

UNIVERZITET U BEOGRADU
TEHNOLOŠKO-METALURŠKI FAKULTET

Maja B. Đolić

ANTIMIKROBNO DEJSTVO POVRŠINSKI
AKTIVIRANIH SORBENATA
MODIFIKOVANIH JONIMA METALA

Doktorska disertacija

Beograd, 2016

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF TECHNOLOGY AND METALLURGY

Maja B. Đolić

**ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF
SURFACE ACTIVATED SORBENTS
MODIFIED BY METAL IONS**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2016

UNIVERZITET U BEOGRADU
TEHNOLOŠKO-METALURŠKI FAKULTET
PODACI O MENTORU I ČLANOVIMA KOMISIJE

- Mentor:** Dr Ljubinka Rajaković, redovni profesor
Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet.
- Komentor:** Dr Vladana Rajaković-Ognjanović, docent
Univerzitet u Beogradu, Građevinski fakultet.
- Član komisije:** Dr Antonije Onjia, naučni savetnik
Univerzitet u Beogradu, Institut za nuklearne nauke Vinča.
- Član komisije:** Dr Suzana Dimitrijević, vanredni profesor
Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet.
- Član komisije:** Dr Dušan Antonović, redovni profesor
Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet.

Datum odbrane: _____ godine.

ZAHVALNICA

Ova doktorska disertacija rezultat je naučno-istraživačkog rada koji je finansiralo Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja, Republike Srbije, pod okriljem projekta III43009: „Nove tehnologije za monitoring i zaštitu životnog okruženja od štetnih hemijskih supstanci i radijacionog opterećenja”. Eksperimentalni deo ovog istraživanja realizovan je u Institutu za nuklearne nauke Vinča (INNV): Laboratoriji za hemijsku dinamiku i permanentno obrazovanje 060, Laboratoriji za atomsku fiziku 040, Laboratoriji za teorijsku fiziku i fiziku kondenzovane materije 020 i Laboratoriji za zaštitu od zračenja i zaštitu životne sredine 100, na Katedri za analitičku hemiju i kontrolu kvaliteta, Katedri za inženjerstvo zaštite životne sredine i Katedri za biohemijsko inženjerstvo i biotehnologiju, Tehnološko-metalurškog fakulteta (TMF), Univerziteta u Beogradu, na Katedri za hidrotehniku i vodno ekološko inženjerstvo Građevinskog fakulteta (GF), Univerziteta u Beogradu, na Elektrotehničkom institutu Nikola Tesla, u Beogradu i u akreditovanoj analitičkoj laboratoriji Anahem d.o.o, u Beogradu.

Posebnu zahvalnost za izradu doktorske disertacije dugujem mentoru, dr Ljubinki Rajaković, redovnom profesoru TMF-a, Univerziteta u Beogradu na savetima i pravim smernicama u vođenju ove doktorske disertacije. Zahvaljujem se komentoru dr Vladani Rajaković-Ognjanović, docentu GF-a Univerziteta u Beogradu, na velikoj posvećenosti i pomoći u svim segmentima pripreme i realizacije istraživanja. Zahvaljujem se dr Antoniju Onjii, naučnom savetniku INNV-a i rukovodiocu projekta III43009, na svesrdnoj pomoći i pružanju kreativne i stvaralačke slobode tokom izrade disertacije. Dr Branislavi Lekić, docentu GF-a Univerziteta u Beogradu, dugujem duboku zahvalnost na strpljenju i konstruktivnim razgovorima koji su doveli do ideje za ovaj naučno-istraživački rad.

Sa velikim uvažavanjem se zahvaljujem profesorima TMF-a, Univerziteta u Beogradu, dr Suzani Dimitrijević i dr Dušanu Antonoviću, na pomoći u eksperimentalnom delu istraživanja i stručnim savetima pri tumačenju rezultata.

Posebno se zahvaljujem dr Svetlani Štrbac, naučnom savetniku Instituta za elektrohemiju, Univerziteta u Beogradu i dr Zlatku Rakočeviću, naučnom savetniku INNV, Univerziteta u Beogradu na izvršenim XPS analizama, srdačnoj podršci i temeljnosti u analizi i interpretaciji dobijenih rezultata. Veliku zahvalnost dugujem kolegama dr Miodragu Mitriću, višem naučnom saradniku INNV-a i dr Đorđu Veljoviću, docentu TMF-a, Univerziteta u Beogradu, na izvršenim strukturnim i površinskim analizama. Zahvaljujem se dr Ljiljani Janković-Mandić, naučnom saradniku INNV-a na γ -spektrometrijskim merenjima i prijateljskim savetima tokom mog naučno-istraživačkog rada. Koleginici Jeleni Marković, stručnom saradniku INNV, Univerziteta u Beogradu se zahvaljujem na podršci i strpljenju u mnogobrojnim merenjima na ICP-MS instrumentu. Koleginici Zorani Mitrić iz Laboratorije Anahem zahvaljujem se na mikrobiološkim analizama. Zahvaljujem se svim saradnicima i kolegama koje sam upoznala na ovom „putovanju” i koji su na bilo koji način doprineli ovom radu.

Najveću zahvalnost za postignute rezultate dugujem svojim najmilijima. Zahvaljujem se suprugu Žikici i sinu Urošu na neizmernoj ljubavi koju mi svakodnevno pružaju. Majci Gorici i bratu Jagošu, zahvalna sam na životnoj podršci i svemu što smo zajedno satakali. Hvala porodici Đolić na ukazanom strpljenju i razumevanju prilikom izrade ove doktorske disertacije. Hvala mojim prijateljima što su me učinili boljom. Najlepše hvala mojoj baki Milanki što je uvek bila Tu.

Vaša Maja

Univerzitet u Beogradu
Tehnološko-metalurški fakultet
Informacije o doktorskoj disertaciji

Naslov doktorske disertacije: Antimikrobno dejstvo površinski aktiviranih sorbenata modifikovanih jonima metala

Rezime: Predmet istraživanja ove doktorske disertacije je površinska modifikacija materijala koji se koriste u antimikrobnom prečišćavanju vode. Promena površine materijala i prisustvo različitih funkcionalnih grupa važna je sa analitičkog aspekta i omogućava unapređenu primenu materijala. Materijali presvučeni filmom jona metala pokazuju dobro dezinfekciono svojstvo. U ovom radu, testirani su sorbenti različitog porekla (5 prirodnih, 3 modifikovana i 3 sintetička) i aktivirani sa Ag^+ -, Cu^{2+} - i Zn^{2+} - jonima, primenom procesa sorpcije u šaržnom sistemu. Ispitane su strukturne i površinske karakteristike prirodnih i modifikovanih materijala, određena je kinetika i mehanizam procesa sorpcije i desorpcije. Karakterizacija prirodnih i modifikovanih sorbenata izvršena je korišćenjem rendgenske difrakcione tehnike (XRD), rendgenske fotoelektronske spektroskopije (XPS) i skenirajućeg elektronskog mikroskopa (SEM). Za određivanje koncentracije jona metala korišćen je sistem indukovano spregnute plazme sa optičkom emisionom spektroskopijom (ICP-OES) i masenom spektrometrijom (ICP-MS). Pre i posle modifikacije analizirani su parametri, poput: pH vrednost, provodljivost, kontaktno vreme, efekat prisustva funkcionalnih grupa i jonskih vrsta. Prema preliminarnim rezultatima sorpcionih i desorpcionih kapaciteta ispitivanih sorbenata optimizovan je broj sorbenata za dalje antimikrobne testove. Inhibitorno dejstvo metalom aktiviranih sorbenata testirano je na različitim kulturama: Gram-negativnoj bakteriji *Escherichia coli* (*E. Coli*), Gram-pozitivnoj bakteriji *Staphylococcus aureus* (*S. Aureus*) i plesni *Candida albicans* (*C. Albicans*). Analizirana je zavisnost aktiviranih materijala i određenih funkcionalnih grupa u odnosu na specifične mikrobne zajednice. Cilj ove doktorske disertacije je bio ispitivanje mehanizma antimikrobnog dejstva metalom aktiviranih sorbenata. Polazna pretpostavka u istraživanju bila je da je antimikrobno dejstvo posledica istovremene aktivnosti jona metala imobilisanih na površini nosača i jona koji su otpušteni sa nosača u vodenu sredinu. Kako bi se ispitao pojedinačni doprinos slobodnih i

imobilisanih jona na ukupno antimikrobno dejstvo aktiviranih sorbenata, posebno su analizirani mikrobiološki testovi sa jonima prisutnim u čvrstoj, kao i u tečnoj fazi.

Mehanizam antimikrobnog dejstva srebrom aktiviranih sorbenata ispitan je primenom dejstva: I. Ag^+ - jona desorbovanih sa aktivne površine sorbenta u vodenu sredinu (hidratirani joni) i II. Ag^+ - jona sa čvrste površine (joni na aktivnim površinskim mestima). Kontaktno vreme aktiviranog sorbenta i mikrobne kulture bilo je 15 min u cilju minimiziranja stepena desorpcije. Kada je sadržaj jona u vodenom rastvoru zanemarljiv, dejstvo jona sa aktivne površine je dominantno u antimikrobnoj aktivnosti modifikovanog sorbenta. Kod sorbenata aktiviranih Ag^+ - jonima, hemijski oblik aktivacione komponente (Ag , Ag_2O ili AgO), odnosno oksidaciono stanje agensa (Ag^0/Ag^+) ključni je faktor za inhibitorno delovanje aktiviranog sorbenta. Najveći stepen uklanjanja mikrobnih ćelija dobijen je korišćenjem srebrom modifikovanog zeolita protiv *S. aureus* i *E. coli*, 98,8 i 93,5 %, respektivno. Inaktivacija ćelija plesni bila je nezadovoljavajuća za sve Ag^+ -aktivirane sorbente. Nizak stepen desorpcije bakrom i cinkom aktiviranih sorbenata ukazuje da je ukupna antimikrobna aktivnost rezultat dejstva jona imobilisanih na aktivnoj površini. Efekat antimikrobne aktivnosti hidratiranih jona desorbovanih sa površine sorbenta mogu se zanemariti. Najveći stepen uklanjanja mikroorganizama zabeležen je primenom zeolita i aktivnog uglja modifikovanih Cu^{2+} - jonima za ćelije *E. coli* i iznosio je: 100,0 and 98,24 %, respektivno, nakon 15 min kontakta metalom aktiviranog sorbenta sa mikrobnom kulturom. Inaktivacija ćelija *S. aureus* i plesni *C. albicans* bila je nedovoljno efikasna kod svih sorbenata aktiviranih sa Cu^{2+} - i Zn^{2+} - jonima.

Rezultati ovog istraživanja ukazuju da je dezinfekciono svojstvo sorbenata modifikovanih jonima metala uslovljeno dejstvom jona sa aktivne površine sorbenta. Efikasnost antimikrobnog dejstva metalom aktiviranih materijala zavisi od prirode i površinskih svojstava materijala, što direktno utiče na distribuciju i (bio)dostupnost aktivirajućeg agensa.

Ključne reči: sorpcija, desorpcija, površinska funkcionalizacija, aktivirani sorbenti, antimikrobno dejstvo.

Naučna oblast: Tehničko-tehnološke nauke

Uža naučna oblast: Inženjerstvo zaštite životne sredine

UDK: 54-414:544.354-128

University of Belgrade
Faculty of Technology and Metallurgy
Information on Doctoral Dissertation

Title: The Antimicrobial Activity of Activated Sorbents Modified by Metal Ions

Abstract: The research topic of this doctoral thesis is focused on the surface modifications of materials used in antimicrobial water treatment. The surface change of the material and the presence of varying functional groups are of particular importance in an analytical aspect which allows for an improved application of the material, impregnated by a film of disinfecting metal ions. In this study, sorbents of a selected range of origin (5 natural, 3 modified and 3 synthetic) have been tested and activated by Ag^+ , Cu^{2+} and Zn^{2+} ions, in a single batch sorption mode. The structural and surface characteristics of natural and modified materials have also been investigated, followed by the kinetics and mechanisms of the sorption and the desorption processes. The characterization of native and modified sorbents was performed by X-ray diffraction technique (XRD), an X-ray photo electron spectroscopy (XPS) and a scanning electron microscope (SEM). The concentration of adsorbed and released ions was determined by an inductively coupled plasma optical emission spectroscopy (ICP-OES) and mass spectrometry (ICP-MS). Prior and subsequent to the modification process, a defined range of parameters were analyzed, including: pH value, conductivity, the effect of contact time, the presence of functional groups, and diversified ionic species. According to the preliminary results of the sorption and desorption capacities of the tested sorbents, a selection of sorbents for further antimicrobial tests was optimized. The inhibitory effect of metal-activated sorbents were tested against Gram-negative bacteria, *Escherichia coli* (*E. coli*), Gram-positive bacteria, *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), and yeast, *Candida albicans* (*C. albicans*). The aim of this doctoral thesis has been to examine the mechanism of antimicrobial activity of metal-activated sorbents. The initial assumption of the study had been that antimicrobial activity is the result of a simultaneous effect of ions immobilized on the surface of the carrier that are released from the carrier in an aquatic environment. Separate antimicrobial tests of ions present in a solid and liquid phase have been closely examined as to distinguish their respective, individual contributions in the total ion antimicrobial effect. The antimicrobial activities of the activated materials were found to

primarily be the result of metal ions incorporated onto the active sites of the surface of the sorbent and subject to the nature and surface properties of the material.

The antimicrobial pathway of the activated sorbents has been examined by two separate tests: I. Ag^+ ions desorbed from the activated surface to the aqueous phase (hydrated ions) and II. Ag^+ ions from the solid phase (crystalline ions on the activated surface sites). The contact time between the activated sorbents and the microbial culture was limited to 15 min as to ensure a low desorption rate. Antimicrobial assays of the activated sorbents demonstrated that the influence of crystalline ions on activated surface sites was the dominant antimicrobial activity of the modified sorbent at weakly expressed desorption. The chemical form of the activating component (Ag, Ag_2O ili AgO) and the oxidation state of the activating agent (Ag^0/Ag^+) had a crucial impact to the inhibition rate of the Ag^+ -activated sorbents. After the exposure period, the highest cell removal was obtained using Ag/Z against *S. aureus* and *E. coli*, 98.8 % and 93.5 %, respectively. Yeast cell inactivation yielded unsatisfactory results for all Ag^+ -activated sorbents. The low desorption rate of Cu^{2+} - and Zn^{2+} -activated sorbents indicate that the overall antimicrobial activity of the metal-modified sorbents is a result of metal ions immobilized on surface sites. The effect of antimicrobial activity of hydrated ions desorbed from the metal-activated surface may therefore be disregarded. After 15 min of exposure time, the highest cell removal was obtained using Cu/Z and Cu/GAC against *E. coli*, 100.0 % and 98.24 %, respectively. *S. aureus* and yeast cell inactivation also yielded unsatisfactory results for all Cu^{2+} - and Zn^{2+} -activated sorbents.

The results of this study show that the disinfecting property of sorbents modified by metal ions is determined by their influence on an activated surface, in which the antimicrobial efficacy of metal-activated sorbents relates to the surface characteristics of the material affecting the distribution and the (bio)accessibility of the activating agent.

Key words: Sorption, Desorption, Surface functionalization, Activated sorbents, Antimicrobial activity

Scientific Field: Applied Science

Scientific Discipline: Environmental Engineering

UDK: 54-414:544.354-128

Sadržaj

I UVOD	1
II TEORIJSKI DEO	5
2.1 Kvalitet vode – fizičko-hemijski i mikrobiološki aspekt.....	5
2.2 Dezinfekcija vode	10
2.2.1 Konvencionalni postupci dezinfekcije	12
2.2.2 Savremeni postupak dezinfekcije - aktivna filtracija	15
2.3 Procesi koji se koriste kod aktivne filtracije	17
2.3.1 Sorpcija.....	17
2.3.2 Desorpcija.....	20
2.4 Materijali i hemijski agensi izabrani za proces aktivacije	21
2.4.1 Sorpcioni materijali	21
2.4.2 Hemijski agensi	25
2.5 Analitičke metode za određivanje koncentracije jona	28
2.5.1 Optička emisiona spektroskopija sa indukovano spregnutom plazmom	28
2.5.2 Indukovano spregnuta plazma sa masenom spektrometrijom.....	30
2.6. Metode karakterizacije sorpcionog materijala	33
2.6.1 Rendgenska difrakciona analiza.....	33
2.6.2 Fotoelektronska spektroskopija rendgenskih zraka.....	35
2.6.3 Skenirajuća elektronska mikroskopija	37
2.6.4 Gama spektrometrija	38
2.7. Antimikrobni testovi	39
2.7.1 Određivanje broja mikroorganizama.....	39
2.7.2 Kohova metoda agarne ploče (<i>Pour plate</i>)	39
III EKSPERIMENTALNI DEO	43
3.1 Korišćeni materijali.....	43
3.2 Proces aktivacije	46
3.2.1 Reagensi	47
3.2.2 Sorpcioni eksperiment.....	47
3.3 Desorpcioni eksperiment	47
3.4 Određivanje koncentracije jona	48

3.4.1	Koncentracija jona nakon procesa sorpcije	48
3.4.2	Koncentracija jona nakon procesa desorpcije	49
3.5	Karakterizacija aktiviranih sorbenata	49
3.5.1	Rendgenska difrakciona analiza.....	49
3.5.2	Fotoelektronska spektroskopija rendgenskih zraka.....	50
3.5.3	Skenirajuća elektronska mikroskopija	50
3.6	Antimikrobni testovi	50
3.6.1	Reagensi i mikrobne kulture	50
3.6.2	Antimikrobni testovi metalom aktiviranih sorbenata.....	51
3.6.3	Antimikrobni testovi desorbovanih jona metala	52
3.6.4	Procena antimikrobne aktivnosti.....	53
IV	REZULTATI I DISKUSIJA	54
4.1	Preliminarni testovi – sorpcioni i desorpcioni kapaciteti ispitivanih materijala....	54
4.2	Pregled dosadašnjih istraživanja u oblasti antimikrobnih sorbenata	56
4.3	Sorbenti aktivirani Ag ⁺ - jonima.....	63
4.3.1	Kinetika procesa sorpcije Ag ⁺ - jona.....	63
4.3.2	Kinetika procesa desorpcije Ag ⁺ - jona.....	64
4.3.3	Rendgenska difrakciona analiza Ag ⁺ -aktiviranih sorbenata	65
4.3.4	Rendgenska fotoelektronska spektroskopija Ag ⁺ -aktiviranih sorbenata.....	67
4.3.5	Skenirajuća elektronska mikroskopija Ag ⁺ -aktiviranih sorbenata	72
4.4	Sorbenti aktivirani Cu ²⁺ - i Zn ²⁺ - jonima.....	74
4.4.1	Kinetika procesa sorpcije Cu ²⁺ - i Zn ²⁺ - jona.....	74
4.4.2	Kinetika procesa desorpcije Cu ²⁺ - i Zn ²⁺ - jona.....	75
4.4.3	Rendgenska difrakciona analiza Cu ²⁺ - i Zn ²⁺ -aktiviranih sorbenata.....	76
4.4.4	Rendgenska fotoelektronska spektroskopija Cu ²⁺ - i Zn ²⁺ - aktiviranih sorbenata.....	79
4.4.5	Skenirajuća elektronska mikroskopija Cu ²⁺ - i Zn ²⁺ -aktiviranih sorbenata	84
4.5	Antimikrobni testovi	86
4.5.1.	Antimikrobna aktivnost Ag ⁺ -aktiviranih sorbenata	86
4.5.2	Antimikrobna aktivnost Cu ²⁺ - i Zn ²⁺ -aktiviranih sorbenata.....	94
5.	Testiranje mineralne sirovine za antimikrobnost.....	97
5.1	Mineralne sirovine kao sorpcioni materijali	97

5.2 Priprema materijala i karakterizacija	97
5.3. Sekvencijalna ekstrakcija.....	99
5.3.1 Ekstrakcioni rastvori	99
5.3.2 Eksperimentalna procedura	101
5.4 Adsorpcioni eksperiment	102
5.5 pH vrednost i provodljivost	102
5.6 Antimikrobni testovi	103
5.7 Rezultati i diskusija.....	103
5.7.1 Karakterizacija prirodnog materijala.....	103
5.7.2 Sekvencijalna ekstrakcija	103
5.7.3 Sorpcioni kapaciteti prečišćenih uzoraka.....	104
5.7.4 Mehanizam procesa ekstrakcije	106
5.7.6 Strukturna analiza prečišćenih uzoraka.....	109
5.8 Efekat prečišćavanja antimikrobne mineralne smeše	113
V ZAKLJUČAK.....	115
VI LITERATURA	120
VII PRILOZI.....	132
7.1 Biografija kandidata.....	132
7.2 Radovi proistekli iz doktorske disertacije.....	133
7.3 Verifikacija svih naučnih i stručnih rezultata kandidata.....	135
7.4 Izjava o autorstvu.....	142
7.5 Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije dokorskog rada.....	143
7.6 Izjava o korišćenju.....	144

SPISAK OZNAKA I SKRAĆENICA

Å	Angstrom (jedinica za dužinu, ekvivalentna 0,1 nm)
AAS	Atomska apsorpciona spektroskopija (<i>eng.</i> atomic absorption spectrometry)
ARB	Antibiotski rezistentne bakterije (<i>eng.</i> antibiotic resistant bacteria)
<i>C. albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
CCV	Kontinualna provera kalibracije (<i>eng.</i> continuing calibration verification)
CRM	Sertifikovani referentni material (<i>eng.</i> certified reference material)
DNK	Deoksiribonukleinska kiselina
DK	Desorpcioni kapacitet
EDS	Elektronska disperzivna tehnika (<i>eng.</i> electron dispersive technique)
EPA	Međunarodna agencija za zaštitu životne sredine (<i>eng.</i> Environmental Protection Agency)
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
ESCA	Elektronska spektroskopska hemijska analiza (<i>eng.</i> electron spectroscopy chemical analysis)
FAT	Fiksni analizator prenosa (<i>eng.</i> fixed analyzer transmission)
FE-SEM	Skenirajuća elektronska mikroskopija emisijom elektrona/primenom polja (<i>eng.</i> scanning electron microscopy field emission)
GAC	Granulisani aktivni ugalj (<i>eng.</i> granulated activated carbon)
GVE	Granična vrednost emisije
ICP-OES	Optička emisiona spektroskopija sa indukovano spregnutom plazmom
ICP-MS	Indukovano spregnuta plazma u kombinaciji sa masenom spektrometrijom
MDK	Maksimalno dozvoljena koncentracija
MES	Multielementarni standard (<i>eng.</i> multi element standard)
MIC	Minimalna inhibitorna koncentracija (<i>eng.</i> minimum inhibitory concentration)
PAC	Praškasti aktivni ugalj (<i>eng.</i> powder activated carbon)
ppb	Jedan u milijardu (<i>eng.</i> part per billion)
ppm	Jedan u milion (<i>eng.</i> part per million)
ppt	Jedan u 10 ¹² (<i>eng.</i> part per trillion)
R	Smanjenje broja mikrobnih ćelija (<i>eng.</i> cell reduction)
RNK	Ribonukleinska kiselina
SE	Sekvencijalna ekstrakcija
SK	Sorpcioni kapacitet (masa adsorbovanog metala po g sorbenta)
<i>S. aureus</i>	<i>Stafilococcus aureus</i>
SEM	Skenirajuća elektronska mikroskopija (<i>eng.</i> scanning electron microscopy)
XPS	Rendgenska fotoelektronska spektroskopija (<i>eng.</i> X-ray photoelectron spectroscopy)
XRD	Rendgenska difrakcija X zracima (<i>eng.</i> X-ray diffraction)
WHO	Svetska zdravstvena organizacija (<i>eng.</i> World Health Organization)

