu, određene su najmanje vrijednosti medijana za koncentraciju Fe od 0,025 mg/l s rasponom od 0,010 do 0,100 mg/l, za Zn od 0,045 mg/l s rasponom od 0,030 do 0,120 mg/l i za Cu od 0,010 mg/l s rasponom od 0,000 do 0,070 mg/l (Tablice 5.7. i 5.8.). Ovi rezultati ukazuju na snažan sinergijski učinak djelovanja niže temperature i većih koncentracija Fe i Zn na stvaranje biofilma i nastanak *Legionella spp.*, pa inhibitorno djelovanje veće koncentracije Cu na *Legionella spp.* ne dolazi do izražaja.

Budući da je tijekom ljetnih mjeseci (treće tromjesečje) potrošnja vode veća i neprekidna uz veće oscilacije protoka, to dodatno doprinosi stvaranju nepovoljnih uvjeta za stvaranje biofilma.

Kako je uz kvalitativni nalaz *Legionella spp.* važno provesti i kvantitativnu analizu, u 38 uzoraka pozitivnih na *Legionella spp.* (Tablica 5.8.) određena je i pripadajuća koncentracija. Koncentracije *Legionella spp.* su određene u rasponu od 100 do 11000 cfu/l, a rezultati promjene koncentracije *Legionella spp.* s vremenom grafički su prikazani na Slici 5.16. za sve godine istraživanja.



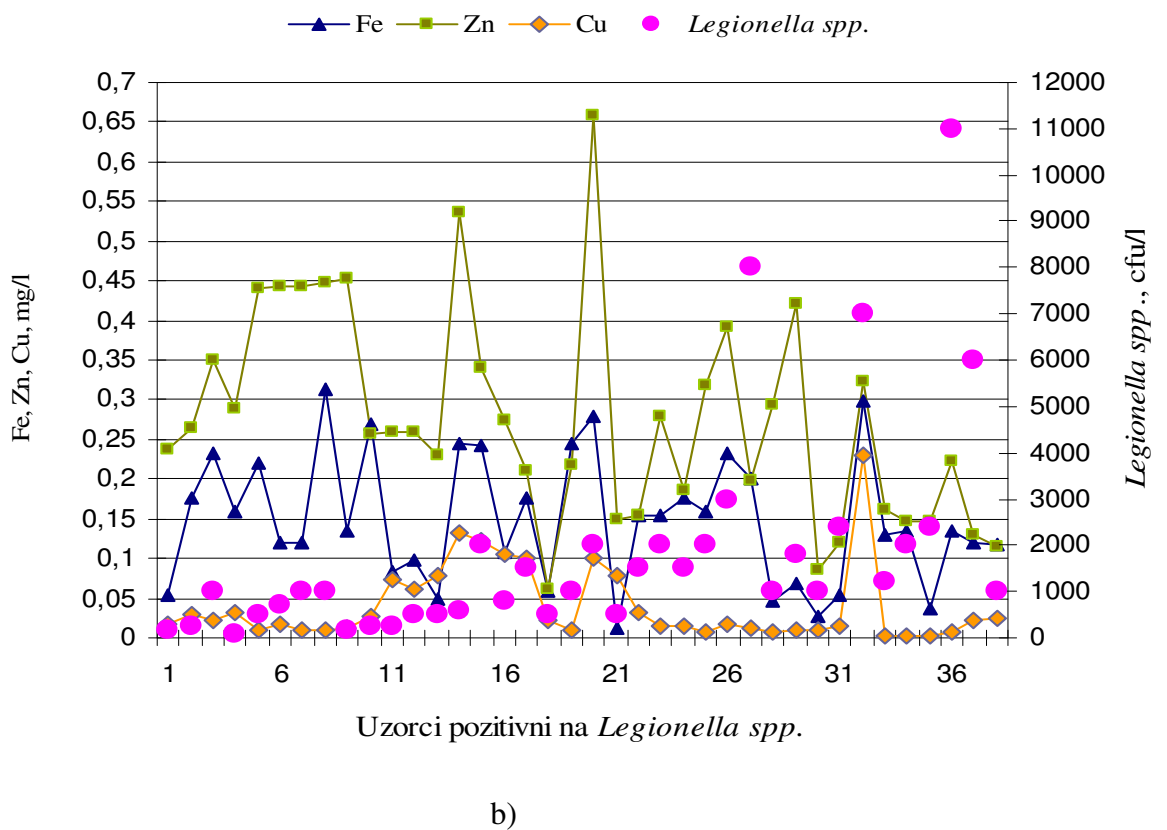
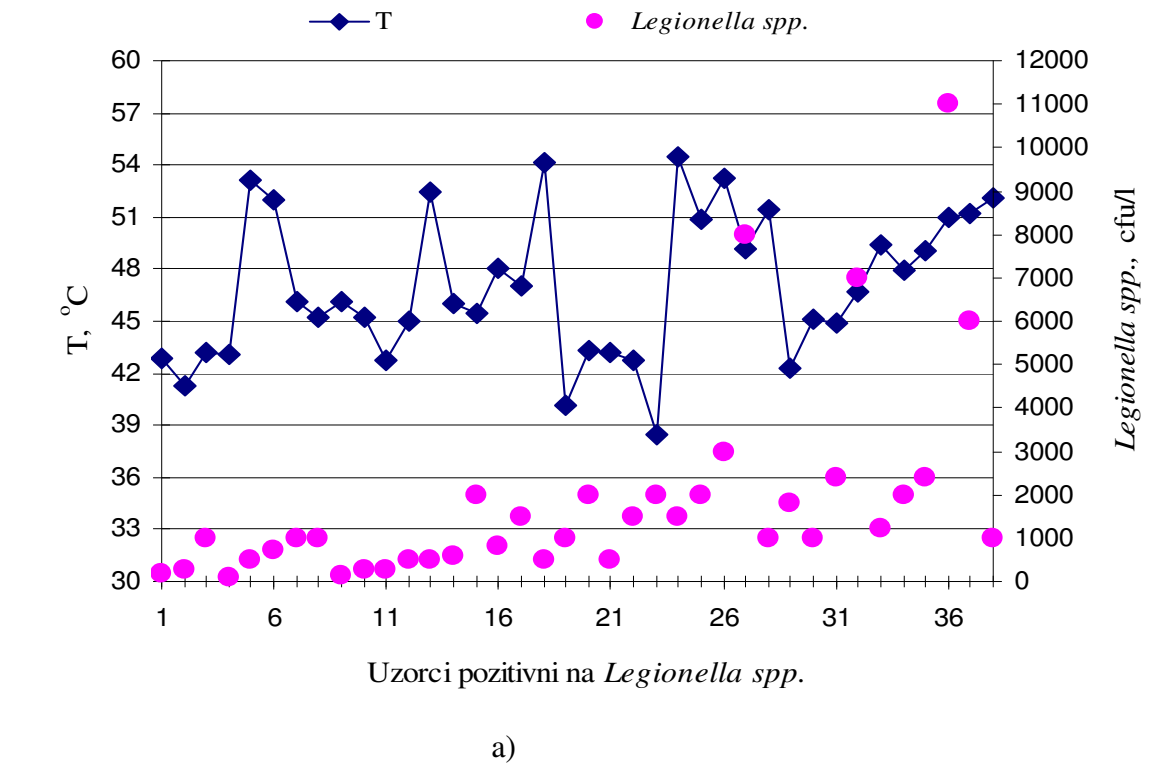
Slika 5.16. Promjena koncentracije *Legionella spp.* u pozitivnim uzorcima tople vode iz Objekta 1 u ovisnosti o vremenu uzorkovanja u razdoblju od 2009. do 2012. godine.

*Legionella spp.* je dokazana tijekom prvog tromjesečja ( $Q_1$ ) u 2010. i 2012. godini, tijekom drugog tromjesečja ( $Q_2$ ) u 2011. i 2012. godini i u četvrtom tromjesečju ( $Q_4$ ) tijekom 2009., 2010. i 2011. godine, dok u trećem tromjesečju ( $Q_3$ ) za sve četiri godine istraživanja niti jedan uzorak nije bio pozitivan na *Legionella spp.* što je već prethodno objašnjeno (Slika 5.16.).

Na Slici 5.16. vidljiv je porast koncentracije *Legionella spp.* s godinama, što može biti posljedica napredovanja procesa korozije pocinčanih cijevi (razvodne i unutarnje mreže), ventila, slavina i drugih priključaka, kao i neodgovarajućeg održavanja cijelog toplovodnog sustava. Sve ove promjene mogu se nazvati *starenje* sustava, a posljedica je smanjenje kakvoće vode kroz sve fizikalno–kemijske i biološke pokazatelje. Posebna opasnost je stvaranje biofilmova unutar takvog vodoopskrbnog sustava. Unutar njega su osigurani optimalni uvjeti za razvoj i kolonizaciju *Legionella spp.* čija pak prisutnost predstavlja opasnost za onečišćenje vode za piće i zdravlje ljudi<sup>11,12</sup>.

Na pojavu i koncentraciju *Legionella spp.* u vodi mogu utjecati različiti čimbenici, kao što je već analizirano razmatranjem utjecaja svakog fizikalno–kemijskog pokazatelja vode odvojeno. Međutim, vodoopskrbni sustav je vrlo složeni heterogeni sustav u kojem se zbivaju različiti fizikalno–kemijski i biološki procesi, posljedica čega je da je i voda jedna vrlo složena otopina različitih tvari prisutnih u različitim koncentracijama. Stoga, utvrđeni utjecaj svake pojedine komponente sadržane u vodi na pojavu *Legionella spp.* nije posve pouzdan, jer u smjesi različite komponente mogu međusobno djelovati sinergijski ili antagonistički na preživljavanje i kolonizaciju *Legionella spp.*.

Da bi se dobio uvid o zajedničkom utjecaju ispitivanih pokazatelja na *Legionella spp.*, grafički su prikazane ovisnosti koncentracije *Legionella spp.* o temperaturi, koncentraciji Fe, Zn i Cu za svaki uzorak u kojemu je dokazana *Legionella spp.* (Slike 5.17.).



Slika 5.17. Koncentracija *Legionella spp.* u pozitivnim uzorcima tople vode iz Objekta 1 u ovisnosti o: a) temperaturi, b) koncentraciji Fe, Zn i Cu.



Iz grafičkih prikaza, Slika 5.17. a) i b), se vidi da je u najvećem broju uzoraka ( $N = 13$ ) koncentracija *Legionella spp.* bila u rasponu od 700 do 1800 cfu/l unutar koje su određene temperature od 40,1 do 54,5°C, te koncentracije Fe od 0,027 do 0,313 mg/l, Zn od 0,086 do 0,448 mg/l i Cu od 0,003 do 0,105 mg/l.

U dvanaest uzoraka s koncentracijama *Legionella spp.* manjim od 700 cfu/l temperature su bile od 41,3 do 54,1°C, te koncentracije Fe od 0,013 do 0,269 mg/l, Zn od 0,061 do 0,536 mg/l i Cu od 0,010 do 0,132 mg/l.

Trinaest uzoraka je sadržavalo *Legionella spp.* veću od 1800 cfu/l, temperature su bile od 38,5 do 53,2°C, te koncentracije Fe od 0,036 do 0,278 mg/l, Zn od 0,120 do 0,659 mg/l i Cu od 0,002 do 0,123 mg/l.

Prema provedenim istraživanjima<sup>26,82</sup>, koncentracija bakra  $> 0,050$  mg/l je potvrđena kao ograničavajući čimbenik razvoja *Legionella spp.*. Obradom rezultata s obzirom na koncentracije bakra (veće i manje od 0,050 mg/l) utvrđeno je da je deset uzoraka imalo koncentraciju Cu veću od 0,050 mg/l, a koncentracije *Legionella spp.* su većinom bile do 2000 cfu/l. Iz dobivenih rezultata vidi se jače izražen sinergijski odnos niže temperature i većih koncentracija Fe i Zn s koncentracijom *Legionella spp.* u odnosu na negativnu korelaciju s koncentracijom Cu. Navedeno potvrđuju vrijednosti pokazatelja iz uzorka s najvećom koncentracijom *Legionella spp.* od 11000 cfu/l u kojemu je temperatura iznosila 51°C, a koncentracija Cu je bila 0,007 mg/l, dok je koncentracija Fe bila 0,134 mg/l i Zn 0,223 mg/l.

Dakle, ovi rezultati dokazuju da su povećane koncentracije *Legionella spp.* povezane s nižim temperaturama i manjim koncentracijama Cu, te s većim koncentracijama Fe i Zn.

### 5.3.2. Objekt 2

Objekt 2 je hotel priključen na Vodoopskrbni sustav Makarskog primorja, a koji se pak opskrbljuje s vodozahvata na rijeci Cetini pokraj Zadvarja. Cjevovod razvodne mreže je izrađen od pocinčanih, a sustav cijevi za distribuciju tople vode izrađen je od plastičnih (PVC) cijevi. Hotel radi sezonski i otvoren je tijekom godine od mjeseca travnja do listopada.

#### 5.3.2.1. Analiza rezultata fizikalno–kemijskih pokazatelja po tromjesečjima

Provedena je statistička obrada rezultata fizikalno–kemijskih pokazatelja tople vode za uzorke u kojima je identificirana *Legionella spp.* za vrijeme rada hotela od mjeseca travnja do listopada, pa su istraživanjem obuhvaćena dva tromjesečja, a rezultati su prikazani u Tablici 5.9..

Tablica 5.9. Prikaz minimalne i maksimalne vrijednosti, raspona vrijednosti i vrijednosti medijana za ispitivane fizikalno–kemijske pokazatelje u uzorcima tople vode uzetim unutar Objekta 2 u razdoblju od 2009. do 2012. godine.

Tromjesečja	Pokazatelji	Broj uzoraka (N)	Minimum	Maksimum	Raspon vrijednosti	Medijan
Q <sub>2</sub>	T, °C	71	42,10	61,80	19,70	59,30
	Cl <sub>2</sub> , mg/l	71	0,10	0,30	0,20	0,20
	pH	48	7,25	8,40	1,15	7,97
	Fe, mg/l	23	0,000	0,220	0,220	0,010
	Zn, mg/l	71	0,000	0,490	0,490	0,050
	Cu, mg/l	71	0,000	0,180	0,180	0,010
	Mn, mg/l	71	0,000	0,040	0,040	0,050
	Ca, mg/l	23	51,980	73,310	21,330	70,120
	Mg, mg/l	23	2,010	4,940	2,930	3,750
Q <sub>3</sub>	T, °C	22	55,10	62,10	7,00	57,00
	Cl <sub>2</sub> , mg/l	22	0,20	0,30	0,10	0,20
	pH	6	8,27	8,38	0,11	8,34
	Fe, mg/l	22	0,020	0,250	0,230	0,110
	Zn, mg/l	22	0,030	0,250	0,220	0,135
	Cu, mg/l	22	0,000	0,170	0,170	0,030
	Mn, mg/l	22	0,000	0,010	0,010	0,000
	Ca, mg/l	16	58,140	81,910	23,770	69,220
	Mg, mg/l	16	3,990	5,930	1,940	4,830

Iz Tablice 5.9. vidljivo je da su dobivene vrijednosti medijana za sve kemijske pokazatelja ispod propisanih graničnih vrijednosti<sup>13</sup>. Međutim, maksimalne koncentracije Fe određene tijekom drugog (0,220 mg/l) i trećeg tromjesečja (0,250 mg/l) su veće od maksimalno dopuštene koncentracije (0,200 mg/l)<sup>13</sup>. Najveći rasponi vrijednosti su dobiveni za koncentracije Fe, Zn, Cu i Mn za koje je u većini slučajeva minimalna vrijednost bila nula, odnosno njihova prisutnost nije dokazana.