SPISAK SLIKA

- Slika 1** Spektar veličina čestica koje se javljaju u vodama kao zagađujuće materije
- Slika 2** Struktura bakterijske ćelije
- Slika 3** Blok dijagram jednostepenog šaržnog reaktora
- Slika 4** Struktura $(\text{SiO}_4)_4$ i $(\text{AlO}_4)_5^-$ tetraedra i njihovo povezivanje u trodimenzionu strukturu
- Slika 5** Plazma plamenik ICP-OES instrumenta
- Slika 6** Osnovni delovi ICP-MS instrumenta
- Slika 7** Osnovni delovi monohromatskog XPS instrumenta
- Slika 8** Analitički postupci kod primene Kohove metode
- Slika 9** Ćelije odabranih mikrobnih kultura: *E. coli*, *S. aureus* i *C. albicans*.
- Slika 10** Orbitalni šejker *Heidolph* ROTAMAX 120
- Slika 11** Suspenzija mikroorganizama sa uzorkom (levo) i priprema razblaženja (desno)
- Slika 12** Analitički postupci: temperiranja agara (a), zasejavanja podloge (b) i inkubacije agarnih ploča (c), sa leva na desno
- Slika 13** Kinetika procesa aktivacije GAC, Z i T sorbenata sa Ag^+ -jonima
- Slika 14** Kinetika procesa desorpcije Ag^+ -jona sa Ag/GAC, Ag/Z i Ag/T sorbenata
- Slika 15** XRD analiza GAC (isprekidna linija) i Ag/GAC sorbenta (puna linija)
- Slika 16** XRD analiza Z (isprekidana linija) i Ag/Z sorbenta (puna linija)
- Slika 17** XRD analiza T (isprekidana linija) i Ag/T sorbenta (puna linija)
- Slika 18** XPS spektar Ag/GAC sorbenta: a) široki spektar sa pozicijom i atomskim procentom (At %) osnovnih komponenti; b) spektar visoke rezolucije Ag 3d orbitale sa odgovarajućim energijama veze
- Slika 19** XPS spektar Ag/Z sorbenta: s) široki spektar sa pozicijom i atomskim procentom (At %) osnovnih komponenti; b) spektar visoke rezolucije Ag 3d orbitale sa odgovarajućim energijama veze
- Slika 20** XPS spektar Ag/T sorbenta: a) široki spektar sa pozicijom i atomskim

- procentom (At %) osnovnih komponenti; b) spektar visoke rezolucije Ag 3d orbitale sa odgovarajućim energijama veze
- Slika 21** FE-SEM snimak GAC (levo) i Ag/GAC (desno) sorbenta sa uvećanjem od 10 000 i 70 000 (umetnuta slika)
- Slika 22** FE- SEM snimak Z (levo) i Ag/Z (desno) sorbenta sa uvećanjem od 10 000 i 70 000 (umetnuta slika)
- Slika 23** FE-SEM snimak T (levo) i Ag/T (desno) sorbenta sa uvećanjem od 10 000 i 70 000 (umetnuta slika)
- Slika 24** Kinetika procesa aktivacije GAC i Z sorbenata sa Cu^{2+} - i Zn^{2+} - jonima
- Slika 25** Kinetika procesa desorpcije Cu^{2+} - i Zn^{2+} - jona sa Cu/GAC, Zn/GAC, Cu/Z i Zn/Z sorbenata
- Slika 26** XRD analiza GAC (isprekidna linija) i Cu/GAC sorbenta (puna linija)
- Slika 27** XRD analiza GAC (isprekidna linija) i Zn/GAC sorbenta (puna linija)
- Slika 28** XRD analiza Z (isprekidna linija) i Cu/Z sorbenta (puna linija)
- Slika 29** XRD analiza Z (isprekidna linija) i Zn/Z sorbenta (puna linija)
- Slika 30** XPS spektar Cu/GAC sorbenta: a) široki spektar sa pozicijom i atomskim procentom (At %) osnovnih komponenti; b) spektar visoke rezolucije Cu 2p orbitale sa odgovarajućim energijama veze
- Slika 31** XPS spektar Zn/GAC sorbenta: a) široki spektar sa pozicijom i atomskim procentom (At %) osnovnih komponenti; b) spektar visoke rezolucije Zn 2p orbitale sa odgovarajućim energijama veze
- Slika 32** XPS spektar Cu/Z sorbenta: a) široki spektar sa pozicijom i atomskim procentom (At %) osnovnih komponenti; b) spektar visoke rezolucije Cu 2p orbitale sa odgovarajućim energijama veze
- Slika 33** XPS spektar Zn/Z sorbenta: a) široki spektar sa pozicijom i atomskim procentom (At %) osnovnih komponenti; b) spektar visoke rezolucije Zn 2p orbitale sa odgovarajućim energijama veze
- Slika 34** FE-SEM snimak GAC (levo) i Z (desno) sorbenta sa uvećanjem od 10 000 i 70 000 (umetnuta slika)
- Slika 35** FE-SEM snimak Cu/GAC (levo) i Cu/Z (desno) sorbenta sa uvećanjem od 10 000 i 70 000 (umetnuta slika)
- Slika 36** FE-SEM snimak Zn/GAC (levo) i Zn/Z (desno) sorbenta sa uvećanjem

od 10 000 i 70 000 (umetnuta slika)

- Slika 37** Izgled heterogenog mineralnog uzorka
- Slika 38** Struktura molekula EDTA
- Slika 39** Promena provodljivosti (a) i pH vrednosti suspenzije (b) izmerene tokom procesa SE
- Slika 40** Morfološki profil prirodnog i prečišćenih uzoraka, tretiranih sa HOAc, EDTA i EDTA/NaOAc–HOAc

SPISAK TABELA

- Tabela 1** Fizičko-hemijske karakteristike, radiološki i mikrobiološki parametri vode za piće i granične vrednosti emisije u recipijent
- Tabela 2a** Različiti tipovi materijala koji su korišćeni u preliminarnim sorpcionim i desorpcionim testovima
- Tabela 3** Osnovne komponente i njihov sadržaj (izražen u %), BET specifična površina (m^2/g) i raspodela veličine čestica (mm) testiranih materijala
- Tabela 4** SK i DK sorbenata za Ag^+ -, Cu^{2+} - i Zn^{2+} - jone, nakon 24 h
- Tabela 5** Kristalni i hidratizani poluprečnici jona metala
- Tabela 6** Sorpcioni kapaciteti modifikovanih sorbenata za različite aktivacione komponente i njihova MIC vrednost za specifične mikrobne kulture
- Tabela 7** Antimikrobna aktivnost Ag^+ - jona na čvrstoj fazi (Ag/GAC, Ag/Z i Ag/T aktivirani sorbenti u različitim fazama aktivacije), nakon 15 min kontakta sa mikrobnom kulturom
- Tabela 8** Antimikrobna aktivnost desorbovanih Ag^+ - jona u vodenoj fazi (sa aktivne površine sorbenta u različitim fazama njegove aktivacije), nakon 15 min kontakta sa mikrobnom kulturom
- Tabela 9** Antimikrobna aktivnost Cu/GAC, Zn/GAC, Cu/Z i Zn/Z aktiviranih sorbenata, nakon 15 min kontakta sa mikrobnom kulturom
- Tabela 10** Rezultati SE sa HOAc, EDTA and EDTA/NaOAc–HOAc ekstrakcionim rastvorima
- Tabela 11** Koncentracija metala u standardnom rastvoru pre i posle procesa adsorpcije i sorpcioni kapaciteti sirovih i prečišćenih uzoraka
- Tabela 12** Antimikrobna aktivnost prečišćenih uzoraka, tretiranih sa HOAc, EDTA i EDTA/NaOAc-HOAc, nakon 30 min kontakta sa mikrobnom kulturom
- Tabela 13** Antimikrobna aktivnost prečišćenih uzoraka, tretiranih sa HOAc, EDTA i EDTA/NaOAc-HOAc, nakon 24 h kontakta sa mikrobnom kulturom

I UVOD

Predmet i cilj istraživanja

U postupcima hemijskog i mikrobiološkog prečišćavanja voda, koriste se sorpcioni procesi koji podrazumevaju primenu različitih separacionih medijuma, u zavisnosti od vrste i prirode zagađujuće materije. Uklanjanje zagađujućih supstancija iz vode: toksičnih metala, organskih jedinjenja, kao i mikroorganizama, postiže se sorpcijom uz modifikovanje sorpcionog materijala. Tendencija u savremenim postupcima prečišćavanja je sinteza višefunkcionalnih sorbenata za uklanjanje različitih tipova zagađujućih materija iz određenog medijuma. Impregnacija adsorpcionih materijala antimikrobnim agensom - filmom metala, različitog hemijskog oblika: jona, oksida i/ili hidroksida, jedan je najčešće korišćenih postupaka za aktivnu filtraciju i/ili antimikrobno prečišćavanje vode. Joni metala, kao što su: Ag^+ , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Sn^{2+} , Pb^{2+} , Ti^{2+} i Cd^{2+} , poznati su kao dobri antimikrobni agensi. Proces aktivacije zavisi od prirode materijala i prirode hemijskog agensa koji se koristi u procesu impregnacije. Impregnacija različitih materijala jonima metala, odnosno korišćenje aktiviranih sorbenata u procesu filtracije unapređuje hemijsko i mikrobiološko prečišćavanje vode.

Predmet istraživanja ove doktorske disertacije je aktivacija prirodnih, modifikovanih i sintetičkih materijala jonima metala srebra, bakra i cinka i ispitivanje njihovog antimikrobnog dejstva. Poznato je i detaljno ispitano dezinfekciono dejstvo slobodnih jona metala u vodenom rastvoru. Poseban akcenat u ovom istraživanju je stavljen na antimikrobno dejstvo jona na aktivnoj površini sorbenta (jona u čvrstoj fazi). Pregled literature je pokazao da nije dovoljno ispitan mehanizam antimikrobnog dejstva jona imobilisanih na aktivnoj površini. Ovo istraživanje obuhvatilo je pojedinačne antimikrobne testove jona desorbovanih sa površine sorbenta i jona imobilisanih na aktivnom nosaču, odnosno njihov pojedinačni doprinos u ukupnom antimikrobnom dejstvu metalom aktiviranih sorbenata.

Hipoteze koje su prethodile ovom istraživanju i koje su dokazane ovom disertacijom:

- 1) Antimikrobno dejstvo je posledica dejstva jona imobilisanih na aktivnoj površini sorbenta (ne samo slobodnih jona koji desorbuju sa aktivne površine nosača);

- 2) Pored strukturnih svojstava sorbenta, hemijski oblik i distribucija antimikrobnog agensa utiču na efikasnost inhibitornog delovanja aktiviranog materijala.

Detaljan pregled literature potvrđuje da su prikazane polazne hipoteze iz ove doktorske disertacije aktuelne i značajne u oblasti površinske modifikacije materijala i njihove upotrebe u antimikrobnom prečišćavanju voda. Cilj ovog istraživanja je ispitivanje mehanizma antimikrobnog dejstva sorbenata (prirodnih, modifikovanih i sintetičkih) aktiviranih jonima metala (Ag^+ , Cu^{2+} i Zn^{2+}). Materijal koji je prethodno korišćen u analitičke svrhe (kao sorbent za uklanjanje jona teških metala iz vodenih rastvora) dalje se koristi kao aktivirani nosač u procesima dezinfekcije vode. Na ovaj način, postiže se ponovna i/ili produžena upotreba jednog istog materijala što je u skladu sa principima zaštite životne sredine i njenog održivog razvoja.

Istraživanja u okviru ove disertacije usko povezuju oblast opšte i analitičke hemije sa fizičkom hemijom, kroz analizu materijala primenom različitih instrumentalnih tehnika za ispitivanje strukturnih svojstava materijala, kao i sa biohemijom, odnosno mikrobiologijom, sa aspekta primene materijala (antimikrobnog dejstva metalom aktiviranih sorbenata) u funkciji zaštite životne sredine (mikrobiološkog prečišćavanja vode). Strukturna analiza prirodnih i modifikovanih materijala izvršena je pomoću rendgenske difrakcione analize (*eng.* X-ray diffraction, XRD), rendgenske fotoelektronske spektroskopije (*eng.* X-ray photoelectron spectroscopy, XPS) i skenirajuće elektronske mikroskopije (*eng.* scanning electron microscopy, SEM). Za proveru sadržaja prirodnih radionuklida u testiranim uzorcima korišćena je metoda gama (γ) spektrometrije. Za određivanje koncentracije jona metala korišćen je sistem indukovano spregnute plazme sa optičkom emisionom spektroskopijom (*eng.* inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy, ICP-OES) i masenom spektrometrijom (*eng.* inductively coupled plasma mass spectrometry, ICP-MS). Antimikrobna aktivnost modifikovanih sorbenata proverena je primenom standardnog testa razblaženja, na Gram-negativnu bakteriju *Escherichia coli* (*E. coli*), Gram-pozitivnu bakteriju *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) i plesan *Candida albicans* (*C. albicans*).

Struktura rada

Ova doktorska disertacija sadrži 145 strana u okviru kojih se nalazi 7 poglavlja, sa ukupno 40 slika, 13 tabela i 157 literaturna navoda. Doktorska disertacija sadrži: Uvod, Teorijski deo, Eksperimentalni deo, Rezultate i diskusiju, Zaključak, Literaturu i Priloge. Na početku disertacije dati su izvodi na srpskom i engleskom jeziku. U Uvodu (poglavljje I) su obrazloženi predmet i cilj istraživanja, kao i naučni doprinos doktorske teze. U Teorijskom delu disertacije (poglavljje II) dat je literaturni pregled predmetne oblasti i korišćenih analitičkih tehnika, izložen kroz sedam potpoglavlja. U poglavljju III (3.1-3.6) su opisani materijali i metode dobijanja metalom aktiviranih sorbenata, karakterizacija prirodnih i modifikovanih materijala, eksperimentalni postupci adsorpcionog i desorpcionog procesa, kao i mikrobioloških testova. Rezultati i diskusija svih eksperimentalnih rezultata prikazani su u poglavljju IV (4.1-4.5 i 5.1-5.8). U okviru ovog dela, na osnovu ostvarenih rezultata i kritičkim osvrtom na prethodna istraživanja, obrazložen je mehanizam antimikrobnog delovanja aktivne površine nosača. U Zaključku (poglavljje V) su sumirani ostvareni rezultati i predstavljeni pravci daljeg istraživanja. Rad obuhvata sledeće celine:

- opis problematike vezane za antimikrobno zagađenje vode za piće, posledice po ljudsko zdravlje i aktuelne zakonske regulative;
- prikaz postojećih tehnika i materijala koji se koriste u procesima dezinfekcije vode, sa naglaskom na metodi adsorpcije i najčešće korišćenim sorbentima;
- dosadašnji rezultati ostvareni primenom aktivne filtracije, odnosno sorbenata aktiviranih jonima metala, uz detaljan literaturni pregled;
- opis primenjenih procesa aktivacije (sorpcije), desorpcije i antimikrobnih testova dobijenih površinski modifikovanih adsorpcionih materijala;
- uticaj pojedinih jonskih vrsta, kao i prirode materijala (površinska i strukturna karakterizacija) na ukupno antimikrobno dejstvo aktiviranih sorbenata;
- razjašnjenje mehanizma antimikrobnog dejstva na aktivnoj površini nosača.

Naučni doprinos doktorske teze

Iz ove doktorske disertacije proistekla su dva (2) rada u međunarodnom časopisu izuzetnih vrednosti, kategorije M21a (fotokopije priložene). U toku je objavljivanje jednog (1) rada u vrhunskom međunarodnom časopisu. Doprinos ovog istraživanja ogleda se u sledećem:

- jednostavna aktivacija različitih materijala jonima metala srebra, bakra i cinka;
- ispitivanje kinetike sorpcionog i desorpcionog procesa;
- analiza strukturnih i površinskih svojstava prirodnih i modifikovanih materijala;
- testiranje dobijenih aktiviranih sorbenata u procesima dezinfekcije;
- uticaj pojedinačnih oksidacionih stanja jona metala na antimikrobno dejstvo;
- razjašnjenje mehanizma antimikrobnog procesa na aktivnoj površini sorbenta.

Istraživanje antimikrobnog dejstva metalom aktiviranih sorbenata obuhvatilo je odvojene antimikrobne testove jona desorbovanih sa površine sorbenta (u kontaktu sa mikrobnom kulturom) i jona imobilisanih na aktivnom nosaču, odnosno njihov pojedinačni doprinos u ukupnom inhibitornom delovanju. Razjašnjenje mehanizma antimikrobnog dejstva površinski aktiviranih sorbenata modifikovanih jonima metala predstavlja ključni doprinos ove doktorske disertacije.

Applied Surface Science 337 (2015) 819–831

Contents lists available at ScienceDirect

Applied Surface Science

journal homepage: www.elsevier.com/locate/apsusc

The antimicrobial efficiency of silver activated sorbents[☆]

Maja B. Dolić^{☆,*}, Vladana N. Rajaković-Ognjanović[☆], Svetlana B. Štrbac[☆], Zlatko Lj. Rakočević[☆], Dordje N. Veljović[☆], Suzana I. Dimitrijević[☆], Ljubinka V. Rajaković[☆]

[☆]Yula Institute of Nuclear Sciences, University of Belgrade, P.O. Box 522, 11001 Belgrade, Serbia
[☆]Faculty of Civil Engineering, University of Belgrade, Bulevar Oslobođenja 73, 11000 Belgrade, Serbia
[☆]ICTM Institute of Electrochemistry, University of Belgrade, Njegoševa 12, 11001 Belgrade, Serbia
[☆]Faculty of Technology and Metallurgy, University of Belgrade, Karadjordjeva 4, 11000 Belgrade, Serbia

ARTICLE INFO

Article history:
Received 7 July 2015
Received in revised form 3 August 2015
Accepted 2 September 2015
Available online 5 September 2015

Keywords:
Silver
Activated sorbents
Antimicrobial activity
E. coli
S. aureus
C. albicans

ABSTRACT

This study is focused on the surface modifications of the materials that are used for antimicrobial water treatment. Sorbents of different origins were activated by Ag⁺-ions. The selection of the most appropriate materials and the most effective activation agents was done according to the results of the sorption and desorption kinetic studies. Sorption capacities of selected sorbents: granulated activated carbon (GAC), zeolite (Z), and titanium dioxide (TiO₂), activated by Ag⁺-ions were following: 42.06, 13.51 and 17.53 mg/g, respectively. The antimicrobial activity of Ag⁺, Ag⁺GAC and Ag⁺TiO₂ sorbents were tested against Gram-negative bacteria: *E. coli*, Gram-positive bacteria: *S. aureus* and yeast *C. albicans*. After 15 min of exposure period, the highest cell removal was obtained using Ag⁺ against *S. aureus* and *E. coli*, 98.8 and 93.5%, respectively. Yeast cell inactivation was unsatisfactory for all three activated sorbents. The antimicrobial pathway of the activated sorbents has been examined by two separate tests – Ag⁺-ions desorbed from the activated surface to the aqueous phase and microbial cell removal caused by the Ag⁺-ions from the solid phase (activated surface sites). The results indicated that disinfection process significantly depended on the microbial-activated sites interactions on the modified surface. The chemical state of the activating agent had crucial impact to the inhibition rate. The characterization of the native and modified sorbents was performed by X-ray diffraction technique, X-ray photoelectron spectroscopy and scanning electron microscope. The concentration of adsorbed and released ions was determined by inductively coupled plasma optical emission spectroscopy and mass spectrometry. The antimicrobial efficiency of activated sorbents was related not only to the concentration of the activating agent, but moreover on the surface characteristics of the material, which affects the distribution and the accessibility of the activating agent.

© 2015 Elsevier B.V. All rights reserved.

Applied Surface Science 324 (2015) 221–231

Contents lists available at ScienceDirect

Applied Surface Science

journal homepage: www.elsevier.com/locate/apsusc

The effect of different extractants on lead desorption from a natural mineral

Maja B. Dolić^{☆,*,}, Vladana N. Rajaković-Ognjanović[☆], Jelena P. Marković[☆], Ljiljana J. Janković-Mandić[☆], Miodrag N. Mitrić[☆], Antonije E. Onjia[☆], Ljubinka V. Rajaković[☆]

[☆]Yula Institute of Nuclear Sciences, University of Belgrade, P.O. Box 522, 11001 Belgrade, Serbia
[☆]Faculty of Civil Engineering, University of Belgrade, Bulevar Oslobođenja 73, 11000 Belgrade, Serbia
[☆]Faculty of Technology and Metallurgy, University of Belgrade, Karadjordjeva 4, 11000 Belgrade, Serbia

ARTICLE INFO

Article history:
Received 2 September 2014
Received in revised form 16 October 2014
Accepted 18 October 2014
Available online 24 October 2014

Keywords:
Lead
Desorption
Purification
Mineral

ABSTRACT

Natural minerals, such as quartz, clinoptilolite and calcite, are useful as sorbents for various applications, but their content of heavy metals ions is the most problematic obstacle to their application. Before their use, the minerals must be purified. In this work, the subject was desorption of lead from a natural multi-component mineral sample consisting of a mixture of silicates (mainly quartz and clinoptilolite) and calcite formations. Besides desorbed water, different extraction solutions were tested: NaCl, KCl, CaCl₂, MgCl₂, HCl, HNO₃, EDTA, EDTA/Na₂CO₃–HNO₃, HNO₃, NaOH, and NaOH–HNO₃. Several parameters were varied in order to obtain the optimal conditions for the desorption process: the concentration of the extraction solution, the ratio of the mass of the sample and volume of the extractant, and the pH value of the suspension. The best purification effect in one desorption cycle was obtained when 0.1 M EDTA at a pH value of 3.5 (0.2 M EDTA was mixed with 0.01 M acetic buffer, at pH value 3.0, in ratio 1:1) was applied. Sequential extraction (5 consecutive iterations) was performed to provide a more efficient purification process. The lead content (52.0 mg/kg) was decreased by 20% (using HNO₃, 21% (using EDTA) and by more than 50% (using EDTA/Na₂CO₃–HNO₃). The pH value and conductivity were maintained at all critical points to clarify the mechanism of the desorption process. The formation of Pb–EDTA complex is the result of two parallel phenomena, complexing and ion-exchange. An enhanced adsorption capacity and an improved microelement profile for the purified samples were also attained. The mineralogical and radiochemical performances of the sample were determined by the X-ray diffraction and gamma spectrometry techniques. Microelement analyses of the native and purified samples were performed by inductively coupled plasma optical emission spectroscopy (ICP-OES).

© 2014 Elsevier B.V. All rights reserved.

II TEORIJSKI DEO

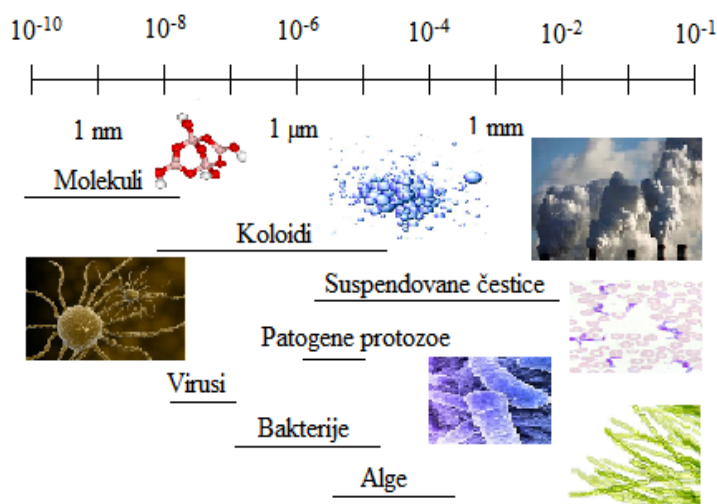
2.1 Kvalitet vode – fizičko-hemijski i mikrobiološki aspekt

Sve intenzivnije demografske promene na zemlji uslovljavaju rast nivoa zagađenja, odnosno povećanje obima vremenskog i prostornog onečišćenja svih ekoloških medijuma. Naučna saznanja iz oblasti prirodnih i tehničkih nauka i njihova primena u direktnoj su vezi sa multidisciplinarnim rešavanjem globalnog ekološkog problema današnjice. Voda pokriva oko 70 % Zemljine površine i predstavlja univerzalan rastvarač za mnoge supstancije. Zbog toga, voda se u prirodi nikada ne nalazi u potpuno čistom obliku i, šire posmatrano, svaka supstancija koja dospeva u vodu predstavlja potencijalno fizičko, hemijsko ili biološko zagađenje [1]. Ukupna količina vode na Zemlji danas je ista kao i pri nastanku Zemlje zahvaljujući hidrološkom ciklusu kroz koji voda menja agregatna stanja i istovremeno se samoprečišćava [2]. Preko 96 % ukupne količine predstavlja slana voda, a od ukupne količine slatke vode preko 68 % je zarobljeno u ledu i glečerima, oko 30 % čine podzemne vode, a svega 0,03 % površinske slatke vode [3]. Danas se troši više vode nego što se prirodno obnavlja. U prethodnom veku, potrošnja vode se udvostručila u odnosu na broj stanovnika, dok se u poslednjih 50 godina potrošnja vode u svetu utrostručila. Paralelno sa ovim fenomenom, potreba za higijenski ispravnom vodom je sve veća. Trećina svetske populacije i dalje nema pristup dovoljnim količinama kvalitetne vode, što uzrokuje oko 2,5 miliona smrtnih slučajeva godišnje [4].