Za izračun statističkih značajnosti fizikalno–kemijskih pokazatelja tople vode između drugog (Q<sub>2</sub>) i trećeg tromjesečja (Q<sub>3</sub>) koristio se Mann–Whitneyev U test, te su izračunate statističke značajnosti P:

- P = 0,000 za Fe, Cu
- P = 0,001 za pH
- P = 0,004 za Mn
- P = 0,007 za Zn
- P = 0,031 za slobodni rezidualni klor
- P = 0,800 za temperaturu.

Dobivene vrijednosti P ukazuju na statističku značajnost koncentracija Fe, Cu, pH, Mn, Zn i slobodnog rezidualnog klora u usporedbi njihovih rezultata dobivenih u drugom i trećem tromjesečju, dok za temperaturu nije utvrđena statistička značajnost.

#### 5.3.2.2. Korelacije između fizikalno–kemijskih pokazatelja i *Legionella spp.* po tromjesečjima

U Tablici 5.10. prikazana je učestalost uzoraka pozitivnih na *Legionella spp.* unutar Objekta 2 po tromjesečjima za sve godine istraživanja zajedno.

Tablica 5.10. Prikaz negativnih i pozitivnih nalaza na *Legionella spp.* u uzorcima tople vode uzetim unutar Objekta 2 tijekom tromjesečja za razdoblje od 2009. do 2012. godine.

Tromjesečja	Ukupan broj uzoraka (N)		<i>Legionella spp.</i>	
			negativan nalaz	pozitivan nalaz
Q <sub>2</sub>	71	broj uzoraka (N)	67	4
		%	94,4	5,6
Q <sub>3</sub>	22	broj uzoraka (N)	7	15
		%	31,8	68,2
ukupno	93	broj uzoraka (N)	74	19
		%	79,6	20,4

Od ukupno 93 analizirana uzorka tople vode u 19 uzoraka (20,4%) je potvrđena *Legionella spp.*. Tijekom drugog tromjesečja dokazana su tri uzorka pozitivna na *Legionella spp.* i to od 12 analiziranih iz svibnja i jedan pozitivni uzorak od šest

analiziranih iz mjeseca lipnja. Od ukupno 18 uzoraka uzetih tijekom kolovoza 11 uzoraka je bilo pozitivno na *Legionella spp.*. Isto tako, tijekom rujna analizirano je šest uzoraka od toga četiri su bila pozitivna na *Legionella spp.*.

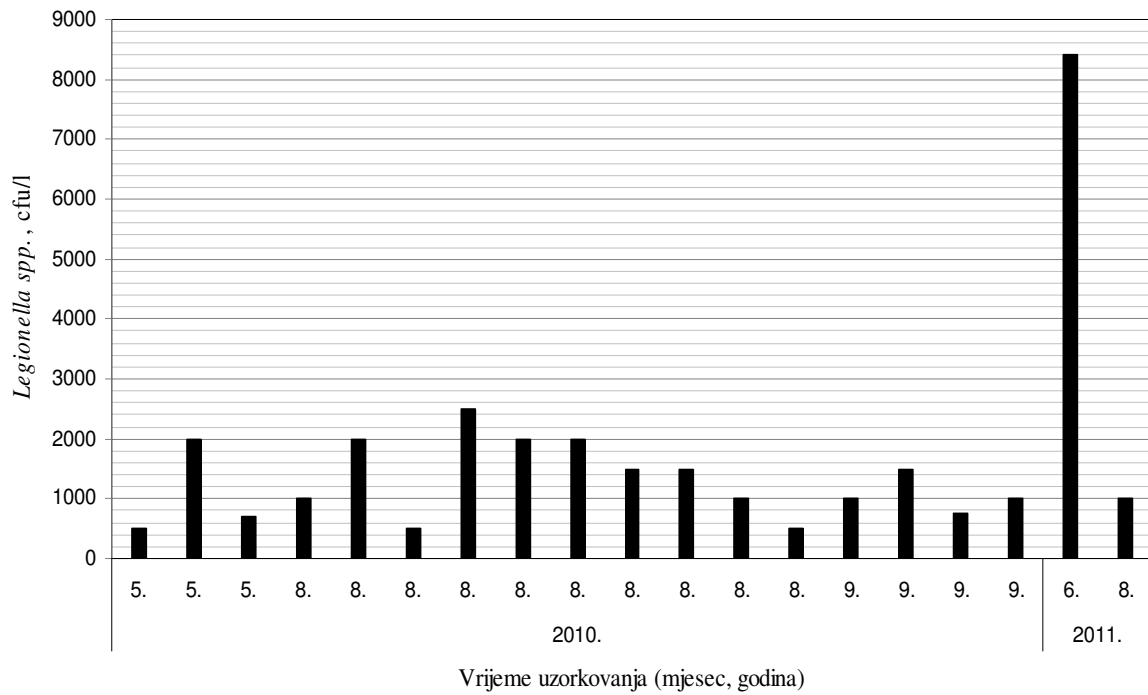
Da bi se statistički odredila učestalost *Legionella spp.* između dvaju tromjesečja koristio se Hi–kvadrat test ( $\chi^2$ ). Izračunate vrijednosti testa  $\chi^2 = 36,665$ ;  $df = 1$  i  $P = 0,000$  ukazuju da postoji značajna statistička razlika između tromjesečja.

Dokazan je znatno veći postotak (68,2%) uzoraka pozitivnih na *Legionella spp.* tijekom trećeg tromjesečja ( $Q_3$ ) i to u mjesecu kolovozu i rujnu, u odnosu na postotak (5,6%) određen u drugom tromjesečju ( $Q_2$ ) u mjesecu svibnju i lipnju. Ovi rezultati ukazuju na snažan sinergijski učinak djelovanja niže temperature i većih koncentracija Fe i Zn na stvaranje biofilma i razmnožavanje *Legionella spp.*, pa inhibitorno djelovanje veće koncentracije Cu na *Legionella spp.* ne dolazi do izražaja.

Tako je najmanja vrijednost medijana za temperaturu izmjerena tijekom trećeg tromjesečja ( $Q_3$ ) i iznosila je 57,00°C s rasponom od 55,10 do 62,10°C (Tablica 5.9.). Tijekom drugog tromjesečja ( $Q_2$ ) određena je veća vrijednost medijana za temperaturu u iznosu od 59,30°C s rasponom od 42,10 do 61,80°C. Tijekom trećeg tromjesečja ( $Q_3$ ) određene su najveće vrijednosti medijana za koncentraciju Fe od 0,110 mg/l s rasponom od 0,020 do 0,250 mg/l, za Zn od 0,135 mg/l s rasponom od 0,030 do 0,250 mg/l i za Cu od 0,030 mg/l s rasponom od 0,000 do 0,170 mg/l (Tablice 5.9. i 5.10.). Dobiveni rezultati ukazuju na vjerojatno sinergijski učinak negativnog djelovanja više temperature i manjih koncentracija Fe, Zn i Cu na stvaranje biofilma i kolonizaciju *Legionella spp.*.

U 19 uzoraka tople vode određena je *Legionella spp.*, te je u svakom uzorku određena i njezina koncentracija (Tablica 5.10. i Slika 5.18.). Koncentracije *Legionella spp.* su određene u rasponu od 500 do 8400 cfu/l. Na Slici 5.18. dat je grafički prikaz promjene koncentracije *Legionella spp.* s vremenom za razdoblje od 2010. do 2011.

godine. Tijekom 2009. i 2012. godine u niti jednom uzorku nije bila dokazana *Legionella spp.*.



Slika 5.18. Promjena koncentracije *Legionella spp.* u pozitivnim uzorcima tople vode iz Objekta 2 u ovisnosti o vremenu uzorkovanja u razdoblju od 2010. do 2011. godine.

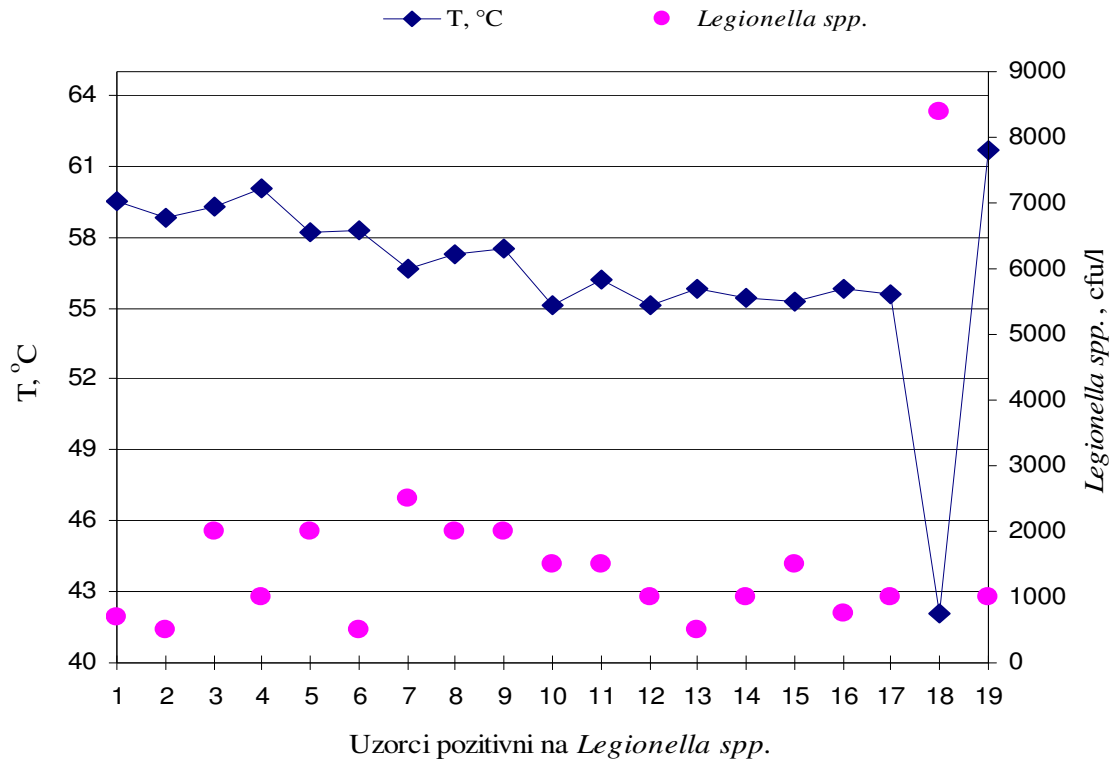
*Legionella spp.* je dokazana tijekom dva mjeseca (svibnja i lipnja) u drugom tromjesečju (Q<sub>2</sub>) i tijekom dva mjeseca (kolovoza i rujna) u trećem tromjesečju (Q<sub>3</sub>) tijekom 2010. i 2011. godine (Slika 5.18.).

Kako je hotel zatvoren od listopada do travnja i nema potrošnje vode, zaostala voda se zadržava zajedno s nastalim različitim muljevima i talozima u pojedinim dijelovima toplovodnog sustava. Takvi uvjeti pogoduju nastanku, rastu i učvršćivanju biofilma, te razmnožavanju *Legionella spp.* unutar njega. Na početku rada objekta, u travnju mjesecu, zbog male potrošnje vode biofilmovi su još uvijek stabilni i ne dolazi do njihovih mehaničkih odljepljivanja sa stjenka konstrukcijskih materijala. Zbog toga u travnju nije ni bilo uzoraka pozitivnih na *Legionella spp.*. Međutim, tijekom ljetnih

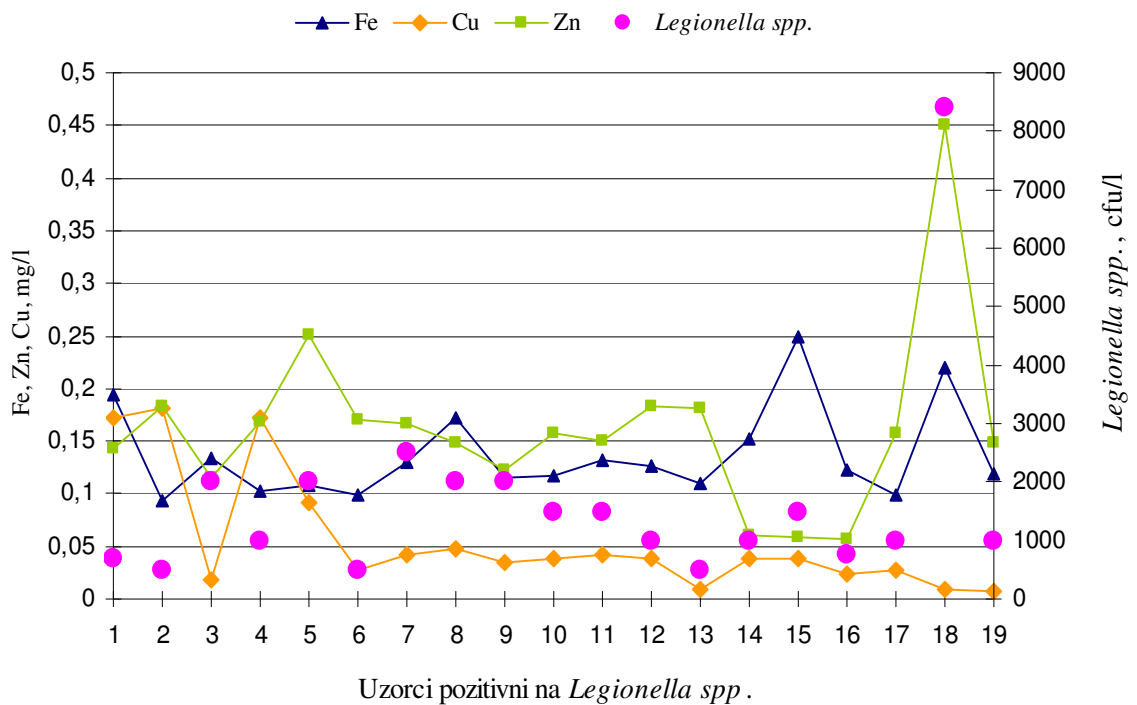
mjeseci uslijed veće potrošnje tj. većeg protoka vode dolazi do lakšeg otkidanja biofilma s unutarnje površine cijevi i s teže dostupnih površina (rubovi cijevi, T – profili vodovodnih cijevi, slijepi završetci vodoopskrbnog sustava poput spremnika, bojlera). Upravo je to razlog da je u kolovozu i rujnu određen veći broj uzoraka pozitivnih na *Legionella spp.* s koncentracijama od 500 do 2400 cfu/l.

Na temelju ovih rezultata istraživanja, a u cilju zaštite od legionarske bolesti, može se preporučiti da se nakon zatvaranja hotela očisti toplovodni sustav i to talozi iz bojlera i različitih spremnika, mrežice na slavinama i rozete na tuševima od organskih i anorganskih naslaga.

S ciljem utvrđivanja zajedničkog utjecaja određivanih pokazatelja na *Legionella spp.*, grafički su prikazane ovisnosti koncentracije *Legionella spp.* o temperaturi, koncentraciji Fe, Zn i Cu za svaki uzorak u kojemu je dokazana *Legionella spp.* (Slika 5.19.).



a)



b)

Slika 5.19. Koncentracija *Legionella spp.* u pozitivnim uzorcima tople vode iz Objekta 2 u ovisnosti o: a) temperaturi, b) koncentraciji Fe, Zn, i Cu.



Iz grafičkih prikaza, Slika 5.19. a) i b), se vidi da je u najvećem broju uzoraka ( $N = 15$ ) koncentracija *Legionella spp.* bila u rasponu od 700 do 2500 cfu/l unutar koje su određene temperature od 55,1 do 61,7°C, te koncentracije Fe od 0,099 do 0,250 mg/l, Zn od 0,057 do 0,251 mg/l i Cu od 0,008 do 0,172 mg/l.

U tri uzorka s koncentracijama manjim od 700 cfu/l temperature su bile od 55,8 do 58,8°C, te koncentracije Fe od 0,093 do 0,109 mg/l, Zn od 0,170 do 0,183 mg/l i Cu od 0,009 do 0,182 mg/l.

U istraživanjima Edagawa i sur.<sup>117</sup> te Mathys i sur.<sup>120</sup> utvrđeno je da koncentracije bakra veće od 0,050 mg/l mogu utjecati na smanjenje opasnosti od *Legionella spp.*. Obradom rezultata s obzirom na koncentracije bakra (veće i manje od 0,050 mg/l) utvrđeno je da su četiri uzorka imala koncentraciju Cu veću od 0,050 mg/l, a koncentracije *Legionella spp.* su bile do 2000 cfu/l. Vidljivo je također, da je u uzorcima pri koncentracijama Cu manjim od 0,050 mg/l bilo prisutno više uzoraka s koncentracijama *Legionella spp.* većim od 2000 cfu/l. Iz Slike 5.19. a) i b) opaža se povezanost povećanih koncentracija *Legionella spp.* s nižom temperaturom, povećanim koncentracijama Fe i Zn. Tako je određena najveća koncentracija *Legionella spp.* od 8400 cfu/l pri najnižoj temperaturi od 42,1°C, te pri najvećoj koncentraciji Zn od 0,450 mg/l i Fe od 0,220 mg/l, te maloj koncentraciji Cu od 0,010 mg/l. Zbog jake sinergije niže temperature i većih koncentracija Fe i Zn na povećane koncentracije *Legionella spp.*, antagonističko djelovanje većih koncentracija bakra na koncentracije *Legionella spp.* teže dolazi do izražaja.

Dakle, ovi rezultati dokazuju da su povećane koncentracije *Legionella spp.* povezane s nižim temperaturama i manjim koncentracijama Cu, te s većim koncentracijama Fe i Zn.

### **5.3.3. Objekt 3**

Objekt 3 je hotel priključen na Vodoopskrbni sustav Makarskog primorja, a koji se pak opskrbljuje s vodozahvata na rijeci Cetini pokraj Zadvarja. Cjevovod za distribuciju tople vode unutar hotela je izrađen od plastičnih (HDPE) cijevi, a razvodna mreža vodoopskrbnog cjevovoda je od pocinčanih cijevi. Hotel je otvoren tijekom cijele godine.

#### **5.3.3.1. Analiza rezultata fizikalno–kemijskih pokazatelja po tromjesečjima**

Provedena je statistička obrada rezultata fizikalno–kemijskih pokazatelja vode iz vodoopskrbnog sustava, po tromjesečjima za sve godine istraživanja zajedno (Tablica 5.11.).

Tablica 5.11. Prikaz minimalne i maksimalne vrijednosti, raspona vrijednosti i vrijednosti medijana za ispitivane fizikalno–kemijske pokazatelje u uzorcima tople vode uzetim unutar Objekta 3 u razdoblju od 2009. do 2012. godine.

Tromjesečja	Pokazatelji	Broj uzoraka (N)	Minimum	Maksimum	Raspon vrijednosti	Medijan
Q <sub>1</sub>	T, °C	24	40,30	56,00	15,70	44,10
	Cl <sub>2</sub> , mg/l	24	0,10	0,20	0,10	0,20
	pH	0	–	–	–	–
	Fe, mg/l	24	0,000	0,237	0,237	0,015
	Zn, mg/l	24	0,000	0,190	0,190	0,146
	Cu, mg/l	24	0,003	0,040	0,037	0,010
	Mn, mg/l	24	0,000	0,037	0,037	0,001
	Ca, mg/l	24	51,980	95,400	43,420	71,550
	Mg, mg/l	24	1,880	4,570	2,690	2,920
Q <sub>2</sub>	T, °C	66	40,10	66,10	26,00	55,10
	Cl <sub>2</sub> , mg/l	66	0,15	0,30	0,15	0,20
	pH	60	7,70	8,39	0,69	8,01
	Fe, mg/l	66	0,000	0,240	0,240	0,025
	Zn, mg/l	66	0,000	0,340	0,340	0,050
	Cu, mg/l	66	0,000	0,140	0,140	0,010
	Mn, mg/l	66	0,000	0,030	0,030	0,000
	Ca, mg/l	6	51,070	60,770	9,700	54,210
	Mg, mg/l	6	3,770	3,850	0,080	3,800
Q <sub>3</sub>	T, °C	16	50,10	52,10	2,00	50,80
	Cl <sub>2</sub> , mg/l	16	0,20	0,30	0,10	0,30
	pH	16	8,09	8,29	0,20	8,27
	Fe, mg/l	16	0,020	0,190	0,170	0,030
	Zn, mg/l	16	0,040	0,260	0,220	0,040
	Cu, mg/l	16	0,000	0,010	0,010	0,000
	Mn, mg/l	16	0,000	0,030	0,030	0,020
	Ca, mg/l	0	–	–	–	–
	Mg, mg/l	0	–	–	–	–
Q <sub>4</sub>	T, °C	12	47,90	55,60	7,70	52,90
	Cl <sub>2</sub> , mg/l	12	0,30	0,30	0,00	0,30
	pH	0	–	–	–	–
	Fe, mg/l	12	0,000	0,080	0,080	0,010
	Zn, mg/l	12	0,100	0,190	0,090	0,130
	Cu, mg/l	12	0,010	0,090	0,080	0,010
	Mn, mg/l	12	0,000	0,000	0,000	0,000
	Ca, mg/l	12	69,870	79,110	9,240	72,270
	Mg, mg/l	12	2,030	2,610	0,580	2,100

Temeljem ovih rezultata vidljive su promjene fizikalno–kemijskih pokazatelja između tromjesečja. Rezultati osnovne statističke analize pokazali su najveće raspone vrijednosti za koncentracije Fe, Zn, Cu i Mn koji upućuje na pojavu povremenih ekstremnih vrijednosti navedenih pokazatelja. Vrijednosti medijana za sve ispitivane pokazatelje su ispod maksimalno dopuštenih koncentracija<sup>13</sup>. Međutim, maksimalne koncentracije za Fe izmjerene tijekom prvog (0,237 mg/l) i drugog (0,240 mg/l) tromjesečja su iznad dopuštene vrijednosti (0,200 mg/l)<sup>13</sup>.

Za uspoređivanje mjerenih pokazatelja po tromjesečjima korišten je Kruskal–Wallisov K test. Kruskal–Wallisovim K testom dobivene su statističke značajnosti P fizikalno–kemijskih pokazatelja između četiri tromjesečja:

- P = 0,000 za temperaturu, slobodni rezidualni klor, pH, Cu i Mn
- P = 0,015 za Fe
- P = 0,069 za Zn.

Izračunate vrijednosti P ukazuju na statističku značajnost svih fizikalno–kemijskih pokazatelja između četiri tromjesečja osim za koncentracije Zn. Zbog toga Zn neće ni biti uzet za daljnje usporedbe između tromjesečja. pH vrijednost je mjerena u uzorcima uzetim tijekom drugog (Q<sub>2</sub>) i trećeg tromjesečja (Q<sub>3</sub>) pa je za određivanje statističke značajnosti testirana samo Mann–Whitneyevim U testom.

Usporedbom rezultata fizikalno–kemijskih pokazatelja dobivenih tijekom prvog (Q<sub>1</sub>) i drugog tromjesečja (Q<sub>2</sub>) izračunate su statističke značajnosti P:

- P = 0,000 za temperaturu
- P = 0,046 za slobodni rezidualni klor
- P = 0,087 za Cu
- P = 0,242 za Fe
- P = 0,480 za Mn.

Dakle, između prvog (Q<sub>1</sub>) i drugog tromjesečja (Q<sub>2</sub>) nisu dokazane statističke značajnosti za Cu, Fe i Mn.

Usporedbom rezultata fizikalno–kemijskih pokazatelja dobivenih tijekom prvog (Q<sub>1</sub>) i trećeg tromjesečja (Q<sub>3</sub>) izračunate su statističke značajnosti P:

- $P = 0,000$  za temperaturu, slobodni rezidualni klor, Cu i Mn
- $P = 0,026$  za Fe.

Analizom dobivenih statističkih značajnosti za mjerene pokazatelje između prvog ( $Q_1$ ) i trećeg tromjesečja vidljive su statističke značajnosti za sve pokazatelje.

Usporedbom rezultata fizikalno–kemijskih pokazatelja dobivenih tijekom prvog ( $Q_1$ ) i četvrtog tromjesečja ( $Q_4$ ) izračunate su statističke značajnosti P:

- $P = 0,000$  za temperaturu, slobodni rezidualni klor
- $P = 0,004$  za Mn
- $P = 0,032$  za Cu
- $P = 0,212$  za Fe.

Dobiveni rezultati statističke značajnosti za fizikalno–kemijske pokazatelje između prvog i četvrtog tromjesečja pokazuju da su dokazane statističke značajnosti za sve pokazatelje osim za koncentracije Fe.

Usporedbom rezultata fizikalno–kemijskih pokazatelja dobivenih tijekom drugog ( $Q_2$ ) i trećeg tromjesečja ( $Q_3$ ) izračunate su statističke značajnosti P:

- $P = 0,000$  za temperaturu, slobodni rezidualni klor, pH i Mn
- $P = 0,001$  za Cu
- $P = 0,161$  za Fe.

Vidljivo je da između uspoređivanih tromjesečja nije dokazana statistička značajnost za koncentracije Fe.

Usporedbom rezultata fizikalno–kemijskih pokazatelja dobivenih tijekom drugog ( $Q_2$ ) i četvrtog tromjesečja ( $Q_4$ ) izračunate su statističke značajnosti P:

- $P = 0,000$  za slobodni rezidualni klor
- $P = 0,004$  za Mn
- $P = 0,013$  za temperaturu
- $P = 0,017$  za Cu
- $P = 0,040$  za Fe.

Dokazana je statistička značajnost za sve pokazatelje uspoređivane između drugog i četvrtog tromjesečja.

Usporedbom rezultata fizikalno–kemijskih pokazatelja dobivenih tijekom trećeg (Q<sub>3</sub>) i četvrtog tromjesečja (Q<sub>4</sub>) izračunate su statističke značajnosti P:

- P = 0,000 za Fe, Cu i Mn
- P = 0,012 za temperaturu
- P = 0,066 za slobodni rezidualni klor.

Provedenom analizom rezultata između trećeg i četvrtog tromjesečja uočavaju se statističke značajnosti za Fe, Cu, Mn i za temperaturu, dok za slobodni rezidualni klor nije dokazana statistička značajnost između uspoređivanih tromjesečja.

5.3.3.2. Korelacije između fizikalno–kemijskih pokazatelja i *Legionella spp.* po tromjesečjima

U Tablici 5.12. prikazana je učestalost uzoraka pozitivnih na *Legionella spp.* unutar Objekta 3 po tromjesečjima za sve godine istraživanja zajedno.

Tablica 5.12. Prikaz negativnih i pozitivnih nalaza na *Legionella spp.* u uzorcima tople vode uzetim unutar Objekta 3 tijekom tromjesečja za razdoblje od 2009. do 2012. godine.

Tromjesečja	Ukupan broj uzoraka (N)		<i>Legionella spp.</i>	
			negativan nalaz	pozitivan nalaz
Q <sub>1</sub>	24	broj uzoraka (N)	16	8
		%	66,7	33,3
Q <sub>2</sub>	66	broj uzoraka (N)	45	21
		%	68,2	31,8
Q <sub>3</sub>	16	broj uzoraka (N)	12	4
		%	75,0	25,0
Q <sub>4</sub>	12	broj uzoraka (N)	12	0
		%	100,0	0,0
ukupno	118	broj uzoraka (N)	85	33
		%	72,0	28,0

Od ukupno 118 analiziranih uzoraka tople vode iz vodoopskrbnog sustava u 33 uzorka (28,0%) je dokazana *Legionella spp.* (Tablica 5.12.). Tijekom prvog tromjesečja dokazano je osam uzoraka pozitivnih na *Legionella spp.* i to od 12 analiziranih u ožujku. Od ukupno 66 analiziranih uzoraka uzetih tijekom drugog tromjesečja 21 uzorak je bio pozitivan na *Legionella spp.* i to devet uzoraka u travnju, osam u svibnju i četiri uzorka u lipnju. Isto tako, tijekom trećeg tromjesečja u rujnu je analizirano 16 uzoraka od toga su četiri bila pozitivna na *Legionella spp.*.

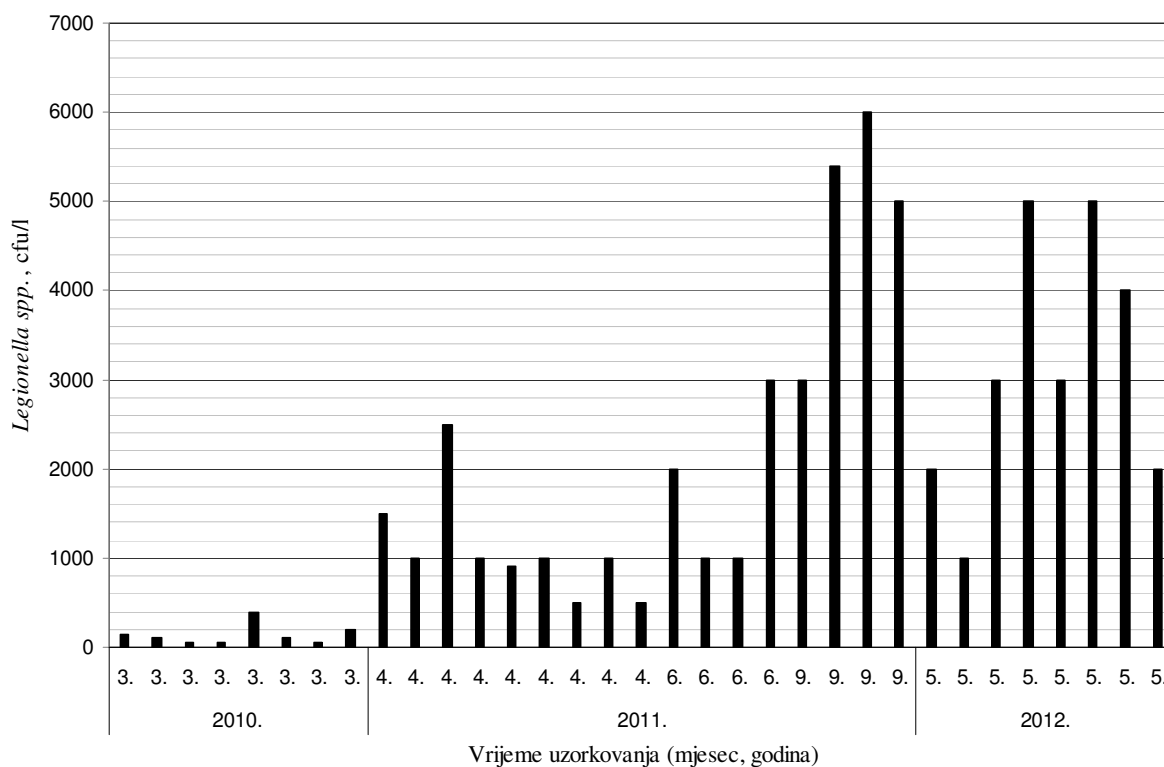
Korišten je Hi–kvadrat test ( $\chi^2$ ) da bi se statistički odredila učestalost *Legionella spp.* unutar Objekta 3 po tromjesečjima za sve godine istraživanja. Izračunate vrijednosti testa  $\chi^2 = 5,558$ ;  $df = 3$  i  $P = 0,135$  ukazuju da postoji statistička razlika između tromjesečja.