Kvalitet vode karakterišu fizičke, hemijske, radiološke i mikrobiološke karakteristike. Poznavanje što većeg broja parametara kvaliteta vode i njihovih promena tokom vremena preduslov je za pravilan izbor tehnologije koja će se primeniti za njeno prečišćavanje [5]. Fizičke karakteristike su: estetske osobine vode (bistrina, prozirnost i boja), sadržaj suspendovanih čestica, miris, temperatura, gustina, viskoznost i napon pare. Hemijske karakteristike podrazumevaju sadržaj nutritijenata (jedinjenja azota i fosfora), rastvorenih gasova, sadržaj organskih jedinjenja i toksičnih materija. Prirodna voda je uravnotežen sistem mnogih sastojaka: karbonata, bikarbonata, ugljene kiseline, gasova i dr. Prirodni sastojci vode mogu postati zagađujuće supstancije ukoliko se nađu u vodi u koncentraciji većoj od dozvoljene. Nespecifične zagađujuće supstancije u

vodi, poput žive, arsena, olova, kadmijuma, cijanida i dr. su retke, ali izuzetno toksične pri veoma niskim koncentracijama [6,7] i izazivaju dugotrajna štetna dejstva na zdravlje ljudi i životnu sredinu. Mikrobiološke karakteristike vode su: sadržaj patogenih organizama, odnosno sadržaj bakterija, gljivica, protozoa, virusa, algi itd. Mikroorganizmi su grupa najsitnijih i najjednostavnijih živih bića na našoj planeti [8]. Na Slici 1 prikazan je spektar veličina različitih čestica koje se javljaju u vodama kao potencijalne zagađujuće materije [2].

Danas se zna da gotovo nema mesta na Zemlji na kojoj se ne mogu naći najrazličitiji oblici mikroorganizama. Zastupljeni su u zemlji, vodi, vazduhu, kao i na predmetima koji nas okružuju. Pronađeni su čak i u vodama za koje se dugo verovalo da u njima živa bića ne mogu da opstanu, kao što su gejziri, termalne vode, slana jezera i Mrtvo more. Voda ima značajnu ulogu u nastajanju i širenju zaraznih bolesti usled prisustva različitih patogenih organizama. Mikroorganizmi koji se mogu naći u otpadnim vodama su bakterije, virusi i protozoe, koje izlučuju oboleli ljudi ili životinje. Pri ispuštanju otpadnih voda u površinske vode može doći do mikrobiološkog zagađenja što čini vodu nebezbednom za ribolov, kupanje i naročito za piće. Kolera i tifusna groznica su endemske bolesti koje se šire konzumiranjem zagađene vode. Oko 200 000 ljudi svake godine zarazi se kolerom, dok je približan broj smrtnih ishoda posledica oboljenja tifusnom i paratifusnom groznicom na godišnjem nivou [4].



Slika 1. Spektar veličina čestica koje se javljaju u vodama kao zagađujuće materije [2]

Pri razmatranju kvaliteta voda za ljudsku upotrebu, sa mikrobiološkog aspekta, uspostavljena su dva osnovna kriterijuma za identifikaciju mikroorganizama u različitim akvatičnim sistemima [9]. Prvi se odnosi na patogene mikroorganizme, a drugi na koliformne fekalne bakterije. Broj mikroba koji uzrokuju patogene bolesti je relativno mali u odnosu na broj ukupno prisutnih mikroba u vodi. Voda za ljudsku upotrebu, bilo da je za piće ili rekreaciju, pored hemijske ispravnosti, ne sme da sadrži patogene mikroorganizme i uzročnike zaraznih bolesti [10,11]. Preporuka Svetske zdravstvene organizacije (*eng.* World Health Organisation, WHO) jeste da voda za piće ne sme da sadrži fekalne bakterije [12]. Higijenska ispravnost vode za piće na osnovu evropskih standarda (EU Directive 98/93/EC) [13] usaglašena je zakonom Republike Srbije u okviru Pravilnika o higijenskoj ispravnosti vode za piće (Sl. list SRJ, 42/1998, 44/1999) [14]. U Tabeli 1 prikazani su osnovni fizičko-hemijski, radiološki i mikrobiološki parametri koje treba da zadovolji kvalitet vode za piće, prema preporukama WHO [12] i Pravilniku o higijenskoj ispravnosti vode za piće Republike Srbije [14]. Zakonskom regulativom određene su maksimalno dozvoljene koncentracije (MDK vrednosti) pojedinih elemenata i jedinjenja koje se smatraju potencijalno opasnim u vodi za piće. Mikrobiološka ispravnost rekreacionih voda, prema preporuci Evropske Komisije (EU Directive 2006/7/EC) [11], predstavlja jednu od važnih odrednica za praćenje i upravljanje kvalitetom voda za kupanje.

Usaglašavanje zakona, propisa i dogovora kojima se utvrđuju kriterijumi o potrebnoj čistoći vode za različite namene je imperativ savremenog društva. Mikrobiološka analitika zauzima sve značajnije mesto u donošenju zakona i pravilnika o bezbednosti vode za ljudsku upotrebu. Mikrobiološko zagađenje vode zauzima sve veću pažnju upravo zbog velikog broja bakterija i sve veće rezistentnosti koju pokazuju. Naučna javnost se poslednjih deceniju susreće sa novim temama iz oblasti mikrobiološkog zagađenja vode - ispitivanjem antibiotski rezistentnih bakterija (*eng.* antibiotic resistance bacteria, ARB) [15] i mogućnosti njihovog uklanjanja [16,17]. Hemijski i mikrobiološki čista voda je nužna potreba svakodnevnog života i predstavlja stalan izazov naučnicima i inženjerima u nalaženju novih tehnoloških rešenja za prečišćavanje vode.

Tabela 1. Fizičko-hemijske karakteristike, radiološki i mikrobiološki parametri vode za piće i njihove maksimalno dozvoljene koncentracije [12,14]

Sadržaj prisutnih materija u vodi	Jedinice	Maksimalno dozvoljena koncentracija	
		WHO	RS
Opši parametri			
pH	pH jedinice	7 - 8,5	6,8 – 8,5
Provodljivost	mS cm ⁻¹	1500	1000
Mutnoća	NTU	4	1
Tvrdoća	mg CaCO ₃ L ⁻¹		
Boja	Platino-kobaltna skala	5	5
Ukis i miris	Deskriptivno	prihvatljiv	bez
Suspendovane materije	mg L ⁻¹	500	100
Nutrijenti			
Amonijum jon (NH ₄ ⁺)	mg L ⁻¹		
Nitrati (NO ₃ ⁻)		5,0	50,0
Nitriti (NO ₂ ⁻)		0,1	0,03
Slobodan amonijak (NH ₃)			0,10
Salinitet			
Hloridi (Cl ⁻)	mg L ⁻¹	200	200
Fluoridi (F ⁻)		1,50	1,20
Sulfati (SO ₄ ²⁻)		200	250
Cijanidi (CN ⁻)		0,20	0,05
Metali			
Aluminijum (Al)	mg L ⁻¹		0,20
Antimon (Sb)			0,003
Arsen (As)		0,01	0,01
Bakar (Cu)		1,00	2,00'
Zink (Zn)		5,00	3,00
Gvožđe (Fe)		0,30	0,30

Sadržaj prisutnih materija u vodi	Jedinice	Maksimalno dozvoljena koncentracija	
		WHO	RS
Metali			
Kalcijum (Ca)	mg L ⁻¹		200
Kadmijum (Cd)		0,002	0,003
Kalijum (K)		75	12,0
Kobalt (Co)			
Magnezijum (Mg)		50,0	50,0
Mangan (Mn)		0,10	0,05
Natrijum (Na)			150
Nikl (Ni)		0,05	0,02
Olovo			0,01
Selen (Se)		0,01	0,01
Hrom (Cr)		0,05	0,05
Živa (Hg)		0,0001	0,001
Organska jedinjenja			
Policiklični aromatični ugljovodoni (PAH)	mg L ⁻¹	0,001	0,001
Fenoli		0,001	0,001
Pesticidi		0,5	0,5
Radioaktivnost			
Ukupna α	Bq L ⁻¹	0,5	0,1
Ukupna β		1,0	1,0
Mikrobiološki parametri			
<i>E. Coli</i>	Broj ćelija CFU (100 mL) ⁻¹	0	0
Fekalne <i>Streptococci</i>		0	0
Koliformne bakterije		0	0
Crevne protozoe		0	0
Sulfitoredujuće klostridije		0	0

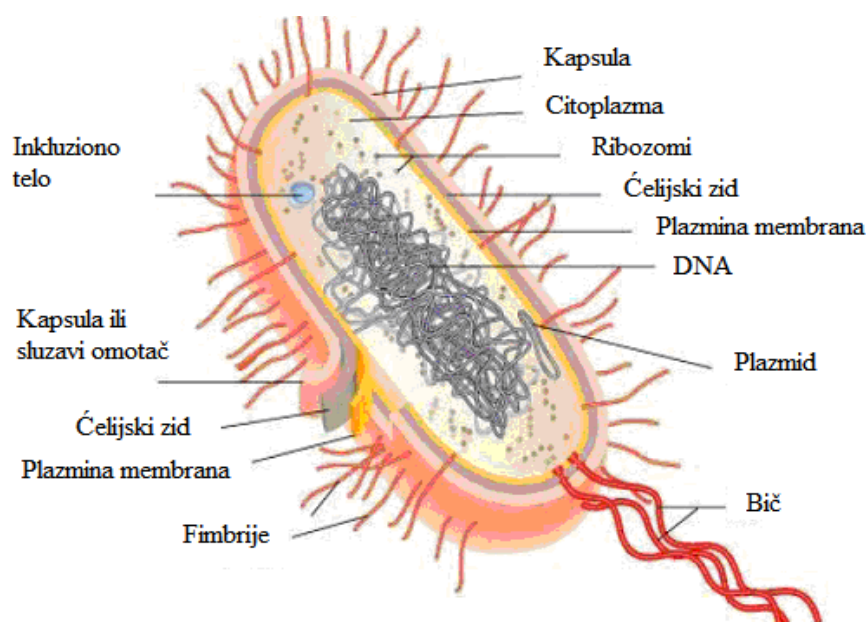
2.2 Dezinfekcija vode

Dezinfekcija vode predstavlja osnovni proces prerade vode pri kojem se uništavaju ili inaktiviraju patogeni mikroorganizmi [9]. Dezinfekcijom se nazivaju postupci pomoću kojih se može smanjiti broj mikroorganizama, ali se nikada ne mogu potpuno ukloniti sve vrste mikroorganizama [8]. U širem smislu, dezinfekcija se može definisati kao uništavanje ili inaktiviranje određene vrste mikroorganizama, u određenom stepenu njihovog razvoja. Proces sterilizacije podrazumeva potpuno uništavanje ili inaktivacija svih mikroorganizama u jednoj sredini. Uspešna dezinfekcija vode može se izvršiti samo u bistroj vodi. Neznatno zamućena voda ometa proces dezinfekcije i ne garantuje dobijanje bakteriološki ispravne vode. Stoga se procesom dezinfekcije često tretira voda kojoj su prethodile ostale faze prečišćavanja - taloženje, koagulacija i filtracija, jer u izbristrenoj vodi nema čestica lebdećih materija koje bi mogle zaštititi bakterije od dezinfekcionog sredstva [18]. Efikasno taloženje i koagulacija mogu da redukuju 90 do 95 % od ukupnog broja mikrobni ćelija iz vode.

Bakterijska ćelija

Mehanizam inaktivacije mikroorganizama zavisi pre svega od vrste i prirode dezinfekcionog sredstva i mikrobni ćelija na koje se deluje. Dezinfekcioni procesi se zasnivaju na narušavanju proteinske stukture bakterijske ćelije, koja je prikazana na Slici 2. Po hemijskom sastavu, ćelije mikroorganizama se ne razlikuju od ćelijskog sastava ostalih živih organizama [8]. Najveći deo ćelije čini voda, u proseku od 65 do 75 % što zavisi od starosti ćelije. Jedan deo vode u ćeliji je slobodan, dok je drugi vezan za pojedine makromolekule (proteini, lipidi i polisaharidi) koji ulaze u sastav ćelije. Makromolekuli čine oko 87 % suve materije ćelije, gde je od 40 do 80 % proteina. Ostatak suve materije obuhvataju neorganske materije. Ćelija bakterije, kao i ćelije svih drugih mikroorganizama, ima jezgro koje se sastoji od hromozoma, međusobno povezanih u hromatinu [8,9]. Činilac hromozoma je deoksiribonukleinska (DNK) kiselina. Iako je sadržaj DNK u ćeliji svega od 2 do 3 %, molekuli DNK su nosioci genetičke formacije i preko njih se odvijaju brojni procesi unutar ćelije. Jezgro je nosilac reproduktivnih sposobnosti i obezbeđuje prenos naslednih osobina. Za odvijanje ovih procesa značajnu ulogu ima ribonukleinska (RNK) kiselina. Jezgro takođe vrši proizvodnju proteina i enzima u čiji sadržaj ulaze raznovrsni činioci sastavljeni od

elemenata RNK, kao što su: ribozomi, lizozomi, mitohondrije itd. Čelija je okružena čvrstom opnom (kapsula ili sluzavi omotač) koja bakteriji daje oblik. Odnos površine ćelije prema zapremini je veći nego u slučaju drugih organizama [8]. Intenzitet metaboličkih procesa raste sa ovim odnosom i zbog toga je aktivnost bakterija veća u odnosu na razvijenije organizme.



Slika 2. Struktura bakterijske ćelije [19]

Mehanizam dezinfekcije vode

Mehanizam dezinfekcije koji se sastoji iz dve faze: prodiranja dezinfekcionog sredstva kroz zid ćelije i reakcije dezinfektanta sa enzimima unutar ćelija (intercelularni enzimi). Prodiranje dezinfektanta kroz zid ćelije zavisi od hemijskog oblika korišćenog agensa, kao i prirode bakterijske ćelije. Neutralni molekuli su efikasniji baktericidi od jona, najverovatnije zbog negativnog naelektrisanja zida bakterijske ćelije. Neutralni molekuli dezinfektanata (npr. molekul hipohloraste kiseline, HOCl) mogu slobodno da difunduju kroz ćelijsku opnu, dok je prolazak anjona kroz membranu otežan elektrostatičkim odbijanjem (npr. hipohloritni anjon, OCl^-) [18]. Ovu hipotezu potvrđuje i činjenica da na spoljnoj strani bakterijske opne dolazi do adsorpcije katjona. *Adsorpciona teorija razgradnje mikroorganizama* pod dejstvom katjona (koji se adsorbuju na spoljnoj bakterijskoj opni) pretpostavlja sledeća delovanja: a) *bakteristatsko* – katjoni se adsorbuju na ćelijskoj membrani i inaktiviraju je (ćelija

ostaje živa, ali prestaje razmnožavanje) i b) *baktericidno* - katjoni prodiru dublje u unutrašnjost ćelije kroz membranu i inhibiraju enzime lanca disanja i procese oksidacije, zbog čega ćelija umire [20,21].

2.2.1 Konvencionalni postupci dezinfekcije

Za inaktivaciju mikroorganizama u vodi primenjuju se različiti konvencionalni postupci dezinfekcije. Dezinfekcioni procesi se ostvaruju direktnom primenom: i) toplote (termička dezinfekcija); ii) zračenja (ultraljubičasto, UV i jonizujuće, X i γ zračenje); iii) ultrazvuka; iv) filtracije i iv) hemijskih agenasa (hemijska dezinfekcija). Hemijske metode dezinfekcije obuhvataju primenu velikog broja agenasa kao što su mineralne kiseline i baze, halogeni elementi (najčešće korišćeni hlor), ozon, peroksidi i dr. [18]. Sva fizička i hemijska sredstva koja sprečavaju rast mikroorganizama (inhibicija ćelija) ili dovode do njihove smrti (inaktivacija ćelija), poznata su kao antimikrobna sredstva [8].

2.2.1.1 Fizičke metode dezinfekcije vode

Sve fizičke metode dezinfekcije vode se zasnivaju na jedinstvenom principu – delovanju različitih spoljašnjih mehaničkih uticaja (toplote i/ili talasa određene talasne dužine i frekvencije) na strukturu bakterijske ćelije, odnosno na intercelularne enzime unutar ćelije.

Postupak primene visoke temperature ubraja se u najstarije fizičke metode dezinfekcije [8]. Povišena temperatura se može koristiti kao suva ili vlažna toplota. Vlažna toplota primenjuje se u obliku vruće i/ili ključale vode i vodene pare. U zavisnosti od oblika termičkog tretmana, temperatura se može kretati od 60 do 135 °C. Kod suve toplote primenjuje se vruć vazduh, koji sadrži mali procenat vlage. Zagrevanje vazduha može se vršiti plamenom ili korišćenjem električne energije, pri čemu se postiže temperatura od 160 °C pa do nekoliko hiljada stepeni, u zavisnosti od izvora energije koji se tom prilikom koristi. Metode vlažne toplote pokazale su se kao efikasnije i brže od metoda suve toplote u kontroli rasta mikroorganizama. Suva i vlažna toplota na različiti način narušavaju strukturu mikrobne ćelije. Vlažna toplota dovodi do nepovratne denaturacije strukturalnih i funkcionalnih proteina (enzima) u ćeliji, a suva toplota uzrokuje oksidaciju i dehidrataciju strukturalnih delova ćelije, koji se na visokim

temperaturama pretvaraju u pepeo [8]. Međutim, danas je poznat veliki broj mikroorganizama u vodi, na prvom mestu bakterija, koje odlikuje sve veća prilagodljivost na temperaturne uslove površinskih i podzemnih voda. Životna potreba za opstankom i razmnožavanjem je toliko izražena da prevazilazi ranije poznata ograničenja, poput temperature, pritiska, pH vrednosti i saliniteta. Nedavno je otkrivena bakterija koja živi na dnu okeana i opstaje uprkos temperaturi od 250 °C i visokom pritisku [9].

Dezinfekcija vode pomoću UV zračenja je efikasan metod za inaktivaciju širokog spektra mikroorganizama (bakterija, virusa i protozoa). Pri dejstvu UV zračenja u opsegu talasnih dužina između 200 i 300 nm, dolazi do inaktivacije mikroorganizama, odnosno denaturacije proteinske strukture. Ako je doza UV radijacije kojoj su izloženi mikroorganizmi dovoljna, promene u genetskom materijalu su nepovratne i mikroorganizmi gube sposobnost da se reprodukuju. Za razliku od UV zraka, jonizujućii zraci (X i γ zraci, snop elektrona) su prodorniji jer poseduju veliku energiju, usled talasne dužine koja je manja od 1 nm [2]. Pod dejstvom jonizujućiih zraka dolazi do jonizacije vode i obrazovanja veoma aktivnih hidroksilnih radikala, koji reaguju sa organskim jedinjenjima prisutnim u ćeliji, posebno sa molekulom DNK.

Ultrazvućni talasi od 9000 do 200 000 Hz poseduju veliku mehanićku energiju i prolaze kroz ćvrste, tećne i gasovite sredine, dovodeći do niza fizićkih, hemijskih i bioloćkih promena. Kod ćelija dovode do strukturnih promena, prouzrokujući pucanje ćelijskog zida, a kod vićih organizama mogu dovesti do potpunog raspadanja ćelija [8]. Efekat dejstva zvuka na ćelije mikroorganizama zavise od dućine delovanja, hemijskog sastava, agregatnog stanja sredine u kojoj se nalaze mikroorganizmi, uslova spoljne sredine (pH i temperature) i od vrste, starosti i ukupnog broja mikroorganizama. Zbog efekta koje ultrazvuk ima na mikroorganizme, sve ćeće se koristi u sterilizaciji vode, tećnih prehrambenih proizvoda, kao i u pripremi farmaceutskih proizvoda.

Filtracija je efikasan naćin za uklanjanje mikroorganizama iz vodene sredine. Tokom filtriranja ne dolazi do direktnog unićtavanja populacije mikroorganizma, već samo do njihovog potpunog ili delimićnog uklanjanja iz tećnosti [8]. Filtracija nije sterilizacija u pravom smislu reći, a efikasnost samog procesa zavisi od poroznosti filtracionog medijuma. Obićno su pore filtracionih ispuna dovoljno velike da kroz njih

može da prođe tečnost, a dovoljno male da zadrže ćelije mikroorganizama i suspendovane materije. Najpoznatiji tipovi filtera su porcelanski, dijatomejski, stakleni i membranski ili koloidni filteri. Za filtriranje tečnosti dugo su se koristile azbestne ploče, koje su imale sposobnost da zadrže ćelije kvasca, plesni pa čak i bakterija.

2.2.1.2 Hemijske metode dezinfekcije vode

Hemijska supstancija koja sprečava rast i razmnožavanje patogenih bakterija i drugih mikroorganizama u organizmu čoveka, a pri tom ne oštećuje sam organizam, naziva se antimikrobna supstancija ili antimikrobni agens [20]. Ukoliko je neka hemijska supstancija suviše toksična da bi mogla da se primenjuje na tkiva, naziva se dezificijens i koristi se za ubijanje mikroorganizama na površinama i predmetima iz okoline. Hemijska dezinfekciona sredstva deluju razorno na ćelijsku protoplazmu, odnosno vrši se inaktiviranje kritičnih enzimskih sistema, koji su bitni za odvijanje mikrobioloških životnih procesa [21]. Najčešće korišćeni procesi hemijske dezinfekcije vode su hlorisanje i ozonizacija.

Hlorisanje vode, metoda dezinfekcije koja se danas najviše koristi, primenju se zbog rezidualnog dejstva i sprečavanja naknadnog razvijanja mikroorganizama u cevima za snabdevanje vodom. Međutim, u prisustvu prirodnih organskih materija i viška hlora stvaraju se sporedni proizvodi dezinfekcije, najčešće jedinjenja trihalometana, koja su štetna po ljudsko zdravlje [22]. Sprečavanje nastanka sporednih nusproizvoda zasniva se na izbegavanju dodavanja hemijskih dezinfekcionih sredstava pre filtracije vode i doziranja potrebne količine hemijskog agensa za postizanje adekvatne dezinfekcije.

Ozonizacija vode je efikasan postupak dezinfekcije koji se primenjuje pre (predozonizacija) i nakon procesa bistrenja (glavna ozonizacija) [2]. U toku predozonizacije ozon primarno ima ulogu oksidacionog sredstva i oksiduje redukovane oblike gvožđa (Fe^{2+}), mangana (Mn^{2+}) i sulfida (S^{2-}) do njihovih oksida i hidroksida, koji se uklanjaju iz vode tokom procesa bistrenja i filtracije. Takođe, postiže se razgradnja jedinjenja koja utiču na boju, ukus i miris vode, kao i postojanjih organskih molekula (fenola, pesticida i dr). Predozonizacijom se, usled biocidnog dejstva ozona, sprečava i rast algi i biofilma u postrojenjima za pripremu vode. Procesom glavne ozonizacije, koji se primenjuje nakon bistrenja i pre filtracije vode, vrši se oksidacija

neorganskih i organskih jedinjenja koja nisu oksidisana u predozonizaciji. Ozon rastvoren u vodi izaziva fizičko-hemijsko oštećenje genetskog materijala patogenih mikroorganizama.

2.2.2 Savremeni postupak dezinfekcije - aktivna filtracija

Prirodna voda sadrži mnoge zagađujuće materije i pri izboru postupaka za njeno prečišćavanje, uvek se vodi računa o svakoj zagađujućoj supstanciji pojedinačno, ili se biraju postupci univerzalne efikasnosti. Za uklanjanje neorganskih i organskih polutanata iz vode koriste se različiti tehnološki postupci i metode kao što su hemijsko taloženje, ultrafiltracija, adsorpcija i jonska izmena [23,24,25]. U postupcima prečišćavanja voda, najčešće se koriste sorpcioni procesi koji podrazumevaju primenu različitih separacionih medijuma, u zavisnosti od vrste i prirode onečišćenja [26,27,28,29]. Lako dostupni i jeftini sorbenti, u osnovnom, prirodnom obliku ili aktivirani nekim hemijskim agensom, posebno su interesantni za uklanjanje teških metala [30,31]. Adsorpcija organskih jedinjenja iz vode postiže se modifikacijom površinskih osobina sorbenta, primenom surfaktanata. Pored uklanjanja teških metala i organskih polutanata [32], impregnacijom adsorpcionih materijala filmom metala (jona, oksida ili hidroksida) omogućava se primena sorbenata za aktivnu filtraciju i/ili antibakterijsko prečišćavanje vode [33]. Savremeni postupci prečišćavanja usmereni su ka sintezi višefunkcionalnih sorbenata za uklanjanje različitih tipova zagađujućih supstancija iz određenog medijuma. Smanjenja mikrobna aktivnost ili potpuna inaktivacija mikroorganizama moguća je primenom sorbenata impregniranih filmom metala koji se nazivaju metalom aktivirani sorbenti. Impregnacija adsorpcionih materijala antimikrobnim agensom, odnosno filmom metala različitog hemijskog oblika: jona, oksida i/ili hidroksida, jedan je najčešće korišćenih postupaka za aktivnu filtraciju i/ili antimikrobno prečišćavanje vode. Joni metala, kao što su: Ag^+ , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Sn^{2+} , Pb^{2+} , Ti^{2+} i Cd^{2+} , su najčešće korišćeni antimikrobni agensi [34,35].

Impregnacija različitih materijala jonima metala, odnosno korišćenje aktiviranih sorbenata u procesu filtracije dalo je značajne rezultate, kako u hemijskom, tako i u mikrobiološkom prečišćavanju vode. Neorganski materijali imaju nekoliko prednosti u odnosu na tradicionalno korišćene organske nosače: hemijsku stabilnost, termičku otpornost, dugotrajnost, itd [36,37]. Među njima, alumosilikati i gline su najčešće

korišćeni sorbenti u antimikrobnim aktivnostima, zbog velike specifične površine i sorpcionog kapaciteta, negativnog površinskog naelektrisanja, niske ili nulte toksičnosti [36]. Zeoliti, različitog mineralnog porekla i sastava, aktivirani sa: Ag^+ -, Cu^{2+} -, Zn^{2+} -, Ni^{2+} -, Sn^{2+} -, Pb^{2+} -, Bi^{2+} -, Cd^{2+} -, Cr^{3+} -, Fe^{3+} - i Ti^{4+} - jonima, predstavljaju neorganske materijale sa najvećom primenom u antibakterijskim testovima [33,35,38,39,40,41]. Montmorilonit impregniran jonima srebra, bakra i cinka potvrđen je kao efikasan nošač za uklanjanje različitih mikrobnih kultura iz vodene sredine [42,43]. Klinoptilolit, prethodno korišćen za sorciju Zn^{2+} - jona iz vodenog rastvora, pokazao se kao odličan sorbent za simultano uklanjanje fosfata i inaktivaciju mikroorganizama iz vode [44]. Esteban-Cubillo sa saradnicima utvrdio je da je antibakterijsko dejstvo Cu^{2+} -aktiviranog sepiolita prema ćelijama *E. coli* i *S. Aureus* rezultovalo efikasnošću od 99,9 % [45].

Aktivni ugalj je najviše korišćeni materijal u procesima prečišćavanja otpadnih voda, prvenstveno zbog velike specifične površine. Ag^+ -modifikovani aktivni ugalj pokazao je veoma dobru antibakterijsku aktivnost prema ćelijama *E. coli*, kao i efikasno uklanjanje As(V) [46]. Aktivni ugalj modifikovan sa Cu^{2+} -, Zn^{2+} - i Fe^{3+} - jonima uspešno je testiran za uklanjanje *E. coli* iz kišnog oticaja [33]. Titan-dioksid je materijal koji se sve češće primenjuje u fotokataličkim i antimikrobnim procesima [47]. Ag^+ -aktivirani titanijum-dioksid testiran je za uklanjanje različitih organskih polutanata iz vode [48,49], kao i za inaktivaciju mikrobnih i virusnih ćelija iz vodene sredine [50,51]. Metalom aktivirani materijali ne koriste se samo kao dezinfekcioni nosači u procesima prečišćavanja voda. Aktivirani sorbenti sve češće nalaze primenu u različitim segmentima ljudske aktivnosti. Zeoliti, aktivni ugalj i titan-dioksid, aktivirani Ag^+ -, Cu^{2+} - and Zn^{2+} - jonima, koriste se u konzervisanju hrane [52], dok se TiO_2 impregniran jonima srebra koristi i u proizvodnji tkanine [47]. Hidroksiapatit impregniran jonima srebra i bakra uspešno je testiran kao materijal koji se koristi za dentalne implante [53].

Aktivna filtracija kao savremeni postupak mikrobiološkog prečišćavanja vode zahteva poznavanje prirode materijala i antimikrobnih agenasa, kao i hemijskih procesa i parametara koji se koriste i utiču na ukupnu efikasnost antimikrobnog dejstva metalom aktiviranihsorbenata.

2.3 Procesi koji se koriste kod aktivne filtracije

2.3.1 Sorpcija

Sorpcija je proces koji obuhvata dva procesa: adsorpciju i apsorpciju. Adsorpcija je proces povećanja koncentracije stranih molekula, atoma ili jona na čvrstoj površini nastao kao rezultat težnje čvrste supstance da zadovolji privlačne sile koje se javljaju po njenoj površini. Adsorbatom se naziva supstanca koja je vezana za površinu druge supstance, a ona supstanca za koju se vezuje adsorbat naziva se adsorbent. Apсорpcija je proces pri kojem se atomi, molekuli ili joni ulaze u određeni gas, tečnu ili čvrstu supstancu, odnosno upijaju se. U slučaju apsorpcije cela količina apsorbovane supstance ravnomerno je raspoređena u čvrstoj ili tečnoj fazi koja služi kao rastvarač. Često se zbog lakše primene i jednostavnosti, umesto adsorpcije ili apsorpcije, koristi samo termin sorpcija.

Adsorpcija uključuje separaciju supstance iz jedne faze zajedno sa njenom akumulacijom ili koncentrisanjem na površini druge, i u skladu sa tim najvažnija svojstva adsorbenta su specifična površina i polarnost. Do pojave adsorpcije dolazi spontano, što znači da se u međufaznoj oblasti adsorbuju one komponente sistema čijim prisustvom se smanjuje specifična površinska energija sistema. U zavisnosti od karaktera veza koje se uspostavljaju između adsorbenta i adsorbata, adsorpcija može biti fizička, hemijska ili elektrostatička. Fizička adsorpcija je najčešće uzrokovana slabim međumolekulskim Van der Valsovim (*Van der Waals*) silama između molekula adsorbata i atoma na površini adsorbenta. Hemisorpcija je tip adsorpcije gde se molekul vezuje za površinu adsorbata formiranjem hemijskih veza kovalentnog, jonskog ili koordinacionog tipa. Hemisorbovane čestice su vezane za reaktivna mesta na površini adsorbenta pretežno u monosloju, dok su kod fizičke adsorpcije prisutne u više adsorpcionih slojeva. Jonska izmena se bazira na elektrostatičkim interakcijama između naelektrisane površine adsorbenta i jona iz rastvora [54]. Koja vrsta adsorpcije će prevladati, zavisi od prirode adsorbata, prirode adsorbensa i temperature sistema.

Adsorpcioni procesi imaju određene prednosti i mane. Prednosti su velika efikasnost uklanjanja zagađujućih supstanci (naročito organskih), mogućnost regeneracije adsorbene materije (najčešće primenom neorganskih kiselina),

dostupnost velikog broja materijala koji se mogu koristiti kao adsorbenti, automatsko upravljanje procesom, kao i jednostavno upravljanje i održavanje. Glavni nedostatak ovog procesa jeste što adsorbenti vremenom gube svoj adsorpcioni kapacitet i pri tom zahtevaju regeneraciju koja je skupa ili pak odlaganje, što stvara čvrsti otpad. Jednu od mana takođe predstavljaju i visoka materijalna ulaganja koja su potrebna za postrojenja koja se oslanjaju na adsorpcione procese [55].

2.3.1.1 Mehanizam procesa sorpcije jona teških metala iz vodenih rastvora

Proces adsorpcija jona teških metala iz vodenih rastvora je složen proces koji se odvija unutar jednog ili više slojeva, u nekoliko stupnjeva koji podrazumevaju:

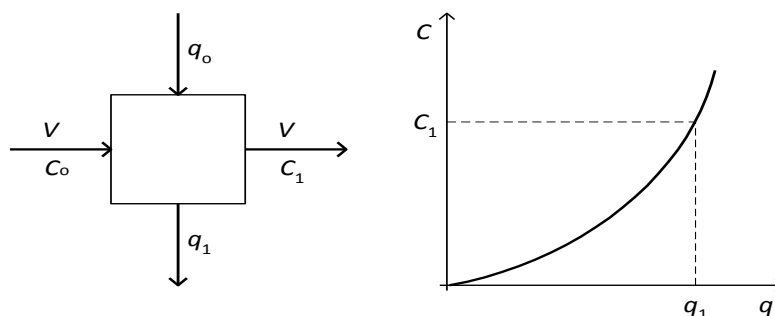
1. Transport molekula adsorbata iz tečne faze kroz površinski film do spoljne površine adsorbenta (difuzija u graničnom sloju);
2. Difuziju molekula adsorbata u unutrašnji prostor adsorbenta (difuzija kroz pore);
3. Adsorpciju adsorbata na površini pora adsorbenta (površinska difuzija).

Ovaj proces se odvija dok se ne uspostavi dinamička ravnoteža između preostale količine adsorbata (jona teških metala) u rastvoru i njegove količine na površini čvrste faze. Ova raspodela se predstavlja krivom koja se naziva adsorpciona izoterma i koja daje zavisnost količine adsorbovane supstance po jedinici mase ili po jedinici površine adsorbenta (ova vrednost se označava sa q_e , i izražava u mol/g, mg/g ili mol/m²) od koncentracije adsorbata (ova vrednost se označava c_e i izražava u mg/L) preostalog u rastvoru u stanju ravnoteže. Količina adsorbata po jedinici mase adsorbenta raste sa porastom koncentracije, ali ta zavisnost nije linearna.

Na mehanizam process sorpcije utiče niz faktora: razvijenost površine adsorbenta, priroda adsorbenta, struktura i oblik molekula adsorbata, veličina molekula adsorbata, priroda adsorbata, polarnost adsorbata, sposobnost disocijacije, pH-vrednost rastvora i temperatura. Mehanizam procesa adsorpcije i transporta molekula iz tečne faze do površine čvrste faze analizira se primenom posebnih modela transfera mase i difuzije unutar adsorbenta (unutrašnja difuzija), a na osnovu eksperimentalno dobijenih podataka jednog sorpcionog procesa.

2.3.1.2 Određivanje efikasnosti sorpcionog procesa u šaržnom sistemu

U šaržnom sistemu procesa adsorpcije, adsorbent je u kontaktu sa tečnom fazom u odgovarajućem reaktoru određeni vremenski period. Adsorbent se odvaja iz fluida odlivanjem, filtracijom ili centrifugiranjem. Vreme potrebno da se dostignu ravnotežni uslovi zavisi od koncentracije rastvora, količine adsorbenta i njegovih fizičko-hemijskih svojstava. U praktičnoj primeni se koristi jednostepeni ili višestepeni šaržni sistemi, sa ili bez mešanja. Na Slici 3 prikazan je blok dijagram jednostepenog šaržnog reaktora.



Slika 3. Blok dijagram jednostepenog šaržnog reaktora

Masa adsorbenta, m je u kontaktu sa zapreminom fluida, V . Koncentracija rastvora će u toku vremena opadati od početne vrednosti C_0 do ravnotežne vrednosti C_1 . Vreme potrebno za uspostavljanje ravnoteže zavisi od puno faktora: fizičko-hemijskih osobina adsorbenta, početne koncentracije rastvora, pH vrednosti, temperature itd. U zavisnosti od navedenih faktora, vreme kontakta do uspostavljanja ravnoteže može trajati od nekoliko minuta do nekoliko dana.

Kada se postigne ravnoteža i tečna i čvrsta faza se razdvajaju. Materijalni bilans ovog procesa definisan je jednačinom (1):

$$V(c_0 - c_s) = m(q_1 - q_0) \quad (1)$$

gde je: V - zapremina rastvora (L), c_0 - koncentracija početnog rastvora (mg/L), c_s - koncentracija rastvora posle procesa adsorpcije (mg/L), m - masa adsorbenta (kg), q_0 – masa adsorbata po jedinici mase adsorbenta, q_1 - masa adsorbata po jedinici mase adsorbenta nakon izvršene adsorpcije (mg/g).

2.3.1.3 Sorpcioni kapacitet

Sorpcioni kapacitet (SK) aktiviranih materijala, izražen u mg adsorbovanog metala po g sorbenta, izračunat je prema jednačin (2):

$$SK = \frac{(c_0 - c_s)}{m} \quad (2)$$

gde su: c_0 (mg/L) početna koncentracija rastvora jona metala (standardni rastvori), c_s (mg/L) je koncentracija rastvora jona metala nakon 24 h procesa aktivacije, V (L) je kontaktna zapremina rastvora (standardnog rastvora) i m (g) je masa ispitivanog sorbenta. SK je karakteristika svakog sorbenta i zavisi od prirode materijala, kao i prirode hemijskog agensa.

2.3.2 Desorpcija

Desorpcija je proces suprotan procesu sorpcije. Joni adsorbovani ili imobilisani na nekom materijalu (sorbentu) otpuštaju se u vodenu sredinu kada dodju u kontakt sa nekim rastvaračem. Desorpcija je dva do tri reda veličine manje izražena od procesa sorpcije [56]. Najvažniji eksperimentalni parametar za efikasan proces desorpcije jeste pH vrednost rastvora u kome se vrši izluživanje jona sa čvrste površine. Desorpcija dvovalentnih katjona (Pb^{2+} , Cd^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} i dr.) je izraženija u kiselim i blago kiselim sredinama. U mnogim sorpcionim istraživanjima, desorpcija se pominje kroz testove izluživanja (*eng.* leaching tests), odnosno proces regeneracije. Detaljnije razumevanje ovog procesa je važno za razvoj novih analitičkih procedura. Ispiranje sorbenata, poput gline i zeolita, u cilju uklanjanja čestica prašine i nečistoće korišćenjem kiselina: HCl, HNO_3 i H_2SO_4 , smatra se standardnim predtpretmanom ovih materijala [57,58]. Upotrebom mineralnih kiselina postiže se i aktivacija materijala, odnosno poboljšanje njihovih sorpcionih karakteristika [59,60,61]. Direktna primena procesa desorpcije ogleda se u oblasti površinske funkcionalizacije sorpcionih materijala. Različiti hemijski reagensi (NaCl, KCl, HCl, $NaNO_3$, $NaCO_3$ i NaOH) korišćeni su za ekstrakciju teških metala iz prirodnih minerala [58,62,63,64,65]. Procesi prečišćavanja i regeneracije omogućavaju višestruku upotrebu istog materijala. Uklanjanje teških metala značajno je i sa aspekta zaštite životne sredine zbog sprečavanja migracije jona metala u prirodu i nalaženja tehnoloških rešenja za njihovu imobilizaciju.

Desorpcioni kapacitet

Desorpcioni kapacitet (DK) za analizirane materijale, izražen u mg desorbovanog metala po g sorbenta, računat je prema jednačini (3):

$$DK = \frac{c_d}{m'} V \quad (3)$$

gde su: c_d (mg/L) ukupna desorbovana koncentracija jona metala nakon 24 h, V (L) kontaktna zapremina (destilovana voda) i m' (g) je masa aktiviranog materijala, nakon procesa sorpcije.

2.4 Materijali i hemijski agensi izabrani za proces aktivacije

Proces aktivacije zavisi od prirode materijala (sorbenta) i prirode hemijskog agensa (jona teških metala) koji se koristi u procesu impregnacije ili „presvlačenja”. Efikasno uklanjanje mikroorganizama korišćenjem površinski aktiviranih sorbentata posledica je dva istovremena dejstva: desorbovanih jona metala prisutnih u malim koncentracijama u rastvoru i jona metala koji se nalaze na aktivnoj površini sorbenta [38,66]. U ovom radu analizirani su različiti aspekti primene metala srebra, bakra i cinka kao hemijski aktivnih agenasa i kriterijumi za izbor odgovarajućih nosača, kako prirodnih, modifikovanih, tako i veštačkih.

2.4.1 Sorpcioni materijali

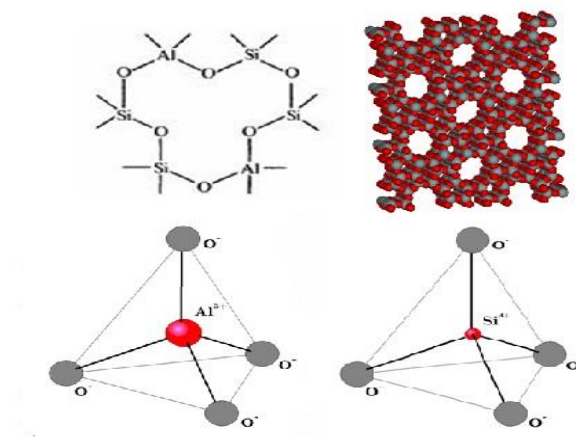
Predmet ispitivanja ove doktorske disertacije je antimikrobno dejstvo materijala aktiviranih jonima metala. U preliminarnim istraživanjima, testirano je više materijala iz grupe prirodnih (zeolit, bentonit, sepiolit, kalcit i kvarcni pesak), modifikovanih (praškasti aktivni ugalj, granulisani aktivni ugalj i aktivna alumina) i sintetičkih materijala (veštački zeolit, titan-dioksid i jonoizmenjivačka smola). Na osnovu vrednosti sorpcionih i desorpcionih kapaciteta iz svake grupe je odabran po jedan reprezentativni materijal (zeolit, aktivni ugalj i titan-dioksid, respektivno) koji je dalje antimikrobno testiran. U sledećem tekstu biće podobnije predstavljeni samo reprezentativni materijali iz svake navedene grupe.

2.4.1.1 Prirodni materijal - zeolit

Zeoliti su neorganske, mineralne sirovine, široko rasprostranjene u prirodi i predstavljaju jedan od najčešće korišćenih prirodnih (*eng.* low cost) sorbenata. Zeoliti je pronađen u alkalnim zemljištima, okeanskim sedimentima, alkalnim jezerima i morskim naslagama. U prirodi postoji više od 200 vrsta zeolita sa različitim fizičkim i hemijskim svojstvima. Zeoliti se nalaze u prirodi kao hemijski neaktivni. Mehaničkom obradom (usitnjavanjem) se aktiviraju, čime se povećava njihova aktivna površina, sorpcioni kapacitet, kao i kapacitet jonske izmene. U svetu se godišnje proizvede oko 4 miliona tona zeolita. Najupotrebljiviji je klinoptilolit koji se koristi za ljudsku upotrebu. Klinoptilolit je prirodni zeolit (hidratisani alumosilikatni mineral) bele, ružičaste, žute, crvenkaste ili blede braon boje. Tvrdoća klinoptilolita je 3,5–4 po Mosovoj skali tvrdoće, a gustina 2,1–2,2 g/cm³.

U strukturi zeolita postoje aktivna mesta za koja mogu da se adsorbuju različite (štetne ili korisne) komponente. Upravo adsorpcijom novih komponenti širi se primena zeolita i uvećava njihova funkcionalnost. Za zeolite je karakteristično postojanje šupljina i kanala. Skelet zeolita je izgrađen od tetraedarskih jedinica (SiO₄) и (AlO₄) [54]. One su međusobno povezane pri čemu dele jedan ili više uglova formirajući prsten preko kiseonikovih atoma (prikazano na Slici 4). Alumosilikate odlikuje velika unutrašnja i spoljašnja specifična površina koja doprinosi efikasnosti procesa adsorpcije i jonske izmene. Ovaj mineral ima veliki afinitet i visoku selektivnost prema dvovalentnim jonima metala, što mu daje mogućnost primene u oblasti sorpcije teških metala. Sorpcija se odvija kako na spoljnim kristalografskim ravnima, tako i u kanalima, ukoliko su dimenzije molekula koji treba da se adsorbuje manje od dimenzija kanala, čime zeolit dobija ulogu molekulskog sita.

Pored procesa adsorpcije, jonska izmena je karakteristična za zeolite, jer je mogućnost izmene katjona (na primer: K⁺, Na⁺, Ca⁺, Mg⁺ - i NH₄⁺ - jona) od velikog značaja za uklanjanje zagađujućih materija iz vazduha, vode i zemljišta. Zeoliti adsorbuje teške metale, radionuklide, mikotoksine, a veoma je moćan detoksikans i antioksidans jer deaktivira slobodne radikale. Koriste se i kao selektivni adsorbensi za razdvajanje i prečišćavanje supstanci. Zeoliti se najviše koriste u tretmanu voda, u poljoprivredi (za alkalizaciju zemljišta), u oblasti zaštite životne sredine, i dr.



Slika 4. Struktura $(\text{SiO}_4)_4^-$ i $(\text{AlO}_4)_5^-$ tetraedra i njihovo povezivanje u trodimenzionalnu strukturu [67]

2.4.1.2 Modifikovani materijal - aktivni ugalj

Aktivni ugalj obuhvata grupu amorfnih ugljeničnih materijala koji imaju visok stepen poroznosti, veliku specifičnu površinu i sposobnost neselektivnog uklanjanja velikog broja zagađujućih supstanci. Zbog velike poroznosti i velike slobodne površine, aktivni ugalj je jedan od najboljih sorpcionih materijala [68]. Aktivni ugljevi se dobijaju termičkim razlaganjem u Inertnoj atmosferi raznih čvrstih sirovina koje imaju visok sadržaj ugljenika. Od sirovina se koriste: drvo, treset, kameni ugalj, kokosova ljuska, lignocelulozna biomasa, lignit, itd. Pri proizvodnji aktivnog uglja procesi koji obuhvataju kompletan tehnološki postupak su: ispiranje sirovine vodom ili rastvorima kiselina za uklanjanje neorganskih materija (njihovo prisustvo smanjuje adsorpcioni kapacitet), usitnjavanje sirovina u električnim mlinovima, sejanje za dobijanje čestica u odgovarajućem opsegu dimenzija, procesi karbonizacije i aktivacije (parcijalna oksidacija proizvoda karbonizacije). Osnovna podela ugljeva je prema njihovoj granulaciji pa se razlikuju praškati i granulisani aktivni ugljevi. Najčešće se prave u vlaknastom i sferičnom obliku.