Tijekom prvog tromjesečja (Q<sub>1</sub>) i to u mjesecu ožujku u osam uzoraka (33,3%) je identificirana *Legionella spp.*, dok u četvrtom tromjesečju (Q<sub>4</sub>) nije dokazana u niti jednom uzorku. Dobiveni rezultati se mogu povezati s nižom temperaturom, s većim koncentracijama Fe i Zn kao i većom minimalnom koncentracijom Cu koje su određene u uzorcima vode u prvom tromjesečju (Q<sub>1</sub>) u odnosu na uzorke iz četvrtog tromjesečja (Q<sub>4</sub>).

Naime, najveća vrijednost medijana za temperaturu izmjerena je tijekom četvrtog tromjesečja i iznosila je 52,90°C s rasponom od 47,90 do 55,60°C i u tom tromjesečju nije dokazana *Legionella spp.* u niti jednom uzorku. Za primijetiti je kako se vrijednosti medijana za temperaturu povećavaju od prvog do drugog tromjesečja (za Q<sub>1</sub> T = 41,10°C; za Q<sub>2</sub> T = 55,10°C) tako se smanjuju postotci uzoraka pozitivnih na *Legionella spp.*. Tako je dokazano 33,3% pozitivnih uzoraka na *Legionella spp.* tijekom prvog tromjesečja (Q<sub>1</sub>), a tijekom drugog (Q<sub>2</sub>) 31,8% uzoraka. U četvrtom tromjesečju, nije izolirana *Legionella spp.* u niti jednom uzorku, a određene su najmanje vrijednosti medijana za koncentraciju Fe od 0,010 mg/l s rasponom od 0,000 do 0,080 mg/l i za Zn od 0,130 mg/l s rasponom od 0,100 do 0,190 mg/l. Isto tako, u ovome tromjesečju određena je i najveća minimalna koncentracija Cu koja je iznosila 0,010 mg/l s rasponom od 0,010 do 0,090 mg/l (Tablice 5.11. i 5.12.). Ovi rezultati ukazuju na snažan sinergijski učinak djelovanja niže temperature i većih koncentracija Fe i Zn na stvaranje biofilma i kolonizaciju *Legionella spp.*, pa inhibitorno djelovanje veće koncentracije Cu na *Legionella spp.* ne dolazi do izražaja.

U 33 uzorka tople vode izolirana je *Legionella spp.* (Tablica 5.12. i Slika 5.20.), te je u svakom uzorku određena i njezina koncentracija. Koncentracije *Legionella spp.* su određene u rasponu od 50 do 6000 cfu/l. Rezultati promjene koncentracije *Legionella spp.* s vremenom grafički su prikazani na Slici 5.20. za 2010., 2011. i 2012. godinu, dok tijekom 2009. godine nije bilo uzoraka u kojima je dokazana *Legionella spp.*.





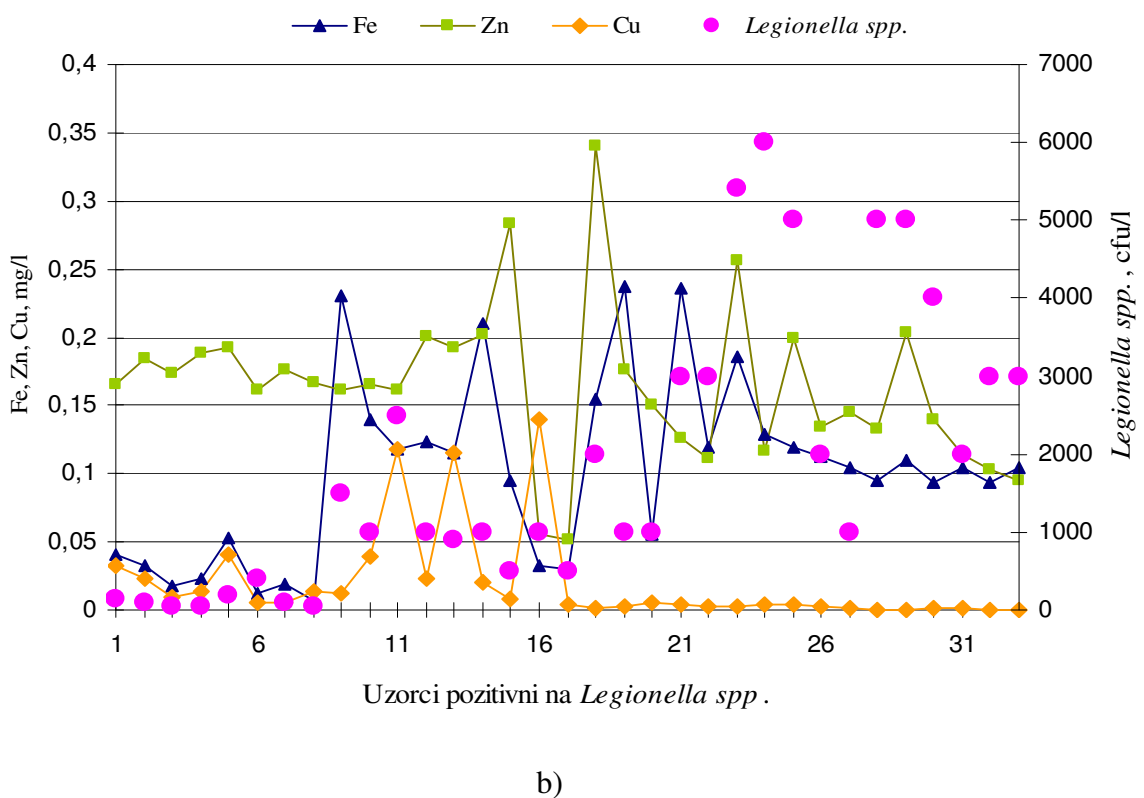
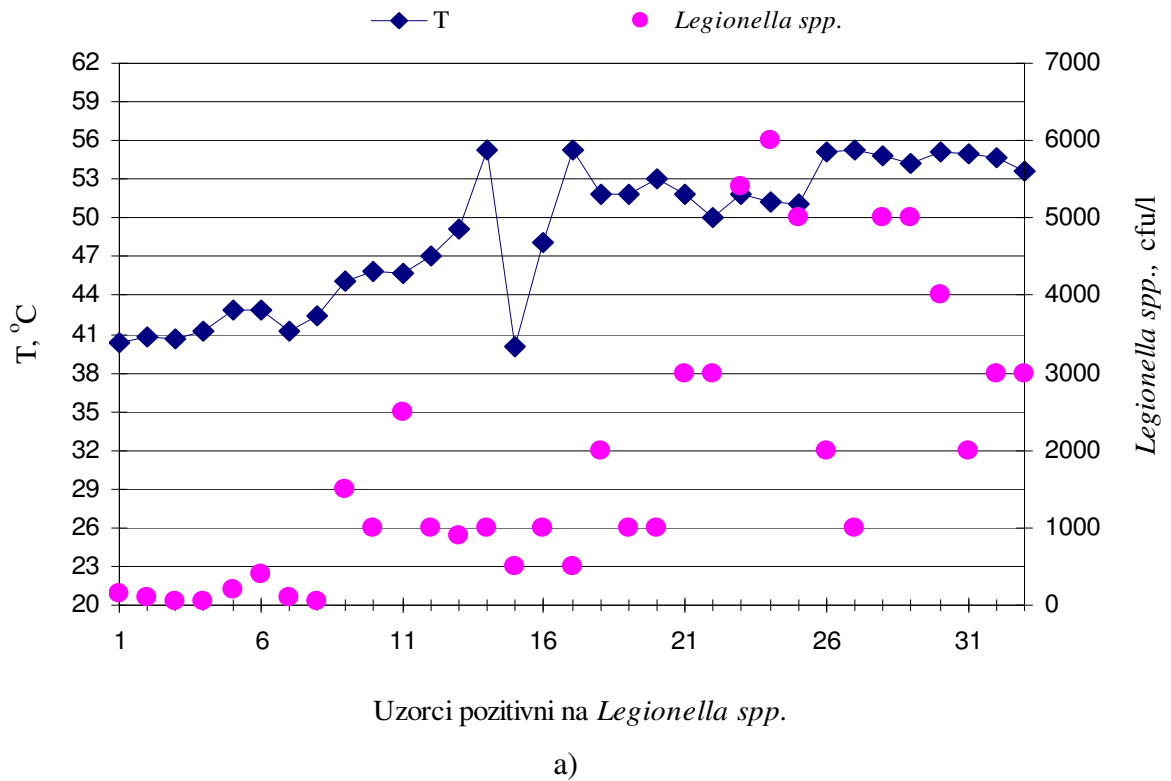
Slika 5.20. Promjena koncentracije *Legionella spp.* u pozitivnim uzorcima tople vode iz Objekta 3 u ovisnosti o vremenu uzorkovanja u razdoblju od 2010. do 2012. godine.

*Legionella spp.* je dokazana tijekom prvog tromjesečja (Q<sub>1</sub>) u 2010. godini, te drugog tromjesečja (Q<sub>2</sub>) u 2011. i 2012. godini kao i u trećem tromjesečju (Q<sub>3</sub>) tijekom 2011. godine. Uzorci pozitivni na *Legionella spp.* nisu dokazani u četvrtom tromjesečju (Q<sub>4</sub>) za sve četiri godine istraživanja (Slika 5.20.).

Hotel je otvoren neprekidno tijekom cijele godine, ali u zimskim mjesecima zbog smanjenog broja gostiju i nepopunjenih smještajnih kapaciteta potrošnja vode je smanjena. Smanjeni protok vode pogoduje stvaranju i srašćivanju biofilma unutar vodoopskrbnog sustava. Stupanj do kojega se biofilm pričvršćuje unutar toplovodnog sustava i do koje veličine će rasti ovisi o uvjetima u sustavu. Vidljivo je iz rezultata istraživanja da su uzorci pozitivni na *Legionella spp.* bili prisutni tijekom tri tromjesečja i da su im pripadajuće koncentracije tijekom prvog i većinom tijekom drugog tromjesečja bile ispod 1000 cfu/l. Za razliku od ljetnih mjeseci u kojima je zbog veće

potrošnje, tj. većeg protoka vode došlo do mehaničkog otkidanja biofilma što je pak rezultiralo većim koncentracijama *Legionella spp.* u analiziranim uzorcima u rujnu. Tako je iz Slike 5.20. vidljivo da su od četiri uzorka pozitivna na *Legionella spp.* uzeta tijekom rujna, u tri uzorka koncentracije *Legionella spp.* bile u rasponu od 5000 cfu/l do 6000 cfu/l.

U cilju uvida zajedničkih utjecaja ispitivanih fizikalno–kemijskih pokazatelja na *Legionella spp.*, grafički su prikazane ovisnosti koncentracije *Legionella spp.* o temperaturi, koncentraciji Fe, Zn i Cu za svaki uzorak u kojemu je dokazana *Legionella spp.* (Slike 5.21.).



Slika 5.21. Koncentracija *Legionella spp.* u pozitivnim uzorcima tople vode iz Objekta 3 u ovisnosti o: a) temperaturi, b) koncentraciji Fe, Zn, i Cu.

Iz grafičkih prikaza, Slika 5.21. a) i b), se vidi da je u najvećem broju uzoraka (N = 12) koncentracija *Legionella spp.* bila u rasponu od 900 do 2000 cfu/l unutar kojega su određene temperature od 45,1 do 55,3°C, te koncentracije Fe od 0,033 do 0,237 mg/l, Zn od 0,055 do 0,341 mg/l i Cu od 0,001 do 0,139 mg/l.

U deset uzoraka s koncentracijama *Legionella spp.* manjim od 900 cfu/l temperature su bile od 40,1 do 55,3°C, te koncentracije Fe od 0,007 do 0,095 mg/l, Zn od 0,052 do 0,256 mg/l i Cu od 0,004 do 0,118 mg/l.

Jedanaest uzoraka je sadržavalo *Legionella spp.* u koncentraciji većoj od 2000 cfu/l, a temperature su bile od 45,7 do 55,1°C, te koncentracije Fe od 0,093 do 0,236 mg/l, Zn od 0,095 do 0,283 mg/l i Cu od 0,000 do 0,041 mg/l.

U novijim istraživanjima<sup>26,120</sup> je utvrđeno da koncentracije Cu > 0,050 mg/l imaju inhibirajući učinak na koncentracije *Legionella spp.*. Obradom rezultata s obzirom na koncentracije Cu (veće i manje od 0,050 mg/l) utvrđeno je da su tri uzorka imala koncentraciju Cu veću od 0,050 mg/l, a koncentracije *Legionella spp.* su većinom bile do 1000 cfu/l. Pri koncentracijama Cu manjim od 0,010 mg/l bio je prisutan veći broj uzoraka (N = 16) s izoliranom *Legionella spp.* u rasponu od 1000 do 6000 cfu/l. Slika 5.21. b) pokazuje i četiri uzorka kod kojih nije bilo bakrovih iona, a koncentracije *Legionella spp.* su bile iznad 3000 cfu/l. Analizom rezultata vidljivo je da su povećane koncentracije *Legionella spp.* povezane s nižim temperaturama i manjim koncentracijama Cu, te s većim koncentracijama Fe i Zn. Zbog jake sinergije niže temperature i većih koncentracija Fe i Zn na koncentracije *Legionella spp.* antagonističko djelovanje većih koncentracija bakra na koncentracije *Legionella spp.* teže dolazi do izražaja.

#### **5.3.4. Objekt 4**

Objekt 4 je hotel priključen na Vodoopskrbni sustav Makarskog primorja, a koji se pak opskrbljuje s vodozahvata na rijeci Cetini pokraj Zadvarja. Sustav cijevi vanjske vodovodne mreže je izrađen od pocinčanih cijevi, a razvodna mreža za toplu vodu je izrađena od plastičnih (PVC) cijevi. Otvoren je tijekom godine od mjeseca travnja do listopada.

##### **5.3.4.1. Analiza rezultata fizikalno–kemijskih pokazatelja po tromjesečjima**

U svrhu utvrđivanja promjena kakvoće vode po tromjesečjima unutar Objekta 4 provedena je statistička analiza rezultata fizikalno–kemijskih pokazatelja vode za četverogodišnje razdoblje istraživanja, a rezultati su prikazani u Tablici 5.13.. Najveći broj uzoraka uzet je tijekom drugog ( $Q_2$ ) i trećeg tromjesečja ( $Q_3$ ) kada je objekt i otvoren, a manji broj uzoraka je uzet pred otvaranje u prvom ( $Q_1$ ) i nakon zatvaranja objekta u četvrtom tromjesečju ( $Q_4$ ).

Tablica 5.13. Prikaz minimalne i maksimalne vrijednosti, raspona vrijednosti i vrijednosti medijana za ispitivane fizikalno–kemijske pokazatelje u uzorcima tople vode uzetim unutar Objekta 4 u razdoblju od 2009. do 2012. godine.