Praškasti aktivni ugljevi (*eng.* powder activated carbon, PAC) imaju veličinu čestica od 0,015–0,1 mm, velike su gustine, tvrdoće i abrazionog indeksa. Oni se upotrebljavaju u reaktorima velikih zapremina gde postoji mehaničko mešanje. Primena praškastih aktivnih ugljeva je tipična i kod prčišćavanja industrijskih i komunalnih voda, u industriji šećera za obezbojavanje, u industriji hrane i lekova, kao i za

uklanjanje žive i dioksina iz struje gasa u dimnjacima. Najveće prednosti PAC su niski investicioni troškovi i mogućnost menjanja doze u zavisnosti od polaznog kvaliteta sirove vode što je posebno značajno za postrojenja kojima nije potreban tokom cele godine. Nedostaci su neisplativa regeneracija i teškoće pri odlaganju nakon upotrebe, kao i teškoće pri njegovom potpunom uklanjanju iz prečišćene vode. Prema zvaničnim podacima, polovina od ukupne svetske proizvodnje aktivnih ugljeva koristi se za proizvodnju praškastih aktivnih ugljeva.

Granulisani aktivni ugalj (*eng.* granulated activated carbon, GAC) imaju dimenzije čestice od 1–5 mm. Koriste se za prečišćavanje tečnosti i gasova. Jedna od osnovnih primena je za izradu gas maski. GAC adsorbuje pare amonijaka ili hlora i sprečava da ovi gasovi dopru do organa za disanje osobe koja nosi masku. Za razliku od praškastih, granulisani aktivni ugljevi se mogu regenerisati i reaktivirati. GAC imaju veliku gustinu, visoku tvrdoću i nizak abrazivni indeks.

2.4.1.3 Sintetički materijal - titan-dioksid

Titan je deseti element po svojoj rasprostranjenosti u Zemljinoj kori (0,6 %). Nalazi se u silikatnim mineralima i rasprostranjen u skoro svim tipovima zemljišta. Bele je boje, visoke čvrstoće i sa relativno visokim tačkama topljenja i ključanja (1725 i 3260 °C, respektivno). Zbog svoje otpornosti na atmosfersku koroziju, veoma često se koristi kao dodatak u proizvodnji čelika. Titan-dioksid ili titan (IV) oksid je prirodni oksid titana, čija je formula TiO_2 . Često se upotrebljava kao pigment i naziva se titansko belo ili beli pigment. Titan-dioksid ima veoma široku upotrebu, između ostalog kao sastojak boja, krema za sunčanje ili za bojenje hrane. Kao dodatak hrani ima oznaku E171. Titan-dioksid se u prirodi nalazi u obliku minerala rutila, anatasa i brukita. Naročito u formi anatasa, titanijum dioksid je fotokatalizator pod ultraljubičastim svetlom. Nedavno je pronađeno da se fotokataliza pojavljuje i pod uticajem vidljivog svetla, ukoliko se titanijum dioksidu dodaju joni azota ili metalni oksidi poput volfram trioksida. Zbog svojih sterilizirajućih, deodorizirajućih i drugih osobina, titan-dioksid se dodaje u boje, cemente, prozore i slične proizvode.

2.4.2 Hemijski agensi

U ovom istraživanju, kao hemijski aktivne supstance (hemijski agensi) izabrani su joni metala srebra, bakra i cinka. Osnovne fizičko-hemijske osobine i dezinfekciona svojstva odabranih metala doprinela su objašnjenju mehanizma antimikrobnog dejstva modifikovanih sorbenata.

2.4.2.1 Srebro

Srebro se u prirodi javlja u elementarnom stanju i u vidu jedinjenja. Bele je boje i izrazito mekano i savitljivo, pa se koristi za proizvodnju nakita i novca. Od svih metala, smatra se najboljim provodnikom toplote i elektriciteta. Usled specifičnih fizičkih i hemijskih osobina, jedinjenja srebra se koristi u industriji i elektrotehnici [69]. Srebro pripada slabo aktivnim metalima. Ne oksiduje se stajanjem na vazduhu (kiseonikom) jer je proizvod oksidacije srebro-oksid nepostojan [70]. Srebro se koristi za prečišćavanje voda - sprečava nagomilavanje bakterija i algi u filterima. Katalitička reakcija srebra sa vodom omogućava izostavljanje hlora pri prečišćavanju vode. Joni srebra se dodaju sistemima za prečišćavanje vode u bolnicama, komunalnim sistemima za vodosnabdevanje i bazenima, zamenjujući hlor.

Dezinfekciono delovanje teških metala prvi put je uočeno kod srebra, a ono je istovremeno i dezinfekciono najefikasniji teški metal [18]. Prvi ozbiljniji rad o dezinfekcionom delovanju srebra objavio je švajcarski boraničar Nageli 1893. god, koji je germicidno delovanje nazvao *oligodinamičkim delovanjem* (delovanje u malim količinama, odnosno niskim koncentracijama). Najniža koncentracija srebra za koju je utvrđeni da ubija mnoge bakterije je količina od 0,016 mg/L za kontaktno vreme od 2 h. [18]. U praksi se koriste veće koncentracije hemijskog agensa i kraće vreme kontakta sa mikrobnom kulturom.

Na osnovu Pravilnika o higijenskoj ispravnosti vode za piće (Sl. list SRJ 42/1998), maksimalno dozvoljena koncentracija srebra u vodi za piće iznosi 10 µg/L [14]. Srebrni joni u oblasti koncentracije µg/L ne daje vodi nikakav ukus i nije toksičan za čoveka. Joni srebra ne deluju razarajuće na ćelije makroorganizama. Džejms Kolins, biomedicinski inženjer sa Boston Univerziteta u Masačusetsu, u naučnom radu objavljenom 2013. godine u „*Translational Medicine*” pokazao je da srebro pojačava

dejstvo antibiotika od 10 do 1000 puta [71]. Ovo istraživanje potvrđuje sve češću primenu koloidnog srebra u medicinske svrhe.

2.4.2.2 Bakar

Bakar je esencijalni biološki element. U prirodi je najviše zastupljen u vidu legure bronce (crvenkasto-bron boje i male tvrdoće). Javlja se u zemljinoj kori u obliku minerala: halkopirita, halkozina i drugih. Posle srebra bakar je najbolji provodnik električne i toplotne energije. Masovno se upotrebljava za proizvodnju električnih provodnika i uopšte u elektrotehnici. Bakar se dodaje u razne legure. Meša se sa zlatom i srebrom čime se znatno poboljšavaju njihove mehaničke osobine. U građevinarstvu se bakar koristi kao krovni pokrivač i za izradu oluka, a od skora i kao material za oblaganje fasada. Ima izvanredna svojstva, ali je ekonomski posmatrano skup građevinski material. Posebna specifičnost atoma bakra je elektronska konfiguracija sa potpuno popunjenim 3d-podnivoom i jednim elektronom u 4s-orbitali: $3d^{10}4s^1$. Ona objašnjava zapažena fizička i hemijska svojstva ovog metala [70]. Tako bakar, osim osnovnog i najstabilnijeg oksidacionog stanja +2, u mnogim jedinjenjima ima i manje stabilno stanje +1.

Bakar je biostatičan material, što znači da se bakterije na njemu ne mogu razvijati. Legure bakra na površini imaju prirodna svojstva koja uništavaju mikroorganizme. Dokazano je da legure bakra ubijaju čak 99,9 % patogenih bakterija za samo dva sata prečišćavanja [72]. Antibakterijske legure bakra se koriste u zdravstvenim institucijama širom sveta. Pri akutnoj izloženost višim koncentracijama veoma je toksičan i kancerogen. Mnoge studije pokazale su viši nivo Cu kod pacijenata obolelih od raka dojke, materice, jajnika, pluća, prostate, raka želuca, ili leukemije. Zbog velike primene u industriji i antibakterijskog dejstva, kao i zbog činjenice da u velikim količinama može izazvati zdravstvene probleme kod ljudi, ispitivanje bakra i njegovih svojstava i dalje predstavljaju stalan izazov za istraživače. Prema Uredbi o graničnim vrednostima emisije (GVE) zagađujućih materija u vode i rokovima za njihovo postizanje (Sl. glasnik RS”, broj 67/2011 i 48/2012), granične vrednosti za ispuštanje bakra su 0,05 mg/L [73].

2.4.2.3 Cink

Cink je esencijalni element i pojavljuje se u skoro svim magmatskim stenama, a najčešće je zastupljen u obliku minerala: zink-sulfida, zink-oksida i smitsonita. Prirodni sadržaj cinka u zemljištu je od 1 do 300 mg/kg. Cink je blestavo bele boje i izdvaja se visokom hemijskom aktivnošću kao jako redukciono sredstvo [70]. Ima samo jedno stabilno oksidaciono stanje +2. Ovaj element ima važnu ulogu u razvoju i održavanju imunog sistema kod ljudi. Nedostatak Zn može dovesti do kožnih oboljenja (akne, ekcemi, psorijaza, opadanje kose i dr.), slabljenja čula ukusa, mirisa i vida, oslabljene reprodukcije, slabog razvoja umnih sposobnosti, sporo zarastanje rana i drugo [74]. Cink se nalazi u mnogim enzimima. U kompeticiji sa drugim katjonima, cink ometa njihovu sorpciju, što posebno dovodi do nedostatka mangana i gvožđa u organizmu. Povećanje koncentracije cinka kod čoveka može izazvati anemiju, grčeve, vrtoglavicu, povraćanje, smanjenje funkcije imunog sistema i bolesti srca. Cink se izbacuje putem urina i fecesa, ali 90 % ostaje u organizmu gde se ukumulira u mišićima i kostima. U određenoj meri cink se bioakumulira i u ribama. Toksični efekti na rast ili opstanak riba nisu utvrđeni.

Na površini cinka na vazduhu stvara se zaštitni sloj ZnO. Ovaj fenomen se koristi kod izrade savremenih automobila, za zaštitu lima od korozije [70]. Koristi se i za električne peći, kao legura i za zaprašivanje biljnih kultura jer ima i insekticidno dejstvo. Cink predstavlja jedan od najmobilnijih elemenata u prirodi što znači da lako prelazi iz jednog medijuma u drugi. U kiseloj sredini i u oksidujućim uslovima povećava se sadržaj rastvornih oblika cinka. Najveći sadržaj rastvornih oblika cinka javlja se u opsegu pH vrednosti od 5 do 6,5. U prirodnim površinskim vodama koncentracija cinka je obično ispod 10 µg/L, dok je u podzemnim vodama od 10 do 40 µg/L. U vodi za piće koncentracija cinka može biti znatno viša usled izdvajanja cinka iz cevnog materijala i cevne armature. Prema pravilniku o higijenskoj ispravnosti vode za piće (Sl. list SRJ, br. 42/98 i 44/99) maksimalna dozvoljena koncentracija cinka u vodi za piće je 3 mg/L [14]. Prema GVE zagađujućih supstancija u vode (Sl. glasnik RS, broj 67/2011 i 48/2012), koncentracija cinka za ispuštanje u recipijent iznosi 1,0 mg/L [73].

2.5 Analitičke metode za određivanje koncentracije jona

Analiza vodenih uzoraka, pored nekih fizičko-hemijskih parametara (pH, provodljivost, mutnoća i boja), obično podrazumeva i određivanje sadržaja jonskih vrsta. Koncentracije prisutnih jona izražena je kao masena koncentracija (u mg/L) ili u milionitim delovima celine (*eng.* part per million, ppm). Veoma niske koncentracije elemenata, prisutnih u tragovima, izražene su u µg/L ili kao milijarditi delovi celine (*eng.* part per billion, ppb). Numeričke vrednosti jedinica: mg/L, odnosno ppm, ili µg/L, odnosno ppb, se smatraju ekvivalentnim za veoma razblažene vodene rastvore, gustine približno jednake čistoj vodi na 4 °C, iako definicija ovih jedinica nije identična [54]. Definisanjem strogih kriterijuma za kontrolu kvaliteta vode, postavlja se i stalan zahtev analitičarima za razvoj i unapređenje metoda i analitičkih postupaka za određivanje sadržaja vode [75,76].

2.5.1 Optička emisiona spektroskopija sa indukovano spregnutom plazmom

Optička emisiona spektroskopija sa indukovano spregnutom plazmom (ICP-OES) je jedna od najsavremenijih analitičkih tehnika za određivanje sadržaja različitih jonskih vrsta. Ova tehnika zahteva male količine uzorka i moguće je detektovati veoma niske koncentracije jednog ili više elemenata istovremeno (najčešće izražene u ppm). Zbog visoke osetljivosti i mogućnosti određivanja tragova metala u realnim uzorcima, ova analitička tehnika se koristi u analitičkoj hemiji, ekotoksiologiji i toksikologiji životnih namirnica [77]. Osnovni princip rada ICP-OES uređaja zasniva se na merenju intenziteta emitovane svetlosti, odnosno elektromagnetnog zračenja koje emituju pobuđeni elektroni iz uzorka. Metoda se zasniva na tome da atomi uzorka (analita koji se određuje) primaju energiju od izvora zračenja - plazme plamenika i prelaze u pobuđeno stanje. Povratkom u osnovno stanje, elektroni emituju elektromagnetno zračenje tačno određene talasne dužine, karakteristične za svaki element. Intenzitet emitovane svetlosti je proporcionalan broju pobuđenih elektrona odnosno koncentraciji elementa u posmatranom uzorku.

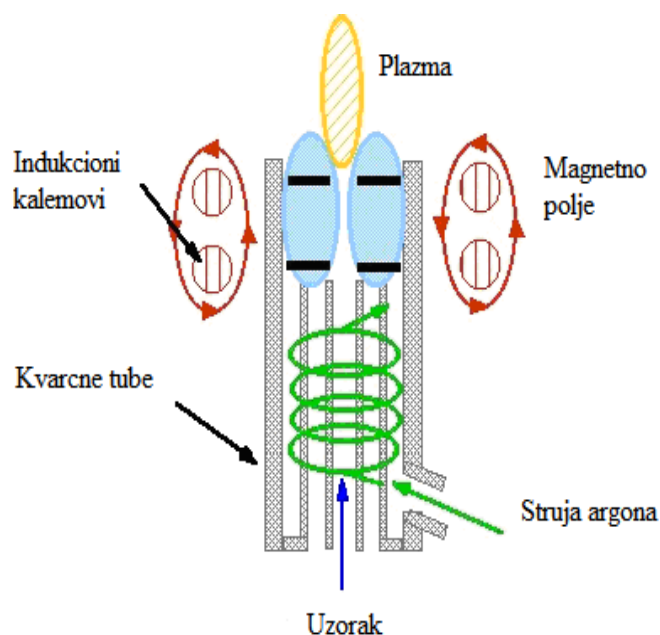
Ukoliko su uzorci u čvrstoj fazi primenjuje se mikrotalasna mokra digestija u zatvorenom sistemu. Mikrotalasna energija služi za zagrevanje rastvarača koji je u kontaktu sa uzorkom i prevodi ga u tečno stanje (princip ekstrakcije). Mokra digestija koristi hemijske reagense, odnosno mineralne kiseline. Izbor kiseline zavisi od matriksa

uzorka, a najčešće se u analitičkoj praksi koristi azotna kiselina. Ukoliko se radi o veoma čvrstom i postojanom uzorku (silikati, alumosilikati i sl), digestija se radi carskom vodom (mešavinom azotne i hlorovodonične kiseline) [77].

Izvor zračenja je plazma plamenik [78]. Plazma plamenik se sastoji od tri koncentrične kvacne cevi. Kroz unutrašnju cev curi nebulajzer gas, struja argona (Ar) koja ima laminarni protok i koja ima injektuje uzorak u plazmu. Plazma je čvrsto agregatno stanje, stanje visokojonizovanog gasa. Argon plazma je elektroprovodljiv, visokojonizovan gas koji sadrži veliku količinu jona i elektrona argona. Argon je prirodni, plemeniti, hemijski inertan gas koji ne reaguje sa jonima iz uzorka, ima visoku energiju jonizacije, emituje jednostavne spektre i može da ekscitira većinu elemenata periodnog sistema. Kroz srednju cev struji pomoćni gas, struja argona koja ima tangencijalni protok i služi za hlađenje te cevi. Kroz spoljašnju cev struji gas za hlađenje, tangencijalna struja argona koja hladi zidove kvarcne cevi, stabilizuje i centriraju plazmu. Na vrhu cevi nalazi se vodom hlađeni indukcionni kalem koji napaja radiofrekventni generator. Na Slici 5 prikazan je plazma plamenik.

Tečni uzorak se pomoću peristaltičke pumpe upumpava u nebulajzer koji rastvor pretvara u aerosol. Sprej komora uklanja velike kapi, a male kapi, koje čine svega 1–5 % od ukupnog rastvora, bivaju nošene strujom nebulajzer gasa u ICP baklju, odnosno plazmu plamenika (tzv. baklja plamenika). Atomi i elektroni iz uzorka u sudaru sa jonima i elektronima iz plazme primaju energiju i prelaze u pobuđeno stanje. Vraćanjem u osnovno stanje emituju energiju u obliku karakterističnog linijskog spectra. Temperatura plazme varira od 5–8000 K pa se zbog visokih temperatura u ICP izvorima dobijaju veoma složeni spektri koji se potom analiziraju pomoću spektrometra.

Spektrometar je optički sistem visoke rezolucije koji pomoću disperzionog elementa (difrakcione rešetke i kvarcne prizme) propušta svetlosni zrak na nekoliko talasnih dužina istovremeno. Kako se sastoji od velikom broja izlaznih razreza ovaj sistem ima veliku moć rezolucije, što je posebna prednost u odnosu na atomsku apsorpcionu spektroskopiju (eng. atomic absorption spectrometry, AAS), gde se koriste izvori zračenja specifični za dati element i gde se širina razreza monohromatora podešava da propusti sam jednu, rezonantnu talasnu dužinu.



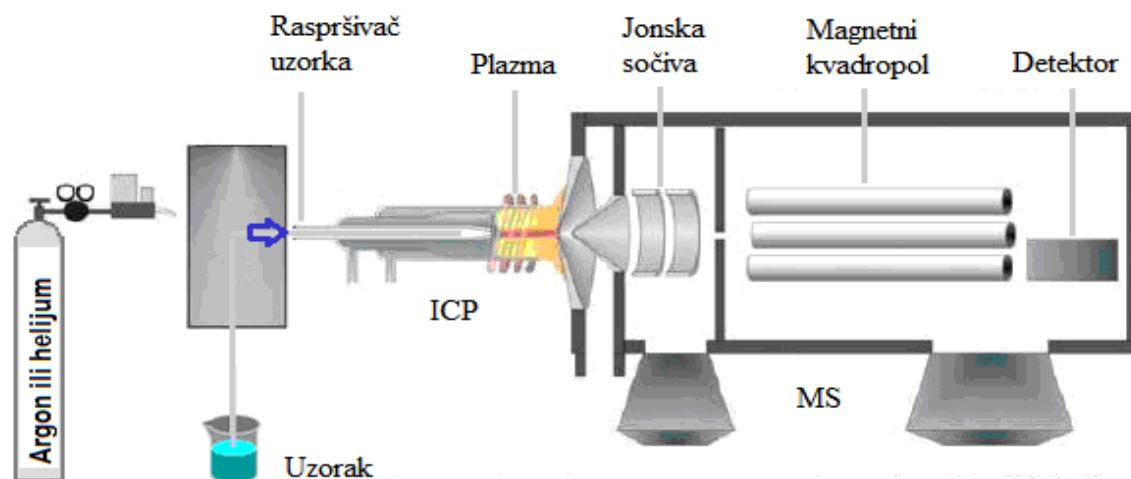
Slika 5. Plazma plamenik ICP-OES instrumenta [79]

Kvantitativna analiza se vrši pomoću metode kalibracione krive gde se nepoznata koncentracija elemenata izračunava poređenjem intenziteta emisije ispitivanog uzorka sa standardima [77]. Izbor radne talasne dužine zavisi od prirode matriksa uzorka i mogućih interefrencija na izabranim talasnim dužinama. Zbog smanjenja uticaja matriksa i veće osetljivosti metode kada je o reč o uzorcima koji sadrže jako niske koncentracije elemenata koje su ispod limita kvantifikacije metode kalibracione krive, koristi se metoda dodatog standarda (tzv. metoda standardnog dodatka). Druga mogućnost za prevazilaženje ovakvih problema jeste korišćenje uređaja sa većom rezolucijom, odnosno nižom granicom detekcije, gde je indukovano spregnuta plazma kuplovana sa masenim detektorom.

2.5.2 Indukovano spregnuta plazma sa masenom spektrometrijom

Indukovano spregnuta plazma u kombinaciji sa masenom spektrometrijom (ICP-MS) predstavlja pouzdanu analitičku tehniku za određivanje niskih koncentracija jona (izraženih u $\mu\text{g/L}$, odnosno ppb), do nivoa njihovih tragova. Prednosti ove tehnike su u brznoj multielementarnoj analizi sa veoma niskim nivoima detekcije (granica detekcije je reda veličine ng/L , odnosno ppt). Pomoću ICP-MS instrumenta moguće je merenje preko 90 elemenata periodnog sistema, kako metala, tako i nemetala, određivanje njihovih izotopa kao i izotopskih odnosa pojedinih elemenata. Ova tehnika zasniva se na

zajedničkom delovanju indukovano spregnute plazme (za jonizaciju) i masenog detektora (za razdvajanje i detekciju). Osnovni delovi ICP-MS instrumenta su prikazani na Slici 6.



Slika 6. Osnovni delovi ICP-MS instrumenta

Sistem za unošenje uzorka se sastoji od peristatičke pumpe i raspršivača uzorka. Da bi tečni uzorak bio u obliku aerosoli, uvodi se u raspršivač sa unakrsnim raspršivanjem. Raspršivač produvava gas pod pravim uglom u odnosu na cev za unos tečnosti i razbija tečnost u veoma male kapi formirajući aerosol. Dobijene kapljice se razdvajaju u komori za raspršivanje, pri čemu se krupnije kapi (kapi dimenzija većih od 10 μm) izdvajaju i napuštaju komoru preko drenažnog sistema, a fine kapi (dimenzija 5–10 μm) se unose u injektor [80]. Aerosol prolazi kroz komoru za raspršivanje koja propušta samo one kapi koje imaju odgovarajuću veličinu i brzinu za uvođenje u plazmu.

ICP baklja proizvodi plazmu, odnosno predstavlja izvor jona, prelaskom atoma u jone. Plazma koju generiše ICP baklja je gas sa dovoljnom količinom jona i elektrona koji ga čine provodljivim. Plazme koje se koriste u spektrohemijskim analizama su zbirno elektroneutralne, tj. svako pozitivno naelektrisanje jona u ravnoteži je sa slobodnim elektronima. Većina pozitivnih jona je jediničnog naelektrisanja i sa nekoliko negativnih jona i elektrona daje elektroneutralnu plazmu u svakoj jedinici njene zapremine. ICP baklja se sastoji od niza koncentričnih kvarcnih cevi koje su na jednom kraju obavijene radiofrekventnim kalemom kroz koji prolazi čist argon (inertan

gas) [78]. Stvaranje jona iz aerosola odigrava se postupno tako što se kapljice tečnosti koje sadrže matricu uzorka i ispitivane elemente suše do čvrstog stanje a zatim se zagrevaju do isparavanja, atomi putuju kroz plazmu apsorbujući energiju, pri čemu dolazi do cepanja atoma na jedan elektron i jedinično pozitivan jon.

Jonska optika grupiše, odnosno fokusira jone u snop za transport u kvadropol. Smeštena je odmah iznad interfejsa. Pošto su joni nastali u plazmi pretežno pozitivnog naelektrisanja, sa tendencijom međusobnog odbijanja, neophodno je sprečiti širenje snopa jona. Ovo se postiže provođenjem jona kroz naelektrisani jonski cilindar koji se ponaša kao fokusirajuće sočivo. Cilindar je istoimenog naelektrisanja kao i joni, koji se zbog odbojnih elektrostatičkih sila odbijaju od metalnih zidova i formiraju snop, odnosno, maseni spektrometar fokusira jonski zrak pomoću električnog snopa.