Tromjesečja	Pokazatelji	Broj uzoraka (N)	Minimum	Maksimum	Raspon vrijednosti	Medijan
Q <sub>1</sub>	T, °C	6	44,00	46,00	2,00	44,90
	Cl <sub>2</sub> , mg/l	6	0,30	0,30	0,00	0,30
	pH	0	–	–	–	–
	Fe, mg/l	6	0,079	0,187	0,108	0,105
	Zn, mg/l	6	0,054	0,426	0,372	0,114
	Cu, mg/l	6	0,005	0,010	0,005	0,007
	Mn, mg/l	6	0,007	0,010	0,003	0,010
	Ca, mg/l	6	46,780	57,190	10,410	54,770
	Mg, mg/l	6	3,490	4,470	0,980	3,840
Q <sub>2</sub>	T, °C	65	30,10	63,50	33,40	50,30
	Cl <sub>2</sub> , mg/l	65	0,10	0,30	0,20	0,25
	pH	54	7,53	8,32	0,79	8,00
	Fe, mg/l	65	0,000	0,350	0,350	0,029
	Zn, mg/l	65	0,010	0,400	0,390	0,080
	Cu, mg/l	65	0,000	0,440	0,440	0,010
	Mn, mg/l	65	0,000	0,030	0,030	0,008
	Ca, mg/l	11	60,910	137,610	76,700	78,880
	Mg, mg/l	11	2,650	4,410	1,760	3,790
Q <sub>3</sub>	T, °C	13	46,80	58,70	11,90	50,80
	Cl <sub>2</sub> , mg/l	13	0,20	0,30	0,10	0,30
	pH	13	7,55	8,43	0,88	7,69
	Fe, mg/l	13	0,020	0,150	0,130	0,120
	Zn, mg/l	13	0,070	0,290	0,220	0,190
	Cu, mg/l	13	0,000	0,020	0,020	0,010
	Mn, mg/l	13	0,010	0,010	0,000	0,010
	Ca, mg/l	0	–	–	–	–
	Mg, mg/l	0	–	–	–	–
Q <sub>4</sub>	T, °C	4	38,00	62,00	24,00	56,50
	Cl <sub>2</sub> , mg/l	4	0,00	0,00	0,00	0,00
	pH	0	–	–	–	–
	Fe, mg/l	4	0,120	0,390	0,270	0,160
	Zn, mg/l	4	0,070	0,140	0,070	0,110
	Cu, mg/l	4	0,020	0,100	0,080	0,065
	Mn, mg/l	4	0,000	0,010	0,010	0,010
	Ca, mg/l	4	114,230	136,220	21,990	124,250
	Mg, mg/l	4	2,480	2,990	0,510	2,760

Na temelju dobivenih rezultata uočavaju se promjene mjerenih pokazatelja između tromjesečja. Koncentracije Fe, Zn, Cu i Mn pokazale su najveće raspone vrijednosti, što ukazuje na povremena značajnija odstupanja navedenih pokazatelja (Tablica 5.13.). Vrijednosti medijana svih fizikalno–kemijskih pokazatelja su ispod maksimalno dopuštenih koncentracija<sup>13</sup>. Međutim, maksimalne koncentracije Fe izmjerene tijekom drugog (0,350 mg/l) i tijekom četvrtog tromjesečja (0,390 mg/l) su bile iznad dopuštene vrijednosti od 0,200 mg/l<sup>13</sup>. Iz Tablice 5.13. je vidljivo i neprisustvo slobodnog rezidualnog klora u četiri uzorka uzeta tijekom četvrtog tromjesečja (Q<sub>4</sub>).

U cilju utvrđivanja statističke značajnosti između pojedinih pokazatelja po tromjesečjima primijenjeni su Kruskal–Wallisov K test i Mann–Whitneyev U test.

Usporedbom vrijednosti fizikalno–kemijskih pokazatelja tople vode između tromjesečja, Kruskal–Wallisovim K testom određene su statističke značajnosti P:

- P = 0,000 za slobodni rezidualni klor
- P = 0,001 za Zn
- P = 0,003 za Fe
- P = 0,015 za temperaturu
- P = 0,083 za Cu
- P = 0,114 za Mn.

Iz dobivenih vrijednosti P se vidi da su između tromjesečja dokazane statističke značajnosti za slobodni rezidualni klor, Zn, Fe i temperaturu, a nisu dokazane za Cu i Mn. Zbog toga, u daljnjim usporedbama Cu i Mn neće se ni uspoređivati. pH vrijednost je mjerena u uzorcima uzetim tijekom drugog (Q<sub>2</sub>) i trećeg tromjesečja (Q<sub>3</sub>) pa je pH uspoređivana samo Mann–Whitneyevim U testom.

Usporedbom rezultata fizikalno–kemijskih pokazatelja dobivenih tijekom prvog (Q<sub>1</sub>) i drugog tromjesečja (Q<sub>2</sub>) izračunate su statističke značajnosti P:

- P = 0,003 za temperaturu
- P = 0,017 za slobodni rezidualni klor
- P = 0,032 za Fe
- P = 0,131 za Zn.

Usporedbom fizikalno–kemijskih pokazatelja određenih tijekom prvog ( $Q_1$ ) i drugog ( $Q_2$ ) tromjesečja za koncentracije Zn nisu dokazane statističke značajnosti.

Usporedbom rezultata fizikalno–kemijskih pokazatelja dobivenih tijekom prvog ( $Q_1$ ) i trećeg tromjesečja ( $Q_3$ ) izračunate su statističke značajnosti P:

- $P = 0,001$  za temperaturu
- $P = 0,050$  za slobodni rezidualni klor
- $P = 0,482$  za Zn
- $P = 0,538$  za Fe.

Provedenom statističkom analizom rezultata između prvog i trećeg tromjesečja utvrđena je statistička značajnost za temperaturu, dok za slobodni rezidualni klor, Zn i Fe nisu dokazane statističke značajnosti.

Usporedbom rezultata fizikalno–kemijskih pokazatelja dobivenih tijekom prvog ( $Q_1$ ) i četvrtog tromjesečja ( $Q_4$ ) izračunate su statističke značajnosti P:

- $P = 0,003$  za slobodni rezidualni klor
- $P = 0,087$  za Fe
- $P = 0,201$  za temperaturu
- $P = 0,670$  za Zn.

Vidljivo je da između uspoređivanih tromjesečja nisu dokazane statističke značajnosti za koncentracije Fe, temperaturu i koncentracije Zn.

Usporedbom rezultata fizikalno–kemijskih pokazatelja dobivenih tijekom drugog ( $Q_2$ ) i trećeg tromjesečja ( $Q_3$ ) izračunate su statističke značajnosti P:

- $P = 0,000$  za Zn
- $P = 0,019$  za Fe
- $P = 0,418$  za slobodni rezidualni klor
- $P = 0,825$  za temperaturu.



Usporedbom fizikalno–kemijskih pokazatelja određenih tijekom drugog ( $Q_2$ ) i trećeg tromjesečja ( $Q_3$ ) utvrđena je statistička značajnost za koncentracije Zn i Fe, dok za slobodni rezidualni klor i temperaturu nisu dokazane statističke značajnosti.

Usporedbom rezultata fizikalno–kemijskih pokazatelja dobivenih tijekom drugog ( $Q_2$ ) i četvrtog tromjesečja ( $Q_4$ ) izračunate su statističke značajnosti P:

- $P = 0,000$  za slobodni rezidualni klor
- $P = 0,015$  za Fe
- $P = 0,456$  za temperaturu
- $P = 0,479$  za Zn.

Dakle, između drugog i trećeg tromjesečja nisu dokazane statističke značajnosti za temperaturu i koncentracije Zn.

Usporedbom rezultata fizikalno–kemijskih pokazatelja dobivenih tijekom trećeg ( $Q_3$ ) i četvrtog tromjesečja ( $Q_4$ ) izračunata je statistička značajnost P:

- $P = 0,002$  za slobodni rezidualni klor
- $P = 0,061$  za Zn
- $P = 0,135$  za Fe
- $P = 0,308$  za temperaturu.

Dobivene vrijednosti P pokazuju statističku značajnost samo za slobodni rezidualni klor, a za sve ostale mjerene pokazatelje nisu dokazane statističke značajnosti.

### 5.3.4.2. Korelacije između fizikalno–kemijskih pokazatelja i *Legionella spp.* po tromjesečjima

U Tablici 5.14. prikazana je učestalost uzoraka pozitivnih na *Legionella spp.* unutar Objekta 4 po tromjesečjima za sve godine istraživanja zajedno.

Tablica 5.14. Prikaz negativnih i pozitivnih nalaza na *Legionella spp.* u uzorcima tople vode uzetim unutar Objekta 4 tijekom tromjesečja za razdoblje od 2009. do 2012. godine.

Tromjesečja	Ukupan broj uzoraka (N)		<i>Legionella spp.</i>	
			negativan nalaz	pozitivan nalaz
Q <sub>1</sub>	6	broj uzoraka (N)	1	5
		%	16,7	83,3
Q <sub>2</sub>	65	broj uzoraka (N)	50	15
		%	76,9	23,1
Q <sub>3</sub>	13	broj uzoraka (N)	9	4
		%	69,2	30,8
Q <sub>4</sub>	4	broj uzoraka (N)	2	2
		%	50,0	50,0
ukupno	88	broj uzoraka (N)	62	26
		%	70,5	29,5

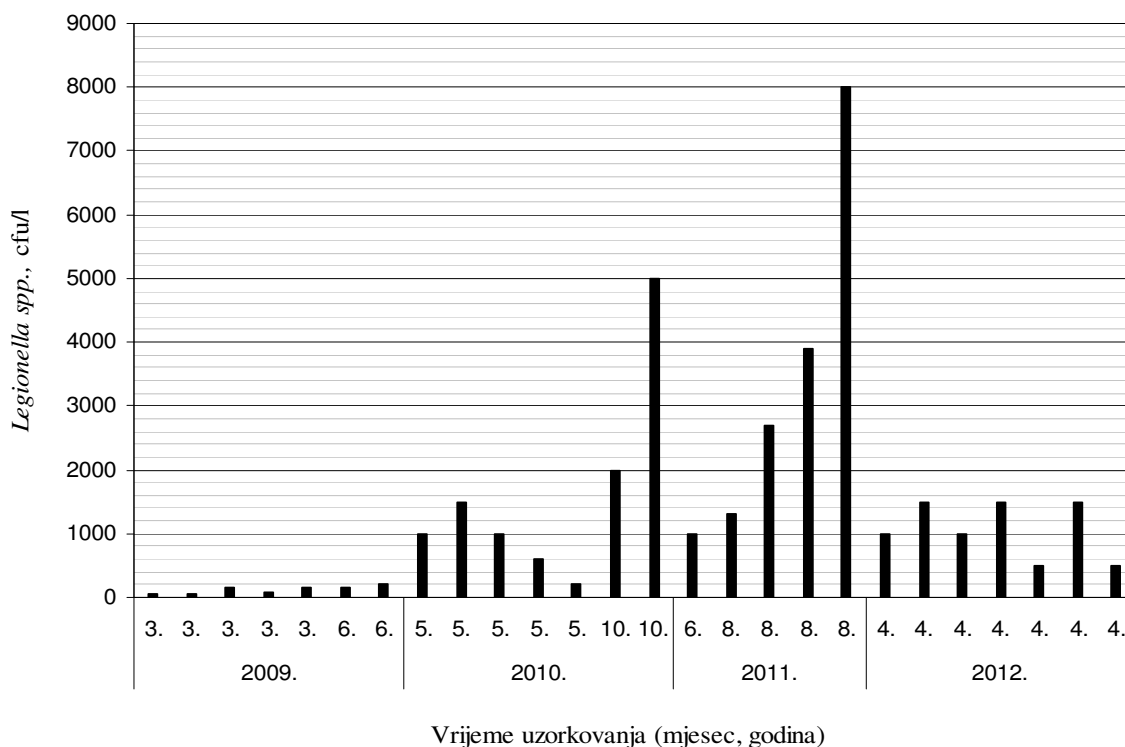
Prema rezultatima statističke analize od ukupno 88 uzoraka tople vode iz vodoopskrbnog sustava Objekta 4 u 26 uzoraka (29,5%) je dokazana *Legionella spp.*. Tijekom prvog tromjesečja dokazano je pet uzoraka pozitivnih na *Legionella spp.* i to od šest uzetih u ožujku. Od ukupno 65 analiziranih uzoraka u drugom tromjesečju 15 je bilo pozitivno na *Legionella spp.* i to sedam u travnju, pet u svibnju i tri uzorka uzeta u lipnju. Nadalje, u trećem tromjesečju u kolovozu od šest uzoraka četiri su bila pozitivna na *Legionella spp.*. Neposredno nakon zatvaranja objekta, u listopadu, analizirana su četiri uzorka te je u dva dokazana *Legionella spp.*.

Da bi se statistički odredila učestalost *Legionella spp.* po tromjesečjima za sve godine istraživanja koristio se Hi–kvadrat test ( $\chi^2$ ). Izračunate vrijednosti testa  $\chi^2 = 10,459$ ;  $df = 3$  i  $P = 0,015$  ukazuju da postoji značajna statistička razlika između tromjesečja.

Tijekom prvog tromjesečja ( $Q_1$ ) i to u ožujku u pet uzoraka (83,3%) je dokazana *Legionella spp.*, dok je u drugom tromjesečju ( $Q_2$ ) dokazano petnaest uzoraka (23,1%) pozitivnih na *Legionella spp.*. Dobiveni rezultati se mogu povezati s višom temperaturom, manjim koncentracijama Fe i Zn, te najvećom koncentracijom Cu koje su određene u uzorcima vode u drugom tromjesečju ( $Q_1$ ) u odnosu na uzorke iz prvog tromjesečja.

Tako je najmanja vrijednost medijana za temperaturu izmjerena tijekom prvog tromjesečja ( $Q_1$ ) i iznosila je 44,90°C s rasponom od 44,00 do 46,00°C (Tablica 5.13.). Upravo je u tom tromjesečju identificirana *Legionella spp.* u najvećem postotku uzoraka. Vidljivo je iz Tablica 5.13. i 5.14. kako su se vrijednosti medijana za temperature povećavale od prvog do drugog tromjesečja (za  $Q_1$   $T = 44,90^\circ\text{C}$  i za  $Q_2$   $T = 50,30^\circ\text{C}$ ) tako su se smanjivali postotci uzoraka pozitivnih na *Legionella spp.*. U drugom tromjesečju je dokazan najmanji postotak uzoraka pozitivnih na *Legionella spp.*, a pri tom se određene najmanje vrijednosti medijana za koncentraciju Fe od 0,029 mg/l s rasponom od 0,000 do 0,350 mg/l i za Zn od 0,080 mg/l s rasponom od 0,010 do 0,400 mg/l. Isto tako, u ovome tromjesečju određena je i najveća koncentracija Cu koja je iznosila 0,440 mg/l s rasponom od 0,000 do 0,440 mg/l (Tablice 5.13. i 5.14.). Rezultati ukazuju na snažan sinergijski učinak djelovanja niže temperature i većih koncentracija Fe i Zn na stvaranje biofilma i kolonizaciju *Legionella spp.*, pa inhibitorno djelovanje veće koncentracije Cu na *Legionella spp.* ne dolazi do izražaja.

U 26 uzoraka pozitivnih na *Legionella spp.* u svakom uzorku je određena i njezina koncentracija (Tablica 5.14. i Slika 5.22.). Koncentracije *Legionella spp.* su određene u rasponu od 50 do 8000 cfu/l, a na Slici 5.22. dat je grafički prikaz promjene koncentracije *Legionella spp.* za razdoblje od 2009. do 2012. godine.