Kvadropol ima ulogu masenog filtra koji razdvaja jone na osnovu različitih odnosa mase i naelektrisanja (m/z) [78]. Kvadropol je sastavljen od 4 šipke, dužine oko 20 cm i prečnika oko 1 cm. Kroz ovaj deo uređaja prolaze samo joni određene mase u određeno vreme, odnosno vrši se sortiranje jona na osnovu različitih odnosa mase i naelektrisanja. Odgovarajućom kombinacijom napona i radifrekfencije joni sa odgovarajućim odnosom m/z prolaze između šipki kvadropola i bivaju izbačeni iz njih. Specifičnost masenog spektrometra je u tome što se pomoću njega može podesiti bilo koji odnos m/z radi merenja traženog elementa iz analiziranog uzorka. Iako kvadropol omogućava prolazak samo jedne vrste jona, promena napona na šipkama može da se izvrši jako brzo (od $m/z = 1$ do $m/z = 240$ za manje od 0,1 s). Iz tog razloga se kaže za ICP-MS da je uređaj koji za vrlo kratko vreme može da odredi čitav spektar elemenata uzorka.

Detektor broji pojedinačne jone koji prođu kroz kvadropol [78]. Joni napuštaju maseni spektrometar i udaraju o površinu detektora, uzrokujući merljivi električni signal. Aktivna površina detektora, dinoda, otpušta elektron pri svakom udaru jona, a zatim se vrši pojačavanje procesa. Elektroni otpušteni sa prve dinode pogađaju drugu, koja otpušta još više elektrona a potom se proces nastavlja po kaskadnom principu umnožavajući broj otpuštenih elektrona i na taj način pojačava signal. Ovo pojačavanje se vrši sve dok se ne dobije merljiv puls. Brojanje ovih pulseva detektora u stvari predstavlja brojanje jona koji su udarili o površinu prve dinode.

Vakuum sistem obezbeđuje visoki vakum za optički jon, kvadropol i detektor. Rastojanje između interfejsa i detektora ICP-MS uređaja je obično manje od 1 m i da bi joni prešli ovaj put ne smeju se sudarati međusobno, a ni sa bilo kojim molekulima gasa. U ovome se ogleda neophodnost vakuuma u ovom delu uređaja i potreba uklanjanja skoro svih molekula gasova, što se postiže kombinacijom turbomolekularne i proste mehaničke pumpe, koje zajedno čine vakuum sistem.

Softverski sistem omogućava kontrolu svih delova instrumenata tokom rada, kao i obradu dobijenih rezultata. Upotrebom računarskih sistema za optimizaciju analitičkih procedura postiže se jednostavno rukovanje instrumentom.

2.6. Metode karakterizacije sorpcionog materijala

Karakterizacijom materijala utvrđuju se kvalitativna i kvantitativna svojstva ispitivanog uzorka. Za ispitivanje morfoloških i strukturnih karakteristika materijala može se koristiti veliki broj tehnika. Da bi se potvrdilo prisustvo funkcionalnih grupa, u cilju potpune karakterizacije, koristi se više tehnika na individualnom nivou. Strukturna i fazna analiza adsorpcionih materijala vrši se merenjem difrakcije X zraka (*eng.* X-ray diffraction, XRD). Primenom rendgenske fotoelektronske spektroskopije (*eng.* X-ray photoelectron spectroscopy, XPS) određuju se hemijski oblik aktivirajuće komponente (metala, oksida, hidroksida.) na površini uzorka i oksidaciono stanje metala u površinskim slojevima adsorpcionih materijala. Morfološka svojstva prirodnih i modifikovanih materijala ispituju se primenom skenirajuće elektronske mikroskopije (*eng.* scanning electron microscopy, SEM). Gama spektrometrijskom metodom proverava se sadržaj prirodnih radionuklida u ispitivanom uzorku.

2.6.1 Rendgenska difrakciona analiza

Rendgenska difrakciona analiza (XRD) se koristi u identifikaciji materijala i pomoću nje se može izvršiti kvalitativna i kvantitativna analiza. Ova nedestruktivna analitička metoda služi za određivanje kristalne strukture, hemijskog sastava i fizičkih osobina materijala [81]. Osnovni princip analize zasniva se na prodiranju rendgenskih zraka kroz kristalnu materiju i sposobnosti difrakcije zračenja od strukturnih jedinica kristala (atomi, joni i molekuli). Rendgenski zraci su vrsta elektromagnetnog zračenja talasne dužine od 0,01–10 nm i energije od 120–120 keV. Njihova talasna dužina je

manja od talasne dužine UV zraka, a veća nego kod gama zraka. U nekim jezicima rendgenski zraci se nazivaju X-zracima, kako ih je nazvao naučnik koji ih je otkrio i u čiju čast su kasnije dobili ime (*Wilhelm Conrad Rontgen*). Rendgenski zraci talasne dužine u opsegu od 10,0–0,10 nm zovu se “meki”, a od 0,10–0,01 nm “tvrđi” zbog sposobnosti prodiranja.

Prilikom prolaska fotona rendgenskog zraka kroz uzorak dolazi do njegovog sudara sa atomima ili jonima koji postaju izvor novog rendgenskog zračenja (sekundarni izvor). Novo rendgensko zračenje koje potiče od pobuđenih atoma ili jona (talasi skreću sa prvobitnog pravca kretanja) rasprostire se od strukturnih jedinki radijalno u svim pravcima. Usled prisustva velikog broja izvora rendgenskog zračenja, dolazi do interferencije pojedinih talasa, pri čemu se neki talasi poništavaju dok se neki pojačavaju u zavisnosti od međusobnog položaja samih izvora zračenja [82]. Ovi zraci se mere u difrakcionim ekperimentima jer nose informaciju o raspodeli elektrona u ispitivanom materijalu.

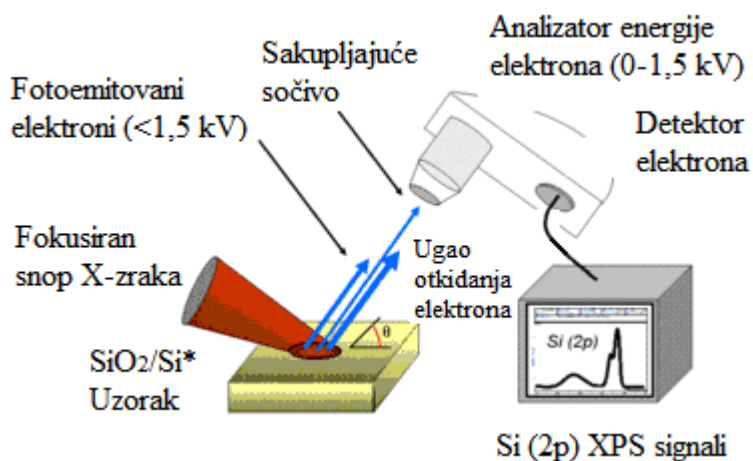
Uzorak supstance čije se kristalografske karakteristike određuju primenom difrakcije rendgenskih zraka može se snimati u obliku praha a ne samo monokristala. Metoda difrakcije rendgenskog zračenja na prahu uspešno se koristi za [83]:

- identifikaciju monofaznih i višefaznih kristalnih jedinjenja;
- identifikaciju smeše kristalnih jedinjenja;
- određivanje kristalne strukture prethodno identifikovanih materijala;
- određivanje stepena kristalnosti u nepotpuno amorfnim materijalima;
- određivanje prisutnih faza na osnovu odnosa intenziteta pikova;
- određivanje veličine kristala na osnovu širenja pikova;
- određivanje oblika kristalita proučavanjem simetrije pikova.

Difraktogram monokristala sadrži pravilno raspoređene tačke na osnovu kojih se određuju karakteristični parametri kristala, a kod polikristala difraktogram se sastoji od karakterističnih difrakcionih linija. Što su kristali koji se ispituju sitniji, tako su i difrakcione linije difuznije ili manje oštre [82]. XRD metodu karakteriše: pouzdanost i brza identifikacija materijala, jednostavna priprema uzorka, dostupnost uređaja i relativno neposredna interpretacija podataka [83].

2.6.2 Fotoelektronska spektroskopija rendgenskih zraka

Rendgenska fotoelektronska spektroskopija (XPS) je kvantitativna tehnika koja služi za određivanje atomskog sastava, empirijske formule, hemijskog i elektronskog stanja elemenata koji se nalaze unutar ispitivanog materijala [84]. XPS se sreće i pod nazivom ESCA (*eng.* electron spectroscopy chemical analysis), što je skraćenica za elektronsku spektroskopsku hemijsku analizu koju je prvi put uveo u literaturu švedski fizičar Kai Sigban (*Kai Siegbahn*), dobitnik Nobelove nagrade za fiziku 1981. godine. XPS je tehnika površinske hemijske analize, koja se koristi u analizi hemije površine materijala [85]. Koristi za određivanje: i) atomskog sastava površine (gornji deo debljine od 1–10 nm), ii) empirijske formule čistih materijala, iii) elemenata koji su kontaminirali površinu, iv) hemijskog ili elektronskog stanja svakog elementa na površini, v) uniformnosti elementalnog sastava gornje površine (metodom profilisanja linije ili mapiranjem), vi) uniformnosti elementalnog sastava u funkciji jonskog snopa za nagrizanje (profilisanje po dubini) [85]. XPS spektri se dobijaju ozračivanjem materijala sa snopom rendgenskog zračenja, uz istovremeno merenje kinetičke energije i broja elektrona koji se emituju iz pripovršinskog sloja materijala koji se analizira. Osnovni delovi XPS instrumenta prikazani su na Slici 7.



Slika 7. Osnovni delovi monohromatskog XPS instrumenta [86]

XPS tehnika detektuje sve elemente sa rednim brojem (Z) većim od 3 (litijum). Ne može da se koristi za detekciju vodonika ($Z=1$) ili helijuma ($Z=2$) čiji je prečnik orbitala toliko mali da je i verovatnoća interakcije zračenja sa elektronima iz orbitala minimalna. Granice detekcije za većinu elemenata su reda ppm. Da bi se postigao takav

nivo detekcije, neophodno je ispuniti određene uslove, kao npr. da je dati element koncentrisan na gornjoj površini ili da je na raspolaganju tokom dužeg vremena prikupljanja signala. XPS zahteva uslove izuzetno visokog vakuuma (*eng.* ultra high vacuum, UHV) [84]. Tipičan XPS spektar predstavlja se kao dijagram broja detektovanih elektrona (ponekad po jedinici vremena) (y-osa, ordinata) u odnosu na energiju vezivanja registrovanih elektrona (x-osa, apscisa). Zbog veze između energije rendgenskog zračenja i talasne dužine, elektronska energija veze svakog od emitovanih elektrona može se odrediti pomoću jednačine koja je zasnovana na Radefordovoj formuli (*Ernest Rutherford*, 1914) [85]:

$$E_{\text{veze}} = E_{\text{fotona}} - (E_k + \phi) \quad (4)$$

gde je E_{veze} energija vezivanja elektrona, E_{fotona} energija fotona rendgenskog zračenja, E_k kinetička energija elektrona merena instrumentom i ϕ radna funkcija spektrometra. Svaki element proizvodi karakterističan skup pikova kojima odgovaraju karakteristične vrednosti energija vezivanja, koje direktno identifikuju svaki element koji postoji na površini materijala koji se analizira. Ovi karakteristični pikovi odgovaraju elektronskoj konfiguraciji elektrona unutar atoma, npr. 1s, 2s, 2p, 3s itd. Broj registrovanih elektrona u svakom od karakterističnih pikova direktno je povezan sa količinom elementa u oblasti (zapremeni), koja je ozračena. Da bi se dobile atomske vrednosti izražene u procentima, svaki izvorni XPS signal mora biti ispravljen, tako što se intenzitet datog signala (broj detektovanih elektrona) deli sa faktorom „relativne osetljivosti“ (*eng.* relative sensitive factor, RSF) i normalizuje u odnosu na sve elemente koji su registrovani [85]. Prebrojavanje broja elektrona kod XPS za svaku vrednost kinetičke energije, uz minimalnu grešku, izvodi se u uslovima ultra visokog vakuuma, jer je detektor za brojanje elektrona obično udaljen oko jedan metar od materijala, koji je izložen rendgenskim zracima. XPS otkriva samo one elektrone koji su „izbegli“ vakuum instrumenta. Foto-emitovani elektroni koji su „izbegli“ vakuum instrumenta su elektroni koje potiču iz prvih 10–12 nm materijala. Svi dublje foto-emitovani elektroni, koji su generisani prodorom rendgenskog zračenja na dubinu materijala od 1–5 μm , bivaju ponovo zahvaćeni ili zarobljeni u različitim pobuđenim stanjima unutar datog materijala [84].

2.6.3 Skenirajuća elektronska mikroskopija

Skenirajuća elektronska mikroskopija (SEM) je moderna instrumentalna tehnika koja se koristi za ispitivanje mikroskopskih karakteristika uzoraka različitog porekla. SEM koristi usmereni snop elektrona sa visokim sadržajem energije da bi proizveo niz signala sa površine čvrstih uzoraka. Izvor elektrona je spirala od volframa, a zahvaljujući naponu anode koji je za 40–100 kV veći od napona volframove spirale, elektroni bivaju ubrzani prema anodi jakom silom. Deo elektrona prolazi velikom brzinom kroz otvor na anodi i nastavlja put ka objektu snimanja i elektromagnetskim sočivima gde se fokusira po potrebi. Objekat snimanja se postavlja u fokusnu ravan objektiva a njegova slika se dalje uveličava u još nekoliko stupnjeva. Da se kretanje elektrona ne bi ograničilo, u koloni mikroskopa je neophodno obezbediti visok vakuum. Žižna daljina elektromagnetskog sočiva je promenljiva i smanjuje se povećanjem napona magnetnog polja. Objekat koji se snima mora biti potpuno suv a živi objekti se ne mogu snimati [87].

Kod skenirajućeg elektronskog mikroskopa slika objekta se dobija registrovanjem elektrona koji se rasipaju od uzorka i na taj način daju informacije o morfologiji, hemijskom sastavu, kristalnoj strukturi, orijentaciji i električnoj provodljivosti ispitivanog uzorka. Signali koji se detektuju (rasuti elektroni) se prema načinu emisije mogu podeliti na: sekundarne (SE), povratno rasute elektrone (BSE), karakteristične X zrake, vidljiva svetlost (katodna luminiscencija) i toplotno zračenje [84]. Primarni elektroni prodiru u uzorak i podležu elastičnom i neelastičnom rasipanju. Sekundarni elektroni se uglavnom emituju od strane tankog površinskog sloja debljine 1–10 nm i daju informaciju o morfologiji i topografiji uzorka. BSE elektroni potiču pre svega od refleksije u dubljim slojevima uzorka i ilustruju kontraste u sastavu kod višefaznih uzoraka. X-zraci daju informaciju o hemijskom sastavu uzorka i rasprostranjenosti različitih elemenata u uzorku (*eng.* electron dispersive technique, EDS). Zahvaljujući katodnoj luminiscenciji moguće je mapiranje sadržaja retkih zemnih i prelaznih metala u uzorku.

SEM metoda pruža značajne prednosti u odnosu na konvencionalne tehnike i karakteriše se relativno lakom pripremom uzorka, mogućnošću neposrednog posmatranja strukture uzorka u tri dimenzije i neuporedivo većim uvećanjem.

Savremeni elektronski mikroskopi dostižu uvećanje oko 500 000 puta. Priprema uzorka za SEM nije zahtevna obzirom da se ovom metodom dobijaju informacije o strukturi površine. Ukoliko materijal ima dovoljno veliku električnu provodljivost da spreči naelektrisanje prouzrokovano bombardovanjem elektrona, uzorci debljine do nekoliko milimetara se mogu direktno ispitivati. Ukoliko ovo nije slučaj, uzorak se prevlači tankim slojem elektroprovodnog materijala tako što se u visokovakuumske komori vertikalno ili pod uglom od 60° naporava ugljenikom ili metalima zlata, srebra, platine i dr. Špricanje se sve više koristi kao metoda metalizacije jer se smatra relativno jeftinom, brzom i efikasnom. SEM analiza je nedestruktivna metoda jer prilikom emitovanja rendgenskog zračenja ne dolazi do gubljenja mase uzorka, tako da je moguće ponoviti analizu istog materijala više puta [87].

2.6.4 Gama spektrometrija

Gama spektrometrija ima veliki značaj u fundamentalnim istraživanjima, kako u astrofizici tako i u nuklearnoj fizici i fizici čestica. Ova razvijena metoda fizičko-hemijske analize koristi se za identifikaciju prisutnih jezgara u ispitivanim uzorcima. Osnovni princip rada gama spektrometrije jeste da se ispitivani uzorak izloži delovanju γ zračenja (određene energije) pri čemu dolazi do emitovanja fotona. Spektar emitovanih fotona pri raspadu jezgra zavisi od prirode ozračenog jezgra. Određivanjem broja emitovanih gama fotona u jedinici vremena iz nekog izvora u funkciji energije može se dobiti informacija o ispitivanom uzorku.

Detektorski sistemi, čija je radna supstanca poluprovodnik - germanijum, najčešće se koriste u praksi. Germanijumski detektori imaju najbolju rezoluciju za detekciju energije gama kvantata u intervalu energija od nekoliko eV do 10 MeV. Veoma važna karakteristika detektora je vreme odziva. To je vreme potrebno da se generiše signal nakon pristizanja zračenja u detektor i poželjno je da bude što kraće.

Određivanje koncentracije aktivnosti ispitivanog uzorka moguće je kompletnom obradom spektra, što se čini uz pomoć softvera za gama spektrometriju. Uz prethodno izvršenu energetska kalibraciju spektrometra, softver može automatski da identifikuje prisutna jezgra u uzorku koji se analizira.

2.7. Antimikrobni testovi

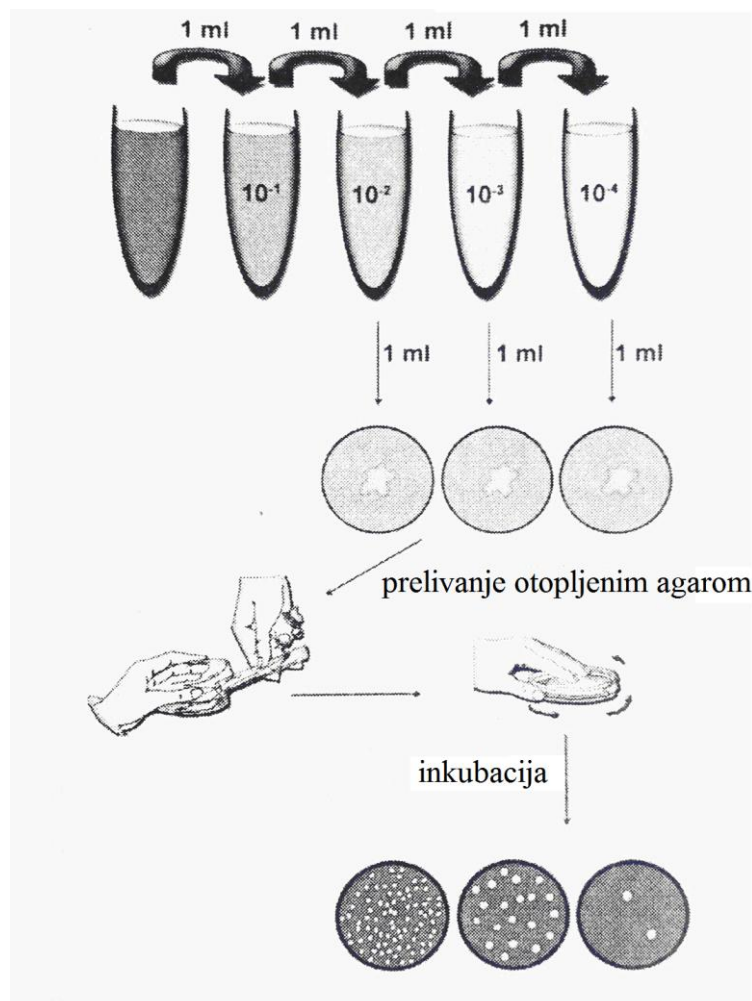
Antimikrobni testovi aktiviranih sorbenata modifikovnih jonima metala izvršeni su na sledećim mikrobiološkim kulturama: Gram-negativnoj bakteriji *Escherichia coli* (*E. coli*), Gram- pozitivnoj bakteriji *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) i plesni *Candida albicans* (*C. albicans*). Ovi mikrobi su odabrani jer pripadaju različitim vrstama mikroorganizama i često se javljaju kao indikatorski organizmi u mikrobiološkom ispitivanju vode.

2.7.1 Određivanje broja mikroorganizama

Rast i razmnožavanje mikroorganizama su osnovne osobine praćene povećanjem broja i mase mikrobnih ćelija. Taj porast može da se prati kvalitativno i kvantitativno. Pokazatelji kvalitativne promene u tečnim podlogama mogu biti zamućenja podloge, stvaranje taloga ili pojava navlake. Na čvrstim podlogama se posmatraju kolonije, njihova veličina i broj. Sam naziv kolonija potiče od latinske reči *colonia*, što znači naseobina [8]. Kolonije se mogu nalaziti na samoj površini čvrste hranljive podloge ili u njenoj dubini. Određivanje morfoloških osobina kolonije jedan je od parametara koji se uzima u obzir pri identifikaciji određene grupe mikroorganizama, jer su oblik, spoljašnji izgled kolonije i njena veličina tipični za svaku vrstu mikroorganizama. Kvantitativno praćenje porasta mikroorganizama može se izvesti raznim metodama za brojanje ćelija. Ove metode mogu biti direktne i indirektne. U ovom istraživanju korišćena je indirektna metoda brojanja, poznatija kao Kohova metoda agarne ploče [20].

2.7.2 Kohova metoda agarne ploče (*Pour plate*)

Kohova metoda agarne ploče je indirektna metoda određivanja broja mikroorganizama. Osnovni princip metode zasniva se na brojanju izraslih kolonija nakon inkubiranja na čvrstoj podlozi (u Petrijevoj šolji). Rad na izvođenju ove metode se može podeliti u nekoliko koraka (prikazanih na Slici 8): priprema uzorka, priprema razblaženja, zasejavanje i inkubacija i brojanje izraslih ćelija [20].



Slika 8. Analitička postupci kod primene Kohove metode [20]

Priprema uzorka

Da bi se metoda izvela što preciznije, neophodna je dobra homogenizacija uzorka. Ukoliko je uzorak u tečnom stanju i ako je boca u kojoj se nalazi uzorak delimično puna, boca se mućka 25 puta. Ako je boca sa uzorkom puna, potrebno je brzo okrenuti bocu 25 puta da bi se sadržaj izmešao, zatim jednu četvrtinu uzorka proliti, a preostalu količinu uzorka promućkati 25 puta. Ako je materijal koji se ispituje u čvrstom stanju, potrebno je da se izvrši njegova homogenizacija u avanu ili u rastvoru za razblaživanje sa staklenim kuglicama ili u homogenizatoru kako bi se dobila sterilna suspenzija. Čvrsti materijali koji su rastvorljivi u vodi ili daju fine vodene suspenzije (na primer: zemlja, brašno, mleko u prahu i sl), mogu se direktno mešati u određenoj količini u sterilnom rastvoru za razblaživanje (fiziološkog rastvora). Iz dobro izmešanog

uzorka se priprema serija razblaženja, u kojoj je svako novo razblaženje 10 puta veće od prethodnog.

Priprema razblaženja

Metoda decimalnog razblaživanja je jedna od najstarijih metoda korišćenih u mikrobiološkoj analitici. Sastoji se u tome da se u tečnoj sredini vrši postupno razređivanje kulture ili suspenzije, sve dok se ne postigne željeno razblaženje. Ovaj način se kombinuje sa korišćenjem čvrstih hranljivih podloga. Serije decimalnih razblaženja iz tečnog uzorka se pripremaju tako što se 1 mL homogenata (pripremljene suspenzije mikroorganizama sa uzorkom) doda u 9 mL sterilnog fiziološkog rastvora kako bi se napravilo 10^{-1} razblaženje. Iz ove epruvete se dalje prenosi 1 mL u drugu epruvetu fiziološkog rastvora (9 mL) gde se dobija razblaženje 10^{-2} , iz koga se na isti način prave sledeća razblaženja do željenog krajnjeg razblaženja (iz druge u treću epruvetu sa razblaženjem 10^{-3} ; iz treće u četvrtu – 10^{-4}). Tačnost merenja zapremine mora biti u opsegu od $\pm 2\%$, a tačnost merenja homogenata uzorka u granicama do $\pm 5\%$. Za postizanje tačnosti u pripremi rastvarača preporučuje se korišćenje automatskih pipetora, a za pravljenje homogenata automatske pipete sa sterilnim nastavcima za jednokratnu upotrebu.