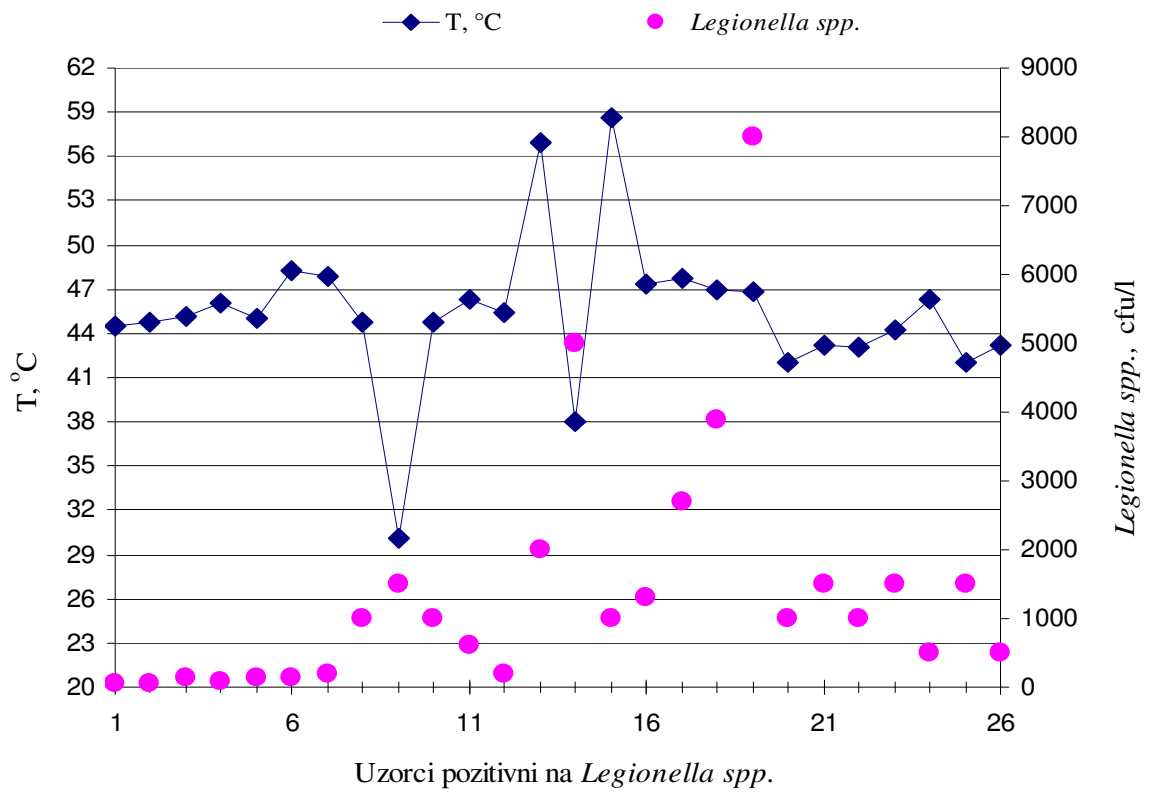


Slika 5.22. Promjena koncentracije *Legionella spp.* u pozitivnim uzorcima tople vode iz Objekta 4 u ovisnosti o vremenu uzorkovanja u razdoblju od 2009. do 2012. godine.

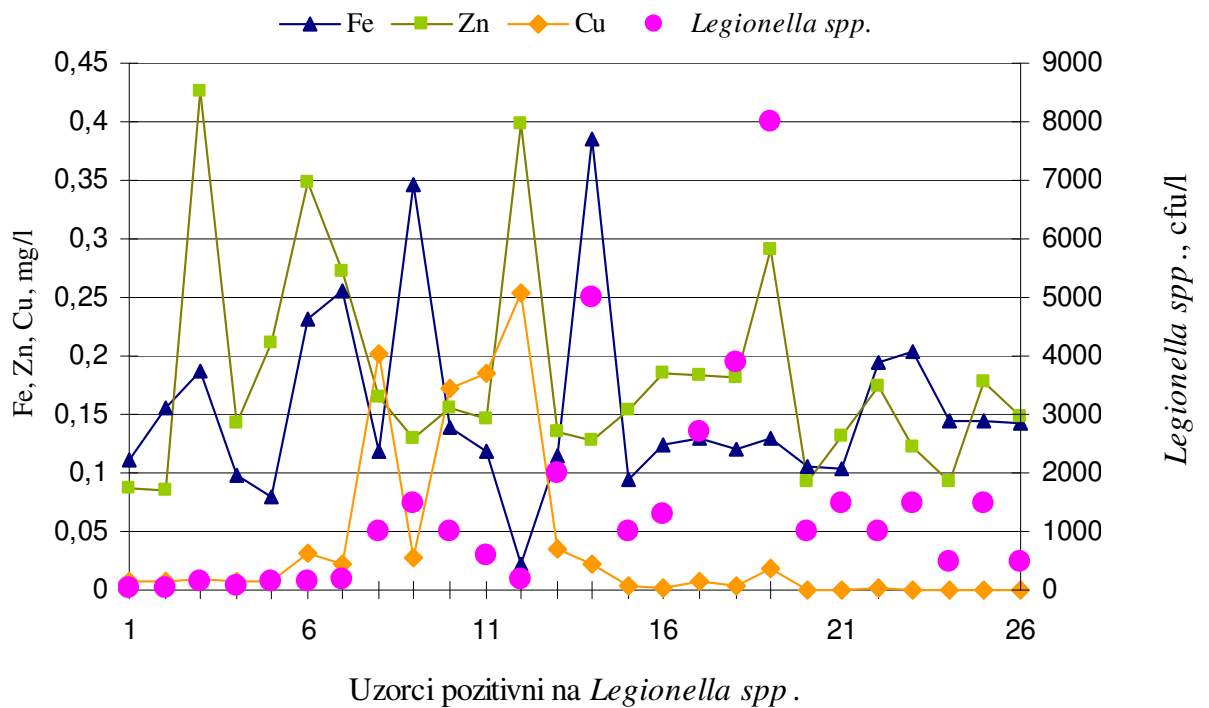
*Legionella spp.* je dokazana tijekom prvog tromjesečja ( $Q_1$ ) u 2009. godini, u drugom tromjesečju ( $Q_2$ ) tijekom 2009., 2010., 2011. i 2012. godine, tijekom trećeg tromjesečja ( $Q_3$ ) u 2011. godini i tijekom četvrtog tromjesečja ( $Q_4$ ) u 2010. godini (Slika 5.22.).

S obzirom da je Objekt 4 zatvoren od listopada do travnja, u tom razdoblju zbog zadržavanja vode s nastalim različitim muljevima i talozima u toplovodnom sustavu stvoreni su uvjeti za stvaranje biofilma<sup>130</sup>. Rezultati istraživanja pokazuju da tijekom ljetnih mjeseci zbog veće potrošnje, tj. većeg protoka vode vjerojatno dolazi do mehaničkog otkidanja biofilma što je rezultiralo visokom koncentracijom *Legionella spp.* od 8000 cfu/l u uzorcima uzetim tijekom kolovoza i mjeseca listopada u kojemu su određene koncentracije bile veće od 2000 cfu/l.

Da bi se dobio uvid o zajedničkom utjecaju određivanih pokazatelja na *Legionella spp.*, grafički su prikazane ovisnosti koncentracije *Legionella spp.* o temperaturi, koncentraciji Fe, Zn i Cu za svaki uzorak u kojemu je dokazana *Legionella spp.* (Slika 5.23.).



a)



b)

Slika 5.23. Koncentracija *Legionella spp.* u pozitivnim uzorcima tople vode iz Objekta 4 u ovisnosti o: a) temperaturi, b) koncentraciji Fe, Zn, i Cu.

Iz grafičkih prikaza, Slika 5.23. a) i b), se vidi da je u najvećem broju uzoraka ( $N = 11$ ) koncentracija *Legionella spp.* bila u rasponu od 200 do 1500 cfu/l unutar kojega su određene temperature od 42,1 do 58,6°C, te koncentracije Fe od 0,023 do 0,255 mg/l, Zn od 0,092 do 0,398 mg/l i Cu od 0,000 do 0,254 mg/l.

U šest uzoraka koji su imali koncentraciju *Legionella spp.* manju od 200 cfu/l temperature su bile od 44,5 do 48,2°C, te koncentracije Fe od 0,079 do 0,232 mg/l, Zn od 0,086 do 0,426 mg/l i Cu od 0,007 do 0,035 mg/l. U jednom uzorku je određena koncentracija Zn od 0,426 mg/l što može biti uzrok eksperimentalne greške.

Devet uzoraka je sadržavalo *Legionella spp.* veću od 1500 cfu/l, a temperature su bile od 30,1 do 47,7°C, te koncentracije Fe od 0,103 do 0,385 mg/l, Zn od 0,122 do 0,291 mg/l i Cu od 0,000 do 0,031 mg/l.

Kusnetsov i sur.<sup>82</sup> te Edagawa i sur.<sup>117</sup> u svojim su istraživanjima dokazali da koncentracije  $Cu > 0,050$  mg/l djeluju kao ograničavajući čimbenik na koncentracije *Legionella spp.*. Obradom rezultata s obzirom na koncentracije Cu (veće i manje od 0,050 mg/l) utvrđeno je da su četiri uzorka imala koncentraciju Cu veću od 0,050 mg/l, a koncentracije *Legionella spp.* su bile do 1000 cfu/l. Iz rezultata je vidljivo i šest uzoraka kod kojih nije bilo bakrovih iona, a koncentracije *Legionella spp.* većinom su bile iznad 1000 cfu/l. Analizom uzoraka pozitivnih na *Legionella spp.* dokazane su povećane koncentracije *Legionella spp.* pri nižim temperaturama i manjim koncentracijama Cu, te pri većim koncentracijama Fe i Zn. Zbog jake sinergije niže temperature i većih koncentracija Fe i Zn na koncentracije *Legionella spp.* antagonističko djelovanje većih koncentracija Cu na koncentracije *Legionella spp.* teže dolazi do izražaja.

## **6. ZAKLJUČCI**



Na temelju provedenih analiza i dobivenih rezultata istraživanja fizikalno-kemijskih pokazatelja kakvoće vode (temperatura, pH i koncentracija slobodnog rezidualnog klora, Fe, Zn, Cu i Mn), te prisutnosti i koncentracije *Legionella spp.* u uzorcima tople vode iz vodoopskrbnih sustava četiriju objekata na području Splitsko-dalmatinske županije, u razdoblju od 2009. do 2012. godine, mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. Vrijednosti medijana za sve koncentracije Fe, Zn, Cu i Mn su ispod maksimalno dopuštenih koncentracija koje propisuje Pravilnik o zdravstvenoj ispravnosti vode za piće<sup>13</sup>. Maksimalne koncentracije Fe određene u svim uzorcima vode iz sva četiri objekta, te maksimalne koncentracije Mn određene u vodi iz Objekta 1 i Objekta 2 su iznad dopuštenih vrijednosti.
2. Od ukupno 425 analiziranih uzoraka vode na *Legionella spp.* je bilo pozitivno 116 (27,2%). Prisutnost *Legionella spp.* u vodama je posljedica stvaranja biofilmova unutar vodoopskrbnih sustava i predstavlja opasnost za zdravlje ljudi. Na preživljavanje i kolonizaciju *Legionella spp.* u vodi utječu različiti čimbenici koje mogu međusobno djelovati sinergijski ili antagonistički.
3. Određen je približno isti broj uzoraka pozitivnih na *Legionella spp.* uzetih iz toplovodnog sustavu s centralnim i neovisnim grijanjem vode, što dokazuje da na prisutnost *Legionella spp.* ne utječe tehnološka izvedba pripreme tople vode.
4. Spearmanovim koeficijentom korelacije utvrđena je negativna povezanost prisutnosti *Legionella spp.* s temperaturom. Iznad vrijednosti medijana temperature od 53,10°C *Legionella spp.* je određena samo u dva uzorka. Stoga se u cilju smanjenja mikrobne populacije preporučuje zagrijavati vodu iznad 50°C.

5. *Legionella spp.* identificirana je u uzorcima vode sa i bez slobodnog rezidualnog klora, što dokazuje da su bakterije *Legionella spp.* prisutne unutar biofilma otporne na dezinfekcijsko djelovanje klora. Stoga bi dezinfekciju vode trebalo provoditi sa sredstvima jačeg biocidnog učinka, odnosno sredstvima koja sadrže u kombinaciji više aktivnih tvari tako da pokrivaju što je moguće širi spektar biocidnog djelovanja.
6. Vrijednosti pH su u svim uzorcima vode bile u blago lužnatom području i kretale su se od 7,25 do 8,43. Zbog vrlo malog i približno istog raspona pH vrijednosti u uzorcima s negativnim i pozitivnim nalazom *Legionella spp.* ne može se zaključiti o utjecaju pH na pojavu *Legionella spp.*.
7. Povećane koncentracije metalnih iona u vodi su najčešće posljedica korozije metalnih dijelova vodoopskrbnog sustava. Uslijed tog procesa dio otopljenih metalnih iona odlazi u vodu i kao esencijalni elementi potiču stvaranje biofilмова i mikrobnog rast. Također, oksidni slojevi, kao produkti korozije na metalnim površinama vodoopskrbnog sustava, dodatno stimuliraju rast i razvoj biofilмова, koji potiču biokoroziju, čvrsto se vežu na hrapavoj oksidnoj površini metalnih stjenki. Time se povećava njihova otpornost na hidrauličke udare i mehanički stres. Ovim istraživanjem dokazan je biostimulirajući učinak metalnih iona Fe i Zn, odnosno pozitivna korelacija koncentracije Fe i Zn s prisutnosti *Legionella spp.*.
8. Kao sastavni dijelovi toplovodnih sustava često se koriste bakrene cijevi ili cijevi od legure bakra i cinka, te ventili, slavine i druga armatura. Njihova korozija uzrokuje povećanje koncentracije Cu u vodi. Povećane koncentracije Cu negativno utječu na stvaranje biofilma i kolonizaciju *Legionella spp.*.
9. Nisu dokazane zamjetne razlike koncentracija Fe, Zn i Cu u vodi iz pocinčanih i plastičnih cijevi unutarnje mreže vodoopskrbnog sustava. To se može objasniti utjecajem korozije metalnih konstrukcija vanjske razvodne mreže i različitih metalnih priključaka i armature, koji su zastupljeni u unutarnjoj mreži oba toplovodna sustava, odnosno sustava s pocinčanim i

plastičnim cijevima. Dakle, na povećanje koncentracije metalnih iona u vodi značajnu ulogu imaju različiti metalni dijelovi cijelog vodoopskrbnog sustava kojima se voda transportira od izvorišta do potrošača, pa vrsta konstrukcijskog materijala cijevi za distribuciju tople vode nije od presudnog utjecaja na koncentraciju metalnih iona u vodi.

10. Budući da nisu dokazane zamjetne razlike u koncentracijama metalnih iona u vodi iz toplovodnih sustava s metalnim i plastičnim cijevima, nisu nađene ni izraženije razlike u učestalosti *Legionella spp.* Iz pocinčanih cijevi identificirano je 30,2% uzoraka vode pozitivnih na *Legionella spp.*, a iz plastičnih cijevi 26,1%. Iz plastičnih cijevi, gumenih brtvi i drugih spojnica s vremenom dolazi do ispuštanja organskih sastojaka u vodu, koji uz metalne ione dodatno potiču razvoj biofilma i *Legionella spp.*.
11. Iako nisu dokazane veće razlike u učestalosti *Legionella spp.* u uzorcima iz različitih vrsta cijevi, određena je veća koncentracija *Legionella spp.* u pozitivnim uzorcima vode iz pocinčanih cijevi predstavljajući time veću opasnost u odnosu na plastične cijevi. To se može pripisati glatkim unutarnjim površinama plastičnih cijevi na kojima se biofilmovi slabije pričvršćuju i mehanički otkidaju uz povećane protoke vode.
12. *Legionella spp.* je izolirana u 26,03% uzoraka tople vode iz stalno otvorenih objekata (dom za starije i nemoće osobe i jedan hotel) i u 28,64% uzoraka iz sezonski otvorenih objekata (dva hotela). Blagi porast učestalosti *Legionella spp.* u sezonski otvorenim objektima ukazuje da na pojavu *Legionella spp.* nije od presudnog značaja vrijeme rada objekta.
13. Koncentracije *Legionella spp.* pokazuju tendenciju rasta s vremenom i to u obje istraživane skupine uzoraka s obzirom na vrijeme rada objekata. Međutim, porast koncentracije u uzorcima pozitivnim na *Legionella spp.* izraženiji je u objektima koji rade sezonski. U sezonskim objektima tijekom zimskih mjeseci, zbog zadržavanja vode s nastalim različitim muljevima i talozima u toplovodnom sustavu, posebno u spremnicima tople vode koja se

ne izmjenjuje sa svježom vodom, ostvaruju se optimalni uvjeti za nastanak i rast biofilmova.

14. Porast maksimalne koncentracije *Legionella spp.* s godinama upućuje na napredovanje svih procesa u vodoopskrbnom sustavu, koji potiču rast biofilmova. Sveukupnost mehaničkih, fizikalno–kemijskih i bioloških promjena s vremenom može se nazvati *starenje* vodoopskrbnog sustava.
15. Praćenjem učestalosti *Legionella spp.* po sezonama dokazana je veća učestalost uzoraka pozitivnih na *Legionella spp.* tijekom jesenskog i zimskog razdoblja i to s koncentracijama manjim od 2000 cfu/l. Tijekom proljetnog i ljetnog razdoblja određen je veći broj uzoraka pozitivnih na *Legionella spp.* s koncentracijama većim od 3000 cfu/l.
16. U uzorcima pozitivnim na *Legionella spp.* dokazane su veće koncentracije *Legionella spp.* pri nižim temperaturama i većim koncentracijama Fe i Zn. Nije zapažen negativan utjecaj većih koncentracija Cu na učestalost uzoraka pozitivnih na *Legionella spp.* što je vjerojatno rezultat antagonističkog djelovanja niže temperature i većih koncentracijama Fe i Zn. Međutim, u pozitivnim uzorcima s većom koncentracijom Cu određena je manja koncentracija *Legionella spp.*, što upućuje na inhibitorsko djelovanje Cu na kolonizaciju *Legionella spp.*.
17. Provedeno istraživanje omogućava procjenu i određivanje opasnih čimbenika koji utječu na kolonizaciju *Legionella spp.*, a time i na pojavu Legionarske bolesti. Veće koncentracije *Legionella spp.* su dokazane u vodama iz vodoopskrbnih sustava s pocinčanim cijevima, te iz objekata koji rade sezonski. Dokazan je sinergijski učinak nižih temperatura i većih koncentracija Fe i Zn, kao i inhibitorski utjecaj većih koncentracija Cu na kolonizaciju i brojnost *Legionella spp.*. Također je dokazano da se sa *starenjem* sustava povećava opasnost održavanja fizikalno–kemijske i biološke kakvoće vode. Biofilmovi, a time i *Legionella spp.* se vrlo teško

mogu kontrolirati i ukloniti iz vodoopskrbnih sustava. Stoga je nužno provoditi preventivne mjere, kao što su:

- odabrati tehnološka rješenja vodoopskrbnog sustava kojima se smanjuju područja zadržavanja i slabog protoka vode, kao što su različiti T – profili i slijepi završetci, te na taj način minimizirati zone opasnosti na kojima se koloniziraju bakterije
- pri odabiru materijala za vodoopskrbnu mrežu prednost treba dati plastičnim cijevima čije su stjenke glatke i time smanjuju mogućnost zadržavanja i razvoja biofilmova
- redovito tehničko–tehnološko održavanje i servisiranje vodoopskrbnih sustava
- analizirati moguće opasnosti i kritične točke temeljem znanstvenih spoznaja i razraditi metodologiju kontrole i upravljanja
- temeljem rezultata u ovom istraživanju može se preporučiti za objekte koji su otvoreni sezonski da se nakon završetka sezone, odnosno zatvaranja objekta, uklone nastali muljevi i talozi iz bojlera i različitih spremnika, očiste mrežice na slavinama i rozete na tuševima od različitih organskih i anorganskih naslaga, a prije otvaranja treba cijeli sustav temeljito isprati vrućom vodom temperature od 70 do 90°C. Mjesta opasnosti treba posebno isprati mlazom vruće vode, a tijekom rada održavati temperaturu tople vode iznad 50°C. Također, za sigurnost stalno otvorenih objekata treba povremeno provoditi ispiranje vodoopskrbnog sustava, te redovito održavati temperaturu tople vode tijekom rada kao što je navedeno za sezonski otvorene objekte. Na taj način bi se znatno smanjilo stvaranje biofilmova i onemogućila kolonizacija *Legionella spp.* unutar njega.

## **7. LITERATURA**

1. S. Pavić, M. Smoljanović, I. Mijaković, K. Ćurin, M. Prodan-Bedalov, *Načela utvrđivanja mikrobiološke kakvoće zraka*, Arh. Hig. Rada. Toksikol. **52** (2001) 355-365.
2. The World Health Organization (WHO), *Guidelines for drinking - water quality, 2<sup>nd</sup> edition, Addendum: Microbiological agents in drinking water*, WHO Press, Geneva, 2007.
3. The World Health Organization (WHO), *Domestic Water Quantity Service*, WHO Press, Geneva, 2003.
4. D. Đuras, V. Samardžija, *Utjecaj vodovodnih sustava na kakvoću pitke vode*, Hrvatska vodoprivreda **80** (1999) 53-58.
5. M. Radonić, *Vodovod i kanalizacija u zgradama*, F. Letić (ur.), Croatiaknjiga, Zagreb (2003) 17-19.
6. J. Margeta, *Kanalizacija naselja: odvodnja i zbrinjavanje otpadnih i oborinskih voda*, V. Denić-Jukić (ur.), G. F. Split, G. F. Osijek, IGH, Split (1998) 5-36.
7. Pravilnik o uvjetima za utvrđivanje zona sanitarne zaštite izvorišta, N. N. br. 66/2011.
8. <http://www.naefrontiers.org/File.aspx?id=21849>, (20.2.2012.).
9. Ž. Vuković, *Osnove hidrotehnike*, Ž. Vuković (ur.), Akvamarine, Zagreb (1996) 2-14.
10. Pravilnik o uvjetima u pogledu zdravstvene ispravnosti predmeta opće uporabe koji se mogu stavljati u promet, N. N. br. 46/1994.
11. [http://www.grad.hr/nastava/hidrotehnika/gf/hidrotehnicke\\_gradevine](http://www.grad.hr/nastava/hidrotehnika/gf/hidrotehnicke_gradevine) (5.9.2011.).
12. [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/dwq/en/piped3](http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/en/piped3)., (5.11.2012.).
13. Pravilnik o zdravstvenoj ispravnosti vode za piće, N. N. br. 47/2008.
14. E. Y. Lin, E. J. Stout, L. V. Yu, D. R. Vidic, *Disinfection of Water Distribution Systems for Legionella*, Seminars in Respiratory Infections **13** (2) (1998) 147-159.
15. N. Štambuk-Giljanović, *Vode Dalmacije*, N. Štambuk-Giljanović (ur.), NZZJZ, Split (2006) 17-36.
16. [http://www.aquafutura.net/pdf/Aquafutura\\_ozon\\_teh\\_za\\_bazene\\_2009](http://www.aquafutura.net/pdf/Aquafutura_ozon_teh_za_bazene_2009), (10.9.2011.).
17. <http://www.p2pays.org/ref/15/14291>., (17.2.2011.).

18. A. K. Camper, K. Brastrup, A. Sandvig, J. Clement, C. Spencer, A. J. Capuzzi, *The effects of distribution system materials on bacterial regrowth*, AWWA **95** (7) (2003) 107-121.
19. V. Speight, *Water-Distribution Systems: The Next Frontier*, The Bridge **38** (3) (2008) 31-37.
20. <http://www.parpool-spa.com/Page/Help/Pool/Bio-Films.html>, (11.10.2011.).
21. J. E. Stout, V. L. Yu, M. G. Best, *Ecology of Legionella pneumophila within water distribution systems*, AEM **49** (1) (1985) 221-228.
22. R. M. Wadowsky, R. Wolford, A. M. McNamara, R. B. Yee, *Effect of Temperature, pH, and Oxygen Level on the Multiplication of Naturally Occurring Legionella pneumophila in Potable Water*, AEM **49** (5) (1985) 1197-1205.
23. [http://www.em.com.hr/moja\\_kupaonica/instalacije/mk\\_2009\\_1\\_088#ad-image-0](http://www.em.com.hr/moja_kupaonica/instalacije/mk_2009_1_088#ad-image-0), (10.9.2011.).
24. J. Tobin, J. Swann, C. Bartel, *Isolation of L. pneumophila from water system: methods and preliminary results*, BMJ **282** (1981) 515-517.
25. The United States Environmental Protection Agency (EPA), *Water Distribution system Analysis: Field Studies, Modelling and Management, A Reference Guide for Utilities*, EPA, Ohio (2008) 31.
26. A. Bargellini, I. Marchesi, E. Righi, A. Ferrari, S. Cecetti, P. Borella, S. Rovesti, *Parameters predictive of Legionella contamination in hot water systems: Association with trace elements and heterotrophic plate counts*, Water Res. **45** (6) (2011) 2315-2321.
27. H. A. Videla, *Microbially induced corrosion: an updated overview*, Int. Biodegr. **48** (2001) 176-201.
28. M. Farhat, M. C. Trouilhé, C. Foret, W. Hater, M. Moletta-Denat, E. Robine, J. Frère, *Chemical disinfection of Legionella in hot water systems biofilm: a pilot- scale I study*, Water Sci. Technol. **64** (3) (2011) 708-714.
29. S. H. Hutner, *Inorganic nutrition*, Annu. Rev. Microbiol. **26** (1972) 313-346.
30. <http://www.gradimo.hr/clanak/zastita-cijevi/25075>, (18. 11.2011.).
31. L. Pomenić, *Zaštita materijala*, L. Pomenić (ur.), Tehnički fakultet, Rijeka (2011) 88.
32. <http://www.scribd.com/doc/37297679/Korozija-i-Metode-Zastite-Od-Korozije>, (5.6.2011.).



33. [www.ffri.uniri.hr/~zvonimir/Materijali/05Metali.](http://www.ffri.uniri.hr/~zvonimir/Materijali/05Metali.), (12.4.2013.).
34. F. N. Kemer, *Nalkov priručnik za vodu*, F. N. Kemer (ur.), Građevinska knjiga, Beograd (2005) 457-476, 497-510.
35. <http://www.gradimo.hr/Kako-izbjeci-koroziju-i-kamenac/hr> (5.11.2012.).
36. <http://sl.wikipedia.org/wiki/Korozija>, (15.11.2011.).
37. M. M. Lasat, *Phytoextraction of toxic metals-A review of biological mechanisms*, JEQ **31** (2002) 109-120.
38. J. Rogers, A. B. Dowset, P. J. Dennis, J. V. Lee, C. W. Keevil, *Influence of Temperature and Plumbing Material Selection on Biofilm Formation and Growth of Legionella pneumophila in a Model Potable Water System Containing Complex Microbial Flora*, AEM **60** (5) (1994) 1585-1592.
39. J. E. Elliot, A. M. Scheuhammer, *Heavy metal and metallothionein concentrations in seabirds from the Pacific Coast of Canada*, Marine Pollution **34** (10) (1997) 794-801.
40. E. Gonzalez-Reimers, M. Arnay De-La-Rose, J. Velasco-Vazquez, L. Galindo- Martin, F. Santolaria-Fernandez, *Bone Cadmium and Lead in the Ancient Population from El Hierro*, Biological Trace Element Research **105** (2005) 37-51.
41. N. Ercal, G. Hande, A. Nukhet, *Toxic Metals and Oxidative Stress Part I: Mechanisms Involved in Metal Induced Oxidative Damage*, Current Medicinal Chemistry **1** (2001) 529-539.
42. <http://www.gradimo.hr/blobs/199043bc-f583-44ec-8c84-2177fc8ba023.>, (15.1.2012.).
43. J. Emsley, *Nature's Building Blocks*, J. Emsley (ed.), Oxford University Press, London (2004) 125, 222, 480.
44. A. D. Lytle, R. M. Schock, *Copper Research Update*, Workshop on Inorganic Contaminant Issue, Ohio (2007) 1-37.
45. [http://www.aquavital.at/index.asp?pg\\_nr=11&lang=hr](http://www.aquavital.at/index.asp?pg_nr=11&lang=hr), (19.2.2012.).
46. <http://www.uredidom.com/PODRU%C4%8CJA/URADISAMdetalji/tabid/96/ItemID/114/View/Details/Default>, (15.4.2012.).
47. <http://miloc.hr/rectorkovi-savjeti-grijanje/vijest/kamenac-u-sistemima-centralnog-grijanja-i-pripremi-potrosne-tople-vode>, (15.1.2012.).

48. M. W. Reeves, L. Pine, S. H. Hutner, J. R. George, W. K. Harrell, *Metal Requirements of Legionella pneumophila*, J. Clin. Microbiol. **13** (4) (1981) 688- 695.
49. <http://www.biofilm.montana.edu/resources/images/industrial-systems-processes/water-distribution-system.html>, (15.1.2012.).
50. [http://s3.mojalbum.com/17373983\\_17419404\\_18362027/bio-film/18362027.](http://s3.mojalbum.com/17373983_17419404_18362027/bio-film/18362027.), (15.1.2012.).
51. M. Alary, J. R. Joly, *Factors for Contamination of Domestic Hot Water Systems by Legionellae*, AEM **57** (8) (1991) 2360-2367.
52. K. W. Allen, H. Prempeh, M. S. Osman, *Legionella pneumonia from on novel industrial aerosol*, CDPH **2** (4) (1999) 294-296.
53. L. Duraković, Z. Duraković, M. Blažinkov, M. Bošnjak, S. Sikora, F. Delaš, K. Markov, A. Skelin, D. Čvek, *Mikrobne zajednice i biofilmovi*, Hrvatski časopis za prehrambenu tehnologiju, biotehnologiju i nutricionizam **4** (3-4) (2009) 92-97.
54. <http://www.biofilm.montana.edu/biofilm-basics.html>, (15. 9. 2011.).
55. J. D. Millar, G. K. Morris, B. G. Shelton, *Legionnaires`disease: seeking effective prevention*, Ashrae J. **39** (1997) 22-29.
56. I. Marchesi, P. Marchegiano, A. Bargellini, S. Cencetti, G. Frezza, M. Miselli, P. Borella, *Effectiveness of different methods to control legionella in the water supply: ten-year experience in an Italian university hospital*, Journal of Hospital Infection **77** (2011) 47-51.
57. J. T. Walker, J. Rogers, C. W. Keevil, *An investigation of the efficacy of a bromine-containing biocide on an aquatic consortium of planktonic and biofilm microorganisms including Legionella pneumophila*, Biofouling **8** (1993) 47-54.
58. P. J. Moel, J. Q. Verberk, J. C. van Dijk, *Drinking Water Principles and Practices*, World Scientific Publishing Co. Pte., Singapore (2006) 29.
59. V. A. Mouchtouri, G. Goutziana, J. Kremastinou, C. Hadjichristodoulou, *Legionella species colonization in cooling towers: Risk factors and assessment of control measures*, AJIC **38** (2010) 50-55.
60. J. Rogers, A. B. Dowset, P. J. Dennis, J. V. Lee, C. W. Keevil, *Influence of Temperature and Plumbing Material Selection on Biofilm Formation and Growth of Legionella pneumophila in a Model Potable Water System Containing Complex Microbial Flora*, AEM **60** (6) (1994) 1842-1851.