Zasejavanje i inkubacija

Iz svake epruvete, odnosno dobijenog razblaženja, prenosi se 1 mL suspenzije u Petrijevu šolju u koju se razliva rastopljena čvrsta podloga (ohlađena). Uspešnost izvođenja Kohove metode zavisi od pravilnog temperiranja istopljenog agara. Boce sa otopljenim agarom treba držati u vodenom kupatilu na temperaturi od 44–47 °C. Po pravilu, otopljeni agar treba iskoristiti maksimalno u toku 8 h, a poželjno za 3 sata i ne treba ga ponovo topiti nakon očvršćivanja. Nakon razlivanja prohladenog agara, Petrijeva šolja se pomera u različitim pravcima po ravnoj površini stola sve dok se kultura i podloga ne pomešaju ravnomerno i ne razliju po celoj površini šolje. Petrijeva šolja se još neko vreme ostavi na stolu sve dok se podloga u njoj sasvim ne stegne. Inokulisane agarne ploče treba staviti u inkubator odmah nakon očvršćivanja agara. Nakon inkubacije, vrši se brojanje izraslih mikroorganizama unutar agara.

Brojanje izraslih ćelija

Za brojanje se uzimaju u obzir one Petrijeve šolje u kojima su kolonije pojedinačne i ravnomerno raspoređene. U Petrijevim šljama sa 30 do 300 kolonija (u slučaju standardne ploče prečnika 8–9 cm), broje se sve kolonije. Brojanje se vrši golim okom ili lupom. Prilikom brojanja Petrijeva šolja se postavlja tako da je poklopac sa donje strane, a dno šolje sa donje, pa se spolja po staklu svaka izbrojana kolonija obeleži tušem ili flomasterom za staklo. Radi lakšeg brojanja, dno Petrijeve šolje se može podeliti na jednake sektore, pri čemu se izbroje kolonije u nekoliko sektora, nađe se srednja vrednost i pomnoži ukupnim brojem sektora na Petrijevoj šolji. Broj izraslih kolonija pomnožen sa razblaženjem uzorka koji na napravljen i nanet na Petrijevu šolju, predstavlja broj obrazovanih kolonija ili CFU/mL (eng. colony forming units, CFU). Na Slici 11 prikazane su izrasle ćelije odabranih mikrobnih kultura: *E. coli*, *S. aureus* i *C. albicans*.



Slika 9. Ćelije odabranih mikrobnih kultura: *E. coli*, *S. aureus* i *C. albicans*

III EKSPERIMENTALNI DEO

3.1 Korišćeni materijali

Za eksperimente obuhvaćene ovim istraživanjem korišćeno je jedanaest različitih materijala koji su podeljeni u tri osnovne grupe prema svom poreklu:





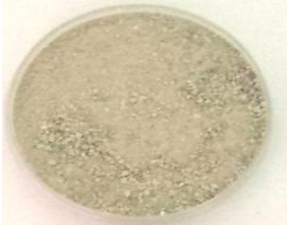
a) *prirodni-sirovi* sorbenti (obeleženi kao grupa A, u Tabeli 1): zeolit, Z (poreklom iz Mare Baia, Rumunija, $(\text{Na}_{0.52}\text{K}_{2.44}\text{Ca}_{1.48})(\text{Al}_{6.59}\text{Si}_{29.41}\text{O}_{72})(\text{H}_2\text{O})_{28.64}$); bentonit, B (poreklom iz Birač, Zvornik, Bosna i Hercegovina, $\text{Na}_{0.2}\text{Ca}_{0.1}\text{Al}_2\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2(\text{H}_2\text{O})_{10}$); sepiolit, S (poreklom iz Antići, Čačak, Srbija, $(\text{Si}_{12}\text{O}_{30}\text{Mg}_8(\text{OH})_4(\text{H}_2\text{O})_4 \cdot 8(\text{H}_2\text{O}))$); kalcit, K (poreklom iz centralne Bosne i Hercegovine, $(\text{Mg}_{0.03}\text{Ca}_{0.97})(\text{CO}_3)$) i kvarcni pesak, KP (sa obale reke Save, Beograd, Srbija, $\alpha\text{-SiO}_2$);

b) *prirodni-modifikovani* sorbenti (obeleženi kao grupa B, u Tabeli 1): praškasti aktivni ugalj, PAC (Kemika, Zagreb, Hrvatska); granularni aktivni ugalj, GAC (Karbozjak, Kruševac, Srbija) i aktivna alumina, AL (Fisher Scientific, St. Louis, SAD) i

c) *sintetički* sorbenti (obeleženi kao grupa C u Tabeli 1): veštački zeolit, VZ (Hopkin and Williams, London, Velika Britanija); titan-dioksid, T (Adsorbisia AS500, Dow, France) i jonoizmenjivačka smola, JIS (Amberlit Resin IR-120H, BDH Engleska).

U Tabeli 2 prikazan je izgled različitih tipova materijala koji su korišćeni u preliminarnim adsorpcionim i desorpcionim testovima. Osnovne komponente i njihov sadržaj (izražen u %), BET specifična površina (izražena u m^2/g) i raspodela veličine čestica (izražena u μm) prikazani su u Tabeli 3. Ovi podaci daju informaciju o adsorpcionim svojstvima testiranih materijala. Pre upotrebe, materijali su isprani destilovanom vodom, sušeni 2 h na $105\text{ }^\circ\text{C}$ i odloženi u eksikator. Uzorci su potom usitnjeni i homogenizovani u avanu sa tučkom. Izvršen je minimalan broj tretmana za eksperimentalnu pripremu materijala, uzimajući u obzir njihovu buduću praktičnu namenu.

Tabela 2. Različiti tipovi materijala koji su korišćeni u preliminarnim sorpcionim i desorpcionim testovima

		Sorbent	Izgled materijala
PRIRODNI MATERIJALI	A. SIROVI	Zeolit (Z)	
		Bentonit (B)	
		Sepiolit (S)	
		Kalcit (C)	
		Kvarcni pesak (KP)	

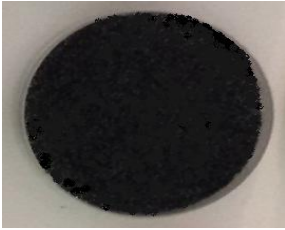

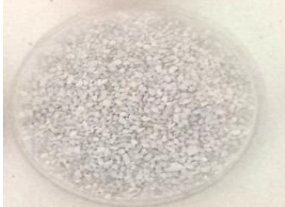



		Sorbent	Izgled materijala
PRIRODNI MATERIJALI	B. MODIFIKOVANI	Praškasti aktivni ugalj (PAC)	
		Granulisani aktivni ugalj (GAC)	
		Aktivna alumina (AL)	
SINTETIČKI MATERIJALI		Veštački zeolit (VZ)	
		Titan-dioksid (T)	
		Jonoizmenjivačka smola (JIS)	

Tabela 3. Osnovne komponente i njihov sadržaj (izražen u %), BET specifična površina (m^2/g) i raspodela veličine čestica (mm) testiranih materijala

Sorbent		Komponenta, %	BET specifična površina, m^2/g	Veličina čestica, mm	Referenca	
PRIRODNI MATERIJALI	A. SIROVI	Zeolit (Z)	Klinoptilolit, 80,0	45,7	0,40–0,80	[88]
		Bentonit (B)	SiO ₂ , 55,0 Al ₂ O ₃ , 16,8	59,3	< 0,074	[30]
		Sepiolit (S)	SiO ₂ , 57,0 MgO, 28,6	268	< 0,074	[30]
		Kalcit (K)	CaCO ₃ , 85	9,80	0,001	Ovo istraživanje
		Kvarcni pesak (KP)	SiO ₂ , 76,0	2,60	0,20-0,55	Ovo istraživanje
	B. MODIFIKOVANI	Praškasti aktivni ugalj (PAC)	Ugljenik, 91,9	1014	0,023	[89]
		Granulisani aktivni ugalj (GAC)	Ugljenik, 63,3	1436	0,355-1,600	[90]
		Aktivna alumina (AL)	Al ₂ O ₃ , 90,0	230	0,50–2,00	Ovo istraživanje
SINTETIČKI MATERIJALI	Veštački zeolit (VZ)	/	280	0,45–1,50	Ovo istraživanje	
	Titan-dioksid (T)	Titan-dioksid, 89,0	250	0,25–1,25	[91]	
	Jonoizmenjivačka smola (JIS)	/	300	0,354–0,841	Ovo istraživanje	

3.2 Proces aktivacije

U preliminarnim istraživanjima izvršeno je testiranje svih odabranih materijala, prikazanih u Tabeli 3, za adsorpciju Ag⁺, Cu²⁺ i Zn²⁺ jona iz njihovih standardnih rastvora. Na osnovu dobijenih sorpcionih i desorpcionih kapaciteta, uzimanjući u obzir prirodu materijala, kao i njihovu buduću namenu, izvršen je izbor materijala za dalja antimikrobna testiranja. Aktivacija materijala je izvršena prema ekperimentalnoj proceduri koja je opisana u daljem tekstu.

3.2.1 Reagensi

Tokom izrade eksperimentalnog dela ovog istraživanja korišćene su hemikalije visoke čistoće: Merck, Darmstadt, Nemačka (Ag_2SO_4 , $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) i Sigma-Aldrich, SAD (HNO_3). Ispiranje uzoraka i pravljenje rastvora, za sve sorpcione i desorpcione eksperimente, vršeno je dejonizovanom vodom otpornosti $18 \text{ M}\Omega \text{ cm}$. Početni aktivacioni rastvori (standardni rastvori) Ag^+ -, Cu^{2+} - i Zn^{2+} - jona, dobijeni su rastvaranjem 1,0 soli g Ag_2SO_4 , $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ i $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ u 1 L dejonizovane MiliQ vode. Dobijene su koncentracije odgovarajućih soli od 3,2, 4,0 i 3,5 mmol/dm^3 , respektivno.

3.2.2 Sorpcioni eksperiment

Seriya eksperimenata, izvršenih u šaržnom procesu sorpcije, izvedena je kako bi se uporedili sorpcioni kapaciteti 11 različitih sorbenata za Ag^+ -, Cu^{2+} - i Zn^{2+} - jone. Eksperimenti se rađeni prema sledećoj proceduri: od 1,0 do 4,0 g čvrstog uzorka je dodato u 100 mL standardnog rastvora metala. Proces sorpcije je bio stimulisan orbitalnim šejkerom, mešanjem na $170 \text{ obrtaja min}^{-1}$, na sobnoj temperaturi od $21 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$, u vremenskom intervalu od 3 min do 24 h. Na Slici 12 prikazan je orbitalni šejker, tipa uređaja: *Heidolph ROTAMAX 120*, koji je korišćen u eksperimentalnoj proceduri. Alikvoti od 1 mL su uzorkovani na 3, 5, 10, 15 i 30 min od početka procesa, kao i nakon 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 12 i 24 h. Sorbenti i rastvori su dalje razdvojeni filtracijom preko standardnog laboratorijskog filter papira (*MF-Millipore* membranski filter, promera $0.45 \mu\text{m}$). Nakon razdvajanja faza, sorbenti su bili izloženi na ambijentalnom vazduhu tokom 24 h, a zatim sušeni 2 h na $105 \text{ }^\circ\text{C}$. Aktivirani materijali su potom mereni na analitičkoj vagi (tip uređaja: *Radwag model mza5.3y*, Radom, Poland) i korišćeni u desorpcionom eksperiment. Koncentracija metala u sakupljenim alikvotima i filtratima određena je korišćenjem ICP-OES tehnike.

3.3 Desorpcioni eksperiment

Desorpcije Ag^+ -, Cu^{2+} - i Zn^{2+} - jona sa aktiviranih sorbenata ispitana je u šaržnom procesu. Aktivirani sorbenti, prethodno osušeni i izmereni nakon procesa aktivacije (sorpcije), potopljeni su u 100 mL dejonizovane vode, na temperaturi od $20 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$. Uzorci su mešani na orbitalnom šejkeru, na $50 \text{ obrtaja min}^{-1}$. Alikvoti od 1 mL su

uzorkovani na 3, 5, 10, 15 i 30 min od početka procesa desorpcije; kao i nakon 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 12 i 24 h. Po završetku desorpcije, sorbenti i rastvori su razdvojeni, filtrirani i sušeni prema istom postupku primenjenom nakon aktivacionog procesa. Alikvoti su uzokovani u 14 mernih tačaka i sakupljeni u mikrotubama od 1,5 mL. Razdvajanje faza (čvrstih čestica i tečne faze u alikvotima) postignuto je korišćenjem ultra centrifuge (tip uređaja: *Heraeus Sepatech Biofuge 13*) na 12 000 obrtaja min^{-1} , u trajanju od 5 min. Koncentracija jona metala u supernatantu određena je korišćenjem ICP-MS tehnike.



Slika 10. Orbitalni šejker *Heidolph ROTAMAX 120*

3.4 Određivanje koncentracije jona

3.4.1 Koncentracija jona nakon procesa sorpcije

Koncentracija jona metala nakon procesa sorpcije, određena je korišćenjem ICP-OES tehnike (tip uređaja: *Thermo iCAP 6500 system*, opremljen sa *Thermo iTEVA* softverom, koncentričnim nebulajzerom i *Cyclonic* komorom za raspršivanje uzorka). Eksterna kalibracija je izvršena sa *Certipur Merck* standardima od 1000 mg/L. Pripremani su standarni rastvori za svaki element pojedinačno. Kalibracioni blenk, kalibracioni standardi i uzorci kondicionirani su sa 65 % HNO_3 (*Trace Select*, Sigma-Aldrich). Detekcioni limit za Ag^+ - jone je bio 0,02 mg/L, na talasnoj dužini od 328,068 nm. Uzorci u kojima je određivan sadržaj Ag^+ - jona čuvani su u tamnim vijalicama (kako bi se sprečila redukcija Ag^+ - jona na svetlosti). Ovi rastvori su kondicionirani, centrifugirani i potom je vršeno određivanje koncentracije Ag^+ - jona. Tačnost i preciznost merenja proverena je korišćenjem *LGC ERM-CA011* referentnog materijala.

Detekcioni limit za Cu^{2+} - jone bio je 0,02 mg/L i za Zn^{2+} - jone 0,05 mg/L, na talasnim dužinama od 324,754 i 206,200 nm, respektivno. Određivanje koncentracije Cu^{2+} - i Zn^{2+} - jona vršeno je u roku od 3 dana od završetka eksperimenta. Ukoliko je merenje rađeno kasnije, uzorci su kondicionirani dodatkom 10 μL 65 % HNO_3 kako bi se sprečila potencijalna hidroliza soli Cu^{2+} - i Zn^{2+} - jona.

3.4.2 Koncentracija jona nakon procesa desorpcije

Koncentracija jona metala nakon procesa desorpcije određena je pomoću *Thermo iCAP Qc* ICP-MS instrumenta. Eksterna kalibracija izvršena je sa standardima od 1000 mg/L, *Certipur* Merck, pojedinačno za svaki analizirani jon. Kalibracioni standardi su rastvarani u 1 % HNO_3 (Fluka Analytical *Trace Select* HNO_3). Kao interni standard za određivanje Ag^+ - jona korišćen je indijum, dok je za Cu^{2+} - i Zn^{2+} - jone korišćen itrijum. Nakon svakih 10 merenja, vršena je kontinualna kalibraciona provera (*eng. continuing calibration verification, CCV*) kako bi se obezbedila pouzdanost instrumentalne kalibracije. Za pripremu CCV korišćeni su *Accu* standardi, ICP multielementarni standardi *MES 21-1*. Sertifikovani referentni materijal (*eng. certified reference material, CRM*) *ERM CA011b* je meren nerazblažen kako bi se izvršila verifikacija ukupnog mernog postupka i ove vrednosti su bile u opsegu od 85–115 % što je prihvatljivo prema standardu *EPA 200*.

3.5 Karakterizacija aktiviranih sorbenata

3.5.1 Rendgenska difrakciona analiza

Struktorna i fazna analiza adsorpcionih materijala izvršena je merenjem difrakcije X zraka na *ENRAF NONIUS FR590* (Bruker AXS, MA, USA) XRD instrumentu sa *Vario 1* monohromatorom (Cuka1 radiation, $\lambda=1,54059 \text{ \AA}$). Podaci su prikupljeni u rasponu od 10 do 80° (2θ ugla), sa korakom od 0,05° i vremenskom pauzom od 8 s. Difraktogram prirodnih uzoraka poređen je sa standardima uzoraka u obliku praha (PDF2), gde su korišćene referentne kartice za: aktivni ugalj (89-7213), klinoptilolit ((89-7539) i titan-dioksid (86-1157).

3.5.2 Fotoelektronska spektroskopija rendgenskih zraka

XPS tehnika korišćena za površinsku analizu sirovih i aktiviranih sorbenata izvedena je na tipu uređaja *SPECS System* sa *XP50M* X-izvorom zraka za *Focus 500* i *PHOIBOS 100/150* analajzerom. Izvor AlK α (1486,74 eV) na 12,5 kV i 32 mA korišćen je za ovo istraživanje. XPS spektri su dobijeni na radnim pritiscima u opsegu od $3 \cdot 10^{-8}$ do $2 \cdot 10^{-9}$ mbar. Široki spektri su snimani od 1100 do -5 eV, sa energetske korakom od 0,5 eV, vremenom od 0,2 s i energijom prolaza od 40 eV u režimu stalnog analizatora prenosa (*eng. fixed analyzer transmission, FAT*). Spektar visoke rezolucije za svaki uzorak sniman je od 360 do 380 eV, što uključuje Ag 3d fotoelektronske linije, odnosno u opsegu od 930–960 i 1020–1050 eV, za Cu 2d i Zn 2p fotoelektronske linije, respektivno. Visokorezolucioni spektar je sniman sa energetske korakom od 0,1 eV, vremenom od 1 s i energijom prolaza od 20 eV u FAT režimu. Za Ag/Z, Ag/T, Cu/Z i Zn/Z uzorke korišćen je gumeni nastavak kako bi se podesila C 1s energija od 284,8 eV. Spektri su sakupljeni u *SpecsLab* sistemu za obradu podataka i analizirani sa *CasaXPS* softverskim paketom, istog proizvođača.

3.5.3 Skenirajuća elektronska mikroskopija

Morfološka svojstva prirodnih i Ag⁺-, Cu²⁺- i Zn²⁺-modifikovanih sorbenata ispitana su primenom skenirajuće elektronske mikroskopije emisijom elektrona-primenom polja (FE-SEM) na *TESCAN MIRA3* elektronskom mikroskopu. Nakon nanošenja tankog filma zlata na prirodne i modifikovane sorbente, uzorci su snimani na 20 keV. Prečnik nanočestica jona metala određen je primenom *MIRA TESCANA in-situ* softvera.

3.6 Antimikrobni testovi

3.6.1 Reagensi i mikrobne kulture

Antimikrobna aktivnost metalom aktiviranih sorbenata testirana je za sledeće mikrobne kulture: Gram-negativnu bakteriju, *E. coli* (ATCC 25922, Microbiologics, USA), Gram-pozitivnu bakteriju, *S. aureus* (ATCC 25923, Microbiologics, USA) i plesan *C. albicans* (ATCC 24433, Microbiologics, USA). Čvrsti supstrati *E. coli* i *S. aureus* pripremani su sa Agarom za ukupni broj mikroorganizama (*Plate count agar*,

Torlak, Serbia), dok je Saburo maltozni agar (*Sabouraud maltose agar*, Torlak, Serbia) korišćen za rast *C. albicans*. Za pripremu fiziološkog rastvora 0,9 %, korišćen je NaCl analitičke čistoće, proizvođača Merck (Darmstadt, Germany).

Rastvaranje suvih podloga izvršeno je prema proceduri:

- tačno odmerena količina praha suve podloge (23,5 praha Agara za ukupni broj mikroorganizama i 65,0 g Saburo maltoznog agara) sipa se u 1 L hladne destilovane vode (pH 5,5 –6,5) i ostavi da odstoji 15 min;
- podloga se zagreva do ključanja, uz mešanje na grejnoj ploči ili u vodenom kupatilu;
- podloga se zagreva dok se suvi prah u potpunosti ne rastvori, potom se sterilizuje u autklavu na 121 °C, ohladi na 50 °C i sterilno razlije u Petrijeve šolje.

Ovako pripremljene podloge za Agar za ukupni broj mikroorganizama i Saburo maltozni agar imale su sledeće pH vrednosti (na 25 °C): $7,0 \pm 0,2$ i $5,6 \pm 0,2$, respektivno.

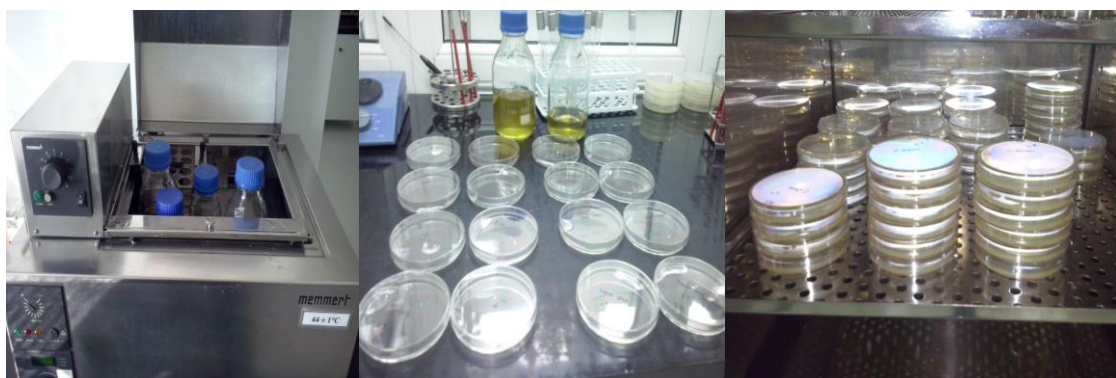
3.6.2 Antimikrobni testovi metalom aktiviranih sorbenata

Antimikrobna aktivnost metalom aktiviranih sorbenata testirana je na kulturama *E. coli*, *S. aureus* i *C. albicans*, koristeći standardni test razblaženja. (*eng.* standard dilution method). Masa od 0,1 g svakog metalom aktiviranog sorbenta (uzorci obeleženi sa: Ag/GAC, Ag/Z, Ag/T, Cu/GAC, Cu/Z, Zn/GAC i Zn/Z) dodata je u epruvetu sa 9,9 mL sterilnog 0,9 % NaCl rastvora, pH 6,2. Fiziološki rastvor je inokuliran sa 0,1 mL mikrobne kulture, koja je sveže uzgajana preko noći. Epruvete su potom inkubirane u vodenom kupatilu na 150 obrtaja min^{-1} , u intervalu od 15 do 20 min, na temperaturi od 37 °C. Alikvot od 0,1 mL homogene smeše (fiziološkog rastvora, aktiviranog sorbenta i inokuluma) razblažen je u 9,9 mL fiziološkog rastvora. Po istom postupku, pripremljena su i ostala razblaženja. Na Slici 11 prikazana je priprema serije decimalnih razblaženja od osnovnih suspenzija mikroorganizama sa uzorkom.



Slika 11. Suspenzija mikroorganizama sa uzorkom (levo) i priprema razblaženja (desno)

Od svakog razblaženja, alikvot od 0,1 mL je prenet u Petrijevu šolju i preliven sa odgovarajućim agarom. Boce sa otopljenim agarom kondicionirane su u vodenom kupatilu na temperaturi od 44–47 °C. (tip uređaja: *Memmert*, Germany). Nakon 15 min perioda inkubacije zasejanih podloga na 37 °C, izbrojan je ukupan broj preživelih kolonija mikroorganizama. Epruveta sa fiziološkim rastvorom i sirovim prirodnim sorbentom korišćena je kao kontrolni uzorak. Na Slici 12 prikazani su analitički postupci: temperiranja agara (a), zasejavanja podloge (b) i inkubacije agarnih ploča (c), sa leva na desno.