61. P. Borella, M. T. Montagna, V. Romano-Spica, S. Slike, G. Strancanelli, M. Triassi, *Legionella infection risk from domestic hot water*, Emerg. Infect. Dis. **10** (3) (2004) 457-464.
62. J. Wimpenny, W. Manz, U. Szewzyk, *Heterogeneity in biofilms*, FEMS Microbiol. Rev. **24** (2000) 661-671.
63. J. E. Stout, J. D. Rihs, V. L. Yu, *Legionella, Manual of Clinical Microbiology, 8<sup>th</sup> edition*, P. R. Murray, E. J. Baron, J. H. Jorgensen, M. A. Pfaller, R. H. Tenover (eds.), ASM Press, Washington (2003) 809-823.
64. R. R. Muder, V. L. Yun, *Infection due to Legionella species other than L. pneumophila*, Clin. Infect. Dis. **35** (2002) 990-998.
65. C. M. Manuel, O. C. Nunes, L. F. Melo, *Dynamics of drinking water biofilm in flow/non-flow conditions*, Water Res. **41** (2007) 551-562.
66. L. K. Bagh, H. J. Albrechtsen, E. Arvin, K. Ovesen, *Distribution of bacteria in a domestic hot water system in a Danish apartment building*, Water Res. **38** (2004) 225-235.
67. M. V. Storey, N. J. Ashbolt, T. A. Stenstrom, *Biofilms, thermophilic amoebae and Legionella pneumophila – a quantitative risk assessment for distributed water*, Wat. Sci. Technol. **50** (2004) 77-82.
68. A. C. Ta, J. E. Stout, V. L. Yu, M. M. Wagener, *Comparison of culture methods for monitoring Legionella species in hospital potable water systems and recommendations for standardization of such methods*, JCM **33** (1995) 2118-2123.
69. S. W. Huang, B. M. Hsu, S. F. Wu, C. W. Fan, F. C. Shih, Y. C. Lin, D. D. Ji, *Water quality parameters associated with prevalence of Legionella in hot spring facility water bodies*, Water Res. **44** (2010) 4805-4811.
70. M. M. Moritz, H. C. Flemming, J. Wingender, *Integration of Pseudomonas aeruginosa and Legionella pneumophila in drinking water biofilms grown on domestic plumbing materials*, Int. J. Hyg. Environ. Health **213** (2010) 190-197.
71. H. C. Flemming, *Biofilm Highlights*, H. C. Flemming, J. Wingender, U. Szewzyk (eds.), Springer – Verlag Berlin (2011) 189-214.
72. <http://www.hcjz.hr/clanak.php?id=13410&rnd.>, (4.2.2011.).
73. <http://www.google.com/search?q=Image+Legionella+pneumophila>, (14.12.2010.).
74. J. Palmer, Y. L. Tsai, C. Paszko-Kolva, C. Mayer, L. R. Sangermano, *Detection of Legionella species in sewage and ocean water by polymerase chain reaction, direct fluorescent-antibody, and plate culture methods*, AEM **59** (1993) 3618-3622.

75. R. J. Lieberman, L. C. Shadix, B. S. Newport, S. E. Buescher, R. S. Safferman, R. Stetler, D. Lye, D. Fout, D. R. Dahling, *Source water microbial quality of some vulnerable public ground water supplies*, In Proceedings Water Quality Technology Conference, San Francisco (1994) 1425-1436.
76. W. Habich, H. E. Müller, *Occurrence and parameters of frequency of legionella in warm Water systems of hospitals and hotels in Lower Saxony*, Zentralbl. Bakteriolog. Mikrobiol. Hyg. B. **186** (1) (1988) 79-88.
77. M. H. Nguyen, J. E. Stout, V. L. Yu, *Legionellosis*, Infect. Dis. Clin. North. Am. **5** (1991) 561-584.
78. G. Goutziana, V. A. M. Karanika, A. Kavagias, N. E. Stathakis, K. Gourgouljanis, J. Kremastinou, C. Hadjichristodoulou, *Legionella species colonization of water distribution systems, pools and air conditioning systems in cruise ships and ferries*, BMC Public Health **8** (2008) 390-397.
79. J. Bartram, Y. Chartier, V. J. Lee, K. Pond, S. Surman – Lee, *Legionella and the Prevention of Legionellosis*, S. Surman – Lee (ed.), WHO Press, Geneva (2007).
80. B. G. Shelton, W. D. Flanders, G. K. Morris, *Legionnaires` disease outbreaks and cooling towers with amplified legionella concentrations*, Curr. Microbiol. **28** (1994) 359-363.
81. F. Tiefenbrunner, A. Arnold, M. P. Dierich, K. Emde, *Occurrence and distribution of Legionella pneumophila in water systems of central European private homes. Legionella: Current status and emerging perspectives*, ASM (1993) 235-238.
82. J. Kusnetsov, E. Iivanainen, N. Elomaa, O. Zacheus, P. J. Martikainen, *Copper and silver ions more effective against legionellae than against mycobacteria in a hospital warm water system*, AEM **35** (17) (2001) 4217-4225.
83. [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/emerging/legionella.](http://www.who.int/water_sanitation_health/emerging/legionella.), (5.5.2011.).
84. D. A. Cunliffe, *Inactivation of Legionella pneumophila by monochloramine*, JAM **68** (1990) 453-459.
85. M. R. Freije, *Legionella Control in Health Care Facilities. A Guide for Minimizing Risk*, HC Information Resources (1996) 64.
86. HRN EN ISO 5667-5:2011 Uzorkovanje vode na odabrane mikrobiološke i fizikalno-kemijske parametre, Hrvatski zavod za norme, Zagreb (2011).
87. The Drinking Water Directive (98/83/EC), European Union (1998).
88. Water Framework Directive (2000/60/EC), European Union (2000).

89. Council Directive on Urban Waste Water Treatment (91/271/EEC), European Union (1991).
90. <http://www.google.hr/search?hl=hr&site=imghp&tbn=isch&>, (5.5.2011.).
91. D. Milinović, *Hrvatski zdravstveni pokazatelji*, Ž. Baklaić (ur.), HZJZ, Zagreb (2008) 134-135.
92. <http://www.google.hr/search?hl=hr&site=imghp&tbn=>, (5.5.2011.).
93. N. Štambuk-Giljanović, *Vode Cetine i njezina porijekla*, N. Štambuk-Giljanović (ur.), NZZZJZ, Split (2002) 218-243, 524, 588.
94. <https://www.google.hr/search?q=akvadukt%20split&psj=1&bav=>, (5.5.2011.).
95. <http://www.vodovodst.hr/Onama/Djelatnost/Vodopskrba/Izvoriizah>, (10.9.2011.).
96. [http://www.google.hr/search?hl=hr&gs\\_rn=12&gs\\_ri=psy-](http://www.google.hr/search?hl=hr&gs_rn=12&gs_ri=psy-), (10.9.2011.).
97. N. Štambuk-Giljanović, T. Dumanić, M. Ledić, M. Poljak, A. Bakavić, *Kakvoća voda u Dalmaciji*, HČJZ (1845-3082) **2** (2006) 1-14.
98. <https://www.google.hr/search?hl=hr&site=imghp&tbn=>, (10.9.2011.).
99. <https://www.google.hr/search?hl=hr&site=imghp&tbn=isch&>, (10.9.2011.).
100. <http://www.google.hr/search?hl=hr&site=imghp&tbn=isch&source=hp&biw=995>, (10.9.2011.).
101. HRN EN ISO 19458:2006 Uzorkovanje za mikrobiološku analizu, Hrvatski zavod za norme, Zagreb (2008).
102. [www.hach.com/pocket-colorimeter-ii-chlorin](http://www.hach.com/pocket-colorimeter-ii-chlorin), (10.7.2012.).
103. HRN EN ISO 10523:2012 Određivanje pH vrijednosti, Hrvatski zavod za norme, Zagreb (2012).
104. [www.metrohmusa.com/Products/Measurement/Conductivity/827-pH-Lab-Meter/index.html](http://www.metrohmusa.com/Products/Measurement/Conductivity/827-pH-Lab-Meter/index.html)., (12.11.2011.).
105. A. D. Eaton, L. S. Clesceri, A. E. Greenberg, E. G. Rice, *Standard Methods for the Examination of Water & Wastewater*, 21<sup>st</sup> edition, APHA, Washington (2005).
106. HRN EN ISO 15586:2008 Određivanje sadržaja teških metala metodom atomske apsorpcijske spektrometrije, Hrvatski zavod za norme, Zagreb (2008).

107. A. D. Eaton, L. S. Clesceri, A. E. Greenberg, *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 19<sup>th</sup> edition*, A. D. Eaton, L. S. Clesceri, A. E. Greenberg (eds.), APHA, Washington (1995) 4-115.
108. D. A. Skoog, D. M. West, F. J. Holler, S.R. Crouch, *Fundamentals of Analytical Chemistry, 8<sup>th</sup> edition*, Thomson, Brooks/Cole, Belmont (2004).
109. J. Bošnjir, J. Čulig, *Metali i polumetali u okolišu*, Zdravstveno veleučilište, Zagreb (2005) 68.
110. <http://analyticalchemistryinstruments.blogspot.com/2012/01/>, (12.11.2011.).
111. K. Lazarić, V. Gašljević, *Validacija analitičkih metoda*, HMD, Zagreb (2003) 1-8.
112. Pravilnik o provođenju analitičkih metoda i tumačenju rezultata, NN broj 2/2005.
113. HRN EN ISO 11731-2:2008 Kakvoća vode -- Detekcija i brojenje *Legionella* - 2. dio: Izravna metoda membranske filtracije za vode s malim brojem bakterija, Hrvatski zavod za Norme, Zagreb (2008).
114. <http://neuron.mefst.hr/docs/graduate%20school/ebm/Predmeti/klinicka%20bio%20stati>, (12.11.2011.).
115. E. Leoni, G. De Luca, P. P. Legnani, R. Sacchetti, S. Stampi, F. Zanetti, *Legionella waterline colonization: detection of Legionella species in domestic, hotel and hospital hot water systems*, JAM **98** (2005) 373-379.
116. B. Zietz, J. Wiese, F. Brengelmann, H. Dunkelberg, *Presence of Legionellaceae in warm water supplies and typing of strains by polymerase chain reaction*, Epidemiology & Infection **126** (2001) 147-152.
117. A. Edagawa, A. Kimura, H. Doi, H. Tanaka, K. Tomioka, K. Sakabe, C. Nakajima, Y. Suzuki, *Detection of colourable and nonculturable Legionella species from hot water systems of public buildings in Japan*, JAM **105** (2008) 2104-2114.
118. S. M. Katz, J. M. Hammel, *The effect of drying, heat, and pH on the survival of Legionella pneumophila*, Ann. Clin. Lab. Sci. **17** (1987) 150-156.
119. J. Tobin, J. Swann and C. Bartell, *Isolation of L. pneumophila from water system*, BMJ **282** (1981) 515-573.
120. W. Mathys, J. Stanke, M. Harmuth, E. Junge-Mathys, *Occurrence of Legionella in hot water systems of single-family residences in suburbs of two German cities with special reference to solar and district heating*, Int. J. Hyg. Environ. Health **211** (2008) 179-185.

121. P. Borella, M. T. Montagna, S. Stampi, G. Stancanelli, V. Romano Spica, M. Triassi, I. Marchesi, A. Bargellini, D. Tatò, C. Napoli, F. Zanetti, E. Leoni, M. Moro, S. Scaltriti, G. R. D'Alcalà, R. Santarpià, S. Boccia, *Legionella contamination in hot water of Italian hotels*, AEM **71** (2005) 5805-5813.
122. V. Mouchtouri, E. Velonakis, C. Hadjichristodoulou, *Thermal disinfection of hotels, hospitals, and athletic venues hot water distribution systems contaminated by Legionella species*, AJIC **35** (2007) 623-627.
123. National Research Council, *Dietary reference intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc*, National academy press, Washington (2001) 224-257, 290-393.
124. N. P. Cianciotto, *Iron acquisition by Legionella pneumophila*, Biometals **20** (2007) 323-331.
125. K. E. Eboigbodin, A. Seth, C. A. Biggs, *A review of biofilms in domestic plumbing*, AWWA **100** (2008) 131-138.
126. A. Kolyshkin, *Case study: Bacterial regrowth in water distribution networks, Proceedings of the 5<sup>th</sup> WSEAS International Conference on Education and Educational Technology*, I. Garcia-Plana (ed.), Spain (2006) 206-209.
127. B. A. Wullings, G. Bakker, D. van der Kooij, *Concentration and diversity of uncultured Legionella pneumophila in two unchlorinated drinking water supplies with different concentrations of natural organic matter*, AEM **77** (2) (2011) 634-641.
128. D. van der Kooij, H. R. Veenendaal, W. J. Scheffer, *Biofilm formation and multiplication of Legionella in a model warm water system with pipes of copper, stainless steel and crosslinked polyethylene*, Water Res. **39** (2005) 2789-2798.
129. J. E. Stout, J. D. Rihs, V. L. Yu, *Legionella. In: Manual of Clinical Microbiology, 5<sup>th</sup> edition*, P. R. Murray, E. J. Baron, J. H. Jorgensen, M. A. Tenover, R. H. Tenover (eds.), ASM Press, Washington (2003) 809-823.
130. B. G. Shelton, W. D. Flanders, G. K. Morris, *Legionnaires` disease outbreaks and cooling towers with amplified Legionella concentrations*, Curr. Microbiol. **28** (1994) 359-363.

## **8. PRILOZI**



## 8.1. Lista simbola

AAS	atomska apsorpcijska spektroskopija
FAAS	plamena atomska apsorpcijska spektroskopija
cfu	broj kolonija mikroorganizama koji porastu na krutoj podlozi
$\gamma$	masena koncentracija metala u vodi, mg/l
GD	granica detekcije
MDK	maksimalna dopuštena koncentracija
m	masa, g
N	broj uzoraka
P	statistička značajnost
Q	tromjesečje
SD	standardna devijacija
SZO	Svjetska Zdravstvena Organizacija
t	vrijeme, h
T	temperatura, °C

## 8.2. Životopis

Anita Rakić rođena je 26. srpnja 1970. u Splitu gdje je završila osnovnu, kao i srednju Zdravstvenu školu. Na Kemijsko–tehnološkom fakultetu Sveučilišta u Splitu diplomirala je 1997. godine i stekla naziv diplomirani inženjer kemijske tehnologije. Od 1998. godine je zaposlena u Nastavnom zavodu za javno zdravstvo Županije splitsko–dalmatinske. Radila je u Odjelu sanitarne mikrobiologije kao stručna suradnica za mikrobiologiju voda, zatim je obnašala dužnost voditeljice Laboratorija za pitku vodu u Ispostavi Makarska matičnog Zavoda. Nakon toga je radila u Odjelu za kemijsko ispitivanje voda, u Laboratoriju za pitke, stolne i otpadne vode kao stručna suradnica za određivanje teških metala na atomskom apsorpcijskom spektrofotometru. Od 2004. god. radi u Službi za mikrobiologiju kao voditeljica Odsjeka za pripremu hranjivih podloga, kontrolu i zbrinjavanje infektivnog otpada.

Na Kemijsko–tehnološkom fakultetu u Splitu u ak. god. 2008./09. upisala je poslijediplomski doktorski studij „Kemijsko inženjerstvo u razvoju materijala i zaštiti okoliša“.

Do sada je kao koautorica objavila sedam znanstvenih cjelovitih radova od čega dva objavljena u časopisima koje referira Current Contents, jedan rad u časopisu koji referira SCI expanded, jedan rad objavljen u domaćem i jedan u međunarodnom časopisu, te dva u zbornicima radova s međunarodnog znanstvenog skupa.

Objavila je dva stručna rada u domaćem stručnom časopisu.

Sudjelovala je u znanstvenoj radionici „Ljetna škola znanstvene komunikacije“ (srpanj 2010.) u okviru programa Ljetnih škola za doktorande Nacionalne zaklade za znanost, visoko školstvo i tehnologijski razvoj Republike Hrvatske.

Održala je dva sekcijaska predavanja od čega jedan na domaćem znanstveno–stručnom skupu s temom „Utjecaj fizikalno–kemijskih čimbenika na prisutnost *L. pneumophila* u vodoopskrbnom sustavu Splitsko–dalmatinske županije“ i jedan na međunarodnom znanstvenom skupu s temom „The Water Quality in the Public Supply Water in Permanently vs. Seasonally used Water Supply Systems,“.

Pozvani je recenzent radova za časopis Water Research.

Članica je Hrvatskog kemijskog društva, Hrvatskog društva kemijskih inženjera i tehnologa, Hrvatskog mikrobiološkog društva, Hrvatskog društva medicinskih biokemičara, te Udruge bivših studenata i prijatelja KTF-a (ALUMNI).