Slika 12. Analitički postupci: temperiranja agara (a), zasejavanja podloge (b) i inkubacije agarnih ploča (c), sa leva na desno

3.6.3 Antimikrobni testovi desorbovanih jona metala

Inaktivacija ćelija *E. coli*, *S. aureus* i *C. albicans* sa desorbovanim Ag^+ - jonima u vodenoj sredini je odvojeno testirana. Antimikrobni testovi su izvedeni za različite koncentracije Ag^+ -jona, oslobođenih nakon 15 min desorpcije za Ag/GAC, Ag/Z i Ag/T

sorbente. Test epruvete su bile inokulirane 0,1 mL mikrobnom kulturom, uzgajanom preko noći. Nakon inkubacionog perioda na 37 °C, alikvoti od 0,1 mL razblaženi su u 9,9 mL fiziološkog rastvora. Prema prethodno opisanom postupku (standardnog testa razblaženja), pripremana su ostala razblaženja. Kontrolni uzorak, bez prisustva Ag⁺-jona, pripreman je u čistom fiziološkom rastvoru.

3.6.4 Procena antimikrobne aktivnosti

Stepen redukcije broja mikrobnih ćelija (R, %), računat je prema jednačini 5:

$$R(\%) = \frac{[CFU_{\text{cont}} - CFU_{\text{m}}]}{CFU_{\text{cont}}} \cdot 100 \quad (5)$$

gde je CFU_{cont} broj kolonija mikroorganizama u kontrolnom uzorku (sa sirovim sorbentom ili samo sa fiziološkim rastvorom), i CFU_{m} je broj kolonija mikroorganizama u epruvetama sa Ag⁺-aktiviranim sorbentima (Ag/GAC, Ag/Z, Ag/T) ili Ag⁺-jonima desorbovanim sa aktivne površine. Svi antimikrobni testovi su rađeni u triplikatu. Srednja vrednost i standardna devijacija računata je sa *Origin Pro* softverom (proizvođač *OriginLab Corporation*).

IV REZULTATI I DISKUSIJA

4.1 Preliminarni testovi – sorpcioni i desorpcioni kapaciteti ispitivanih materijala

Sorpcioni i desorpcioni kapaciteti izabranih sorbenata, aktiviranih sa Ag^+ -, Cu^{2+} - i Zn^{2+} - jonima, nakon 24 h, prikazani su u Tabeli 4. Ukupno je ispitano jedanaest sorbenata. Preliminarnim testovima obuhvaćene su 33 kombinacije metalom aktiviranih sorbenata. U okviru preliminarnih ispitivanja, odabrano je pet prirodnih-sirovih sorbenata zbog njihove široke dostupnosti u prirodi i jednostavnije primene (ne zahtevaju poseban predtretman). Analiza je pokazala da prirodni-modifikovani i sintetički materijali imaju veći afinitet prema jonima metala u odnosu na sirove prirodne sorbente. Sorpcioni kapacitet (SK) za modifikovane materijale bio je u opsegu: za Ag^+ - jone od 3,28–42,06 mg/g; za Cu^{2+} - jone od 1,70–15,90 mg/g i za Zn^{2+} - jone od 2,46–13,62 mg/g. Analizirani materijali pokazali su veći afinitet prema Ag^+ - jonima u odnosu na Cu^{2+} - i Zn^{2+} - jone, što je uslovljeno vrednošću hidratisanog jonskog poluprečnika ovih jona [40]. Vrednosti kristalnih i hidratisanih poluprečnika odabranih jona prikazani su u Tabeli 5. S obzirom da je hidratisani poluprečnik jona obrnuto srazmeran poluprečniku jona u čvrstoj fazi (u kristalima), hidratisani radijus Ag^+ - jona manji je u odnosu na radijuse Cu^{2+} - i Zn^{2+} - jona [92]. Poređenjem SK i desorpcionih kapaciteta (DK) utvrđen je sledeći trend sorpcionih afiniteta: $\text{Ag}^+ > \text{Zn}^{2+} > \text{Cu}^{2+}$, što je u saglasnosti sa drugim istraživanjima [42]. Afiniteti testiranih materijala za određeni jon prikazani su u donjem delu Tabele 5. Sadržaj slobodnih jona u vodenom rastvoru određen je promenom koncentracije jona metala sa vremenom. Kinetika desorpcije značajan je parametar u ovom istraživanju zato što je sporo otpuštanje jona metala sa aktivne površine praćeno antimikrobnim efektom. Desorpcioni kapaciteti, imali su sledeće vrednosti: za Ag^+ - jone, opseg je bio od 0,009–1,05 mg/g; za Cu^{2+} - jone opseg je bio od 0,003–0,553 mg/g i za Zn^{2+} - jone opseg je bio od 0,007–1,04 mg/g. Ovi rezultati ukazuju da je DK za nekoliko reda veličine manji u odnosu na SK istog materijala. Nizak stepen desorpcije teških metala uočen je i u ranijim istraživanjima [56]. U okviru preliminarnih ispitivanja DK analiziranih jona pokazali su isti trend kao i u procesu aktivacije: $\text{Ag}^+ > \text{Zn}^{2+} > \text{Cu}^{2+}$.

Tabela 4. SK i DK sorbenata za Ag⁺-, Cu²⁺- i Zn²⁺- jone, nakon 24 h

Sor bent			Aktivacioni jon					
			Ag ⁺		Cu ²⁺		Zn ²⁺	
			SK, mg/g	DK, mg/g	SK, mg/g	DK, mg/g	SK, mg/g	DK, mg/g
PRIRODNI MATERIJALI	A. SIROVI	Zeolit (Z)	13,51	0,085	3,60	0,006	4,72	0,013
		Bentonit (B)	3,28	0,30	1,70	0,125	2,86	0,198
		Sepiolit (S)	15,29	0,03	4,51	0,005	6,90	0,007
		Kalcit (K)	7,15	0,04	3,76	0,012	4,26	0,025
		Kvarcni pesak (KP)	4,23	0,68	1,95	0,36	5,29	0,87
	B. MODIFIKOVANI	Praškasti aktivni ugalj (PAC)	16,16	0,04	4,80	0,02	12,80	0,04
		Granulisani aktivni ugalj (GAC)	42,06	0,32	15,9	0,06	13,62	0,20
		Aktivna alumina (AL)	6,52	0,011	1,56	0,553	2,46	0,475
SINTETIČKI MATERIJALI	Veštački zeolit (VZ)	15,83	0,009	5,54	0,006	9,25	0,005	
	Titan- dioksid(T)	17,53	1,05	5,88	0,090	8,85	1,04	
	Jonoizmenjivačka smola (JIS)	21,18	0,043	7,37	0,004	12,52	0,003	
Jon metala		SK (mg/g)			DK (mg/g)			
Ag ⁺	GAC>JIS>T>PAC>VZ>S>Z>K>ALKP>>B			T>KP>GAC>B>Z>JIS>K~PAC>S>AL~VZ				
Cu ²⁺	GAC>JIS>T>VZ>PAC>S>Z>K>KP>B>AL			AL>KP>B>T>GAC>PAC>K>Z~AZ>S>JIS				
Zn ²⁺	GAC>PAC>JIS>VZ>T>S>Z>KP>K>B>AL			T>KP>AL>GAC>B>Z>PAC>K>S>AZ>JIS				

Poređenjem vrednosti SK i DK dobijenih za Ag⁺-, Cu²⁺- i Zn²⁺- jone, za dalja antimikrobna ispitivanja izabrani su sledeći materijali: Z (veličina čestica 0,4–0,8 mm), iz grupe prirodnih-sirovih materijala, GAC (veličina čestica 2,0–4,0 mm), iz grupe prirodnih-modifikovanih sorbenata i T (veličina čestica 0,25–1,20 mm), iz grupe sintetičkih materijala. Pored analize antimikrobne efikasnosti, na izbor materijala uticale su i stabilnost i vek trajanja odabranih materijala [33].

4.2 Pregled dosadašnjih istraživanja u oblasti antimikrobnih sorbenata

Efikasnost antimikrobnih sorbenata zavisi od prirode materijala i od hemijskog agensa koji se koristi u procesu impregnacije. Optimalna kombinacija sorbenta i aktivacionog hemijskog agensa zavisi od više parametara:

- 1) SK (količine aktivacionog agensa adsorbovanog na površini sorbenta) [34,40,93];
- 2) hemijskog oblika (oksid, hidroksid ili so metala) aktivacione komponente [94,95];
- 3) kinetike procesa desorpcije [35,41,42,96];
- 4) oksidacionog stanja aktivacionog agensa (Ag^0 vs. Ag^+) [36,72,97,98];
- 5) kontaktnog vremena između mikrobne kulture i aktiviranog sorbenta [34,99,100];
- 6) strukturnih svojstava materijala [36,38,97,98];
- 7) veličine čestica (distribucije) aktivacionog agensa [101];
- 8) rastvorljivosti aktivacionog agensa [102,103] i
- 9) stabilnosti sorbenta [103].

Modifikacija sorbenata u cilju antimikrobnog dejstva je kompleksan proces. U narednom delu dat je osvrt na dosadašnje rezultate u oblasti antimikrobnih istraživanja.

Sorpcioni kapacitet

Uspešan proces aktivacije (efikasna sorpcija) je primarni korak u pripremi i modifikaciji metalom aktiviranih sorbenata. U ranijim istraživanjima pokazano je da efikasnost antimikrobnog dejstva zavisi i od količine adsorbovanog hemijskog agensa [40,53]. Suprotno očekivanjima, nekada materijali sa većim sadržajem metala, odnosno većim SK, ne pokazuju veće inhibitorno dejstvo [36,93]. Ovo je posledica manje poroznosti materijala zbog velikog broja adsorbovanih jona metala [40]. Pretpostavka je da je na ovaj način onemogućen pristup bakterije slobodnom prostoru na nosaču. Kineski naučnik, Zhao i saradnici, potvrdio je da relativno nizak sadržaj jona srebra (0,6 masenih %) ili bakra (0,57 masenih%) adsorbovanih na mineralnoj površini ispoljava izražena dezinfekciona svojstva [96]. Utvrđeno je da ne postoji ni značajna razlika u

stepenu desorpcije jona metala sa materijala sa većim ili manjim sadržajem adsorbovanih jona [53].

Hemijski oblik aktivacione komponente

Pri aktivaciji materijala, izbor hemijskog oblika određenog metala kojim se ta aktivacija vrši veoma je važan. Pokazano je da se kod metala srebra, upotrebom različitih soli srebra, efikasnost procesa impregnacije aktivnog uglja smanjuje u sledećem nizu: nitrati > sulfati > citrati > acetati > oksalati, gde su vrednosti sorpcionih kapaciteta: 77,4; 76,4; 66,2; 65,4; 6,63 mg/g, respektivno [94]. Sorpcija metala srebra je veoma brz proces. U prvih nekoliko sekundi aktivacije ugljeničnog materijala, ostvari se oko 10 % ukupne sorpcije, dok se u periodu od 5 min realizuje 40 % ukupne aktivacije [94]. Analizom desorpcije srebrom aktiviranih materijala određen je nizak stepen desorpcije. Nakon rastvaranja (prethodno aktiviranog) ugljeničnog materijala u destilovanoj vodi, u trajanju od 24 h, izmereno je oko 2 % od ukupne koncentracije jona srebra korišćene u procesu impregnacije [95].

Desorpcija jona metala

Joni metala u okviru ovih istraživanja (Ag^+ , Cu^{2+} i Zn^{2+} joni) ispoljavaju efikasnu antimikrobnu aktivnost [41,42]. U literaturi, navode se različita, često oprečna, objašnjenja o njihovoj antimikrobnoj aktivnosti. Redukcija mikrobnih ćelija dejstvom jona metala objašnjava se preko konvencionalnog pristupa gde slobodni joni metala inaktiviraju rast mikrobnih ćelija [41,104,105]. Sporo i kontrolisano otpuštanje slobodnih jona metala određeno je procesom desorpcije. U okviru novijih istraživanja pokazano je da je značajan i uticaj čvrste faze, odnosno jona metala imobilisanih na površini sorbenta u ukupnoj antimikrobnoj aktivnosti metalom modifikovanih materijala [33,38]. Utvrđeno je da ukupna antimikrobna aktivnost zavisi od procesa sorpcije i desorpcije [66,106]. U ovoj doktorskoj disertaciji ispitani su sledeći uticaji jona metala: redukcija ćelija mikroorganizama kao posledica dejstva slobodnih jona u rastvoru [41,42] i antimikrobni efekat jona adsorbovanih na površini sorbenta [36,98]. Ispitani uticaji ne isključuju jedan drugog, oni su komplementarni. Antimikrobno delovanje jona imobilisanih na aktivnoj površini nosača je bio jedan od ciljeva istraživanja u ovoj disertaciji.

Oksidaciono stanje hemijskog agensa

U okviru prethodnih istraživanja, ispitan je uticaj oksidacionog stanja hemijskog agensa [36,72,97,98,107]. Naučnik, Inoue i grupa saradnika, izučavao je antimikrobnu aktivnost zeolita aktiviranog jonima srebra. Utvrđeno je da je baktericidna aktivnost bila veoma slabo izražena kada je oksidaciono stanje srebra bilo nula (Ag^0) [107]. Ferreira je sa koautorima pokazao da odnos jona srebra i elementarnog srebra (Ag^+/Ag^0) na aktivnoj površini sorbenta određuje efikasnost antimikrobnog efekta. Metalne nanočestice bakra su potvrđene kao efikasni antimikrobni agensi za uklanjanje *E. coli* i *S. aureus* korišćenjem Cu^{2+} -modifikovanog sepiolita [45]. Toksičnost jona bakra zavisi od oksidacionog stanja metala [72]. Prisustvo bakra u oba jonska oblika, Cu^+ i Cu^{2+} , uslovljava efikasniju antimikrobnu aktivnost [72,96].

Strukturna svojstva materijala

Površinske i strukturne karakteristike materijala koji se koriste kao sorbenti ili antimikrobni nosači od velike su važnosti za modifikaciju metalom, odnosno inhibitorno delovanje [38,43,44,108]. Veća poroznost utiča na ravnomerniju raspodelu jona metala na aktivnoj površini i biodostupnost aktivacionog agensa. Magana i saradnici su se bavili izučavanjem uticaja poroznosti na antimikrobni efekat montmorilonita (kalcinisanog i mlevenog) [36]. Pokazano je da je veći stepen inhibicije dobijen korišćenjem kalcinisanog gline gde je odnos Ag^+/Ag^0 bio niži, što se može tumačiti kao posledica prisustva Ag^+ - jona koji su inkorporirani unutar slojeva kalcinisanog uzorka i nehomogene raspodele profila aktivacionog agensa.

Veličina jona hemijskog agensa

Veličina čestica hemijskog agensa i raspodela na površini materijala određuje efikasnost antimikrobnog dejstva metalom aktiviranog sorbenta [101]. Veličina jona, odnosno poluprečnik hidratizanih jona metala utiče na efikasnost sorpcionog procesa i na aktivaciju materijala. Joni metala manjih jonskih poluprečnika u kristalu imaju veće hidratizane prečnike i teže se adsorbuju na površinu materijala [109]. Tako dvovalentni katjoni Ca^{2+} i Mg^{2+} joni imaju veće hidratizane poluprečnike od jednovalentnih katjona Na^+ i K^+ pa se teže uklanjaju iz vodenog rastvora [40]. Joni metala koji su većih kristalnih prečnika, u vodenim rastvorima imaju manje hidratizane poluprečnike pa je

njihove uklanjanje iz vodenog medijuma efikasnije [110]. Tako npr. Ag^+ - jon ima veći kristalni poluprečnik od Cu^{2+} - i Zn^{2+} - jona, ali manji hidratizirani poluprečnik što omogućava efikasnije vezivanje za površinu sorbenta. Mala veličina hidratiziranih jona srebra utiče na njihovu bolju adsorpciju iz rastvora, odnosno na efikasniju aktivaciju materijala. U Tabeli 5 prikazani su kristalni i hidratizirani poluprečnici pojedinih jona metala [92]. Dužine jonskih poluprečnika izražene su u angstromima ($1\text{Å} = 1 \times 10^{-10} \text{ m} = 0,1 \text{ nm}$) [111].

Čestice manjih dimenzija (nanočestice) imaju intenzivniji kontakt sa mikrobnim ćelijama i efikasniji su antimikrobni agensi [112]. Gajjar je izučavao efekat veličine ZnO nanočestica i zaključio da agregacija može dovesti do smanjenja antimikrobne aktivnosti [101]. Većina i oblik čestica aktivne komponente mogu se kontrolisati dodatkom različitih surfaktanata [113].

Tabela 5. Kristalni i hidratizirani poluprečnici jona metala [92, 110]

Jon	Kristalni jonski poluprečnik (Å)	Hidratizirani jonski poluprečnik (Å)
Li^+	0,60	3,82
Na^+	0,98	3,58
K^+	1,33	3,31
NH_4^+	1,48	3,31
Ca^{2+}	0,94	4,20
Mg^{2+}	0,65	4,40
Cu^{2+}	0,69	4,20
Zn^{2+}	0,70	4,30
Ni^{2+}	0,70	4,04
Ag^+	1,13	3,41

Stabilnost materijala

Jedan od kriterijuma za izbor odgovarajućeg sorbenta za antimikrobno dejstvo je stabilnost i vek trajanja materijala [102]. Pored postupka aktivacije jonom metala [33,38,42,44], impregnacija materijala filmom oksida ili hidroksida metala

[33,100,102,114] je često korišćena procedura modifikacije sorbenata. Kvarcni pesak modifikovan magnezijum-oksikom i gvožđe-hidroksikom, kao dvojna filterska ispuna za simultano uklanjanje teških metala i ukupnih koliformnih ćelija, pokazao je efikasnost uklanjanja od 99 i 96 %, respektivno [114]. Pal i saradnici izvršili su modifikaciju aktivnog uglja sa Al_2O_3 and $Zn(OH)_2$ za efikasnije uklanjanje *Escherichia coli* ćelija [102]. Rastvorljivost oksida ili hidroksida metala je jedan od osnovnih uslova kod ispitivanja toksičnosti nanočestica metala [103]. Impregnacija materijala filmom oksida ili hidroksida metala omogućava veću stabilnost modifikovanog sorbenta u vodi zbog niske konstante rastvorljivosti oksida ili hidroksida metala [92]. Sporo otpuštanje jona metala sa aktivne površine sorbenta može dovesti do dugotrajnog uklanjanja bakterija i produžene upotrebe materijala [102]. Dokazano je da je sorpcioni kapacitet i antimikrobno dejstvo sorbenata modifikovanih oksikom ili hidroksikom metala niži u odnosu na metalom aktivirane sorbente [33,43,44].

Izbor aktivacionog medijuma jedan je od ključnih faktora za proces aktivacije [102,114]. Potrebno je odabrati najpogodniji hemijski agens, kao i odrediti najmanju koncentraciju agensa za koju se postižu zadovoljavajući efekti aktivacije. Bitan zahtev pri tome je da se u najkraćem vremenu (od nekoliko minuta) sa rastvorom najniže koncentracije ostvari maksimalno vezivanje metala za raspoloživu površinu materijala. U literaturi je pokazano da je proces aktivacije materijala efikasniji za soli u odnosu na okside istog metala [33,100]. Vrednosti sorpcionih kapaciteta za Cu^{2+} - i Zn^{2+} - jone, u ovom istraživanju, pri korišćenju GAC aktiviranog sorbenta bili su u skladu sa vrednostima dobijenim u prethodnim studijama, dok su kapaciteti za Z bili značajno niži, kao što je prikazano u Tabeli 2. Količina modifikovanih materijala koja je korišćena u mikrobnim rastvorima u ovoj studiji, bila je u skladu sa dozama hemijskih agenasa (10 mg/mL) primenjenim u prethodnim studijama [38,44,100]. Vreme kontakta antimikrobnih sredstava i mikrobnih kultura može da varira od 1–24 časa [38,42,44,96,99,100], dok je u ovom istraživanju ograničena na 15 minuta kako bi se smanjio uticaj procesa desorpcije. Mikroorganizmi koji se ispituju u biološki kontaminiranim otpadnim vodama, ćelije *E coli* i *S. aureus*, predstavljaju jedne od najčešće testiranih bakterija usled izražene rezistentnosti i rasprostranjenosti u akvatičnom medijumu [33,38,46,99,100].

Prikaz različitih materijala, aktivacionih komponenti, sorpcionih kapaciteta modifikovanih sorbenata, minimalnih inhibitornih koncentracija (*eng.* minimum inhibitory concentration, MIC) za specifične patogene organizme, korišćenih u prethodnim istraživanjima dat je u Tabeli 6.

Tabela 6. Sorpcioni kapaciteti modifikovanih sorbenata za različite aktivacione komponente i njihova MIC vrednost za specifične mikrobne kulture

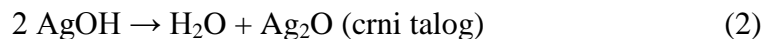
Materijal	Aktivaciona komponenta	Hemijsko jedinjenje	Sorpcioni kapacitet (mg/g)	MIC (mg/mL)	Period izloženosti, h	Mikrobna kultura	Ref.
Zeolit X	Ag ⁺	/	20,0	0,15; 0,15; 0,15	1; 1; 1	<i>E. coli</i> ; <i>P. aeruginosa</i> ; <i>S. aureus</i> .	[41]
Zeolit X	Ag ⁺	/	98,0	0,3; 0,3; 1,0; 1,0	24; 24; 48; 48	<i>E. coli</i> ; <i>B. subtilis</i> ; <i>S. cerevisiae</i> ; <i>C. albicans</i> .	[98]
Zeolit Y	Ag ⁺	/	97,0	0,2; 0,2; 1,0; 1,0	24; 24; 48; 48	<i>E. coli</i> ; <i>B. subtilis</i> ; <i>S. cerevisiae</i> ; <i>C. albicans</i> .	[98]
Klinoptilolit	Cu ²⁺	CuCl ₂	26,0	10,0; 10,0	24; 24	<i>E. coli</i> ; <i>S. aureus</i> ;	[38]
Klinoptilolit	Cu ⁺	Cu ₂ O	26,0	10,0; 10,0	1; 1	<i>E. coli</i> ; <i>S. aureus</i> ;	[100]
Klinoptilolit	Ni ²⁺	/	5,20	10,0; 10,0	24; 24	<i>E. coli</i> ; <i>S. aureus</i> ;	[38]
Klinoptilolit	Zn ²⁺	/	13,0	10,0	24	<i>A. junii</i>	[44]
Sepiolit	Cu ²⁺	Cu(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O	12,0	/	24	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	[45]
Montmorilonit	Ag ⁺	/	33,6	2,5	24	<i>E. coli</i>	[36]
Montmorilonit	Cu ²⁺	CuSO ₄	34,0	/	24	<i>E. coli</i>	[106]
Montmorilonit	Cu ²⁺	CuO	/	0,1 × 10 ⁻⁶	24	<i>E. coli</i>	[43]
Montmorilonit	Zn ²⁺	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	/	0,5;0,5; 0,5	24; 24; 24	<i>Pycnoporus cinnabarinus</i> <i>Pleurotus ostreatus</i> <i>E. coli</i>	[42]
Palgorski mineral	Cu ²⁺	Cu(NO ₃) ₂	5,7	0,1;0,1	12;12	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	[96]
GAC	Ag ⁺	/	24,7	0,5	0.17	<i>E. coli</i>	[115]
GAC	Ag ⁺	/	16,5	0,02	24	<i>E. coli</i>	[116]
GAC	Cu ⁺	Cu(OH) ₂	16,0	/	16*	<i>E. coli</i>	[33]
GAC	Cu ⁺ , Cu ²⁺	Cu ₂ O, CuO	/	0,5	8	<i>E. coli</i>	[99]
GAC	Zn ²⁺	Zn(OH) ₂	3,7	/	16*	<i>E. coli</i>	[33]
TiO ₂ /citozan	Ag ⁺	/	50,0	0,00038	24	<i>E. coli</i>	[52]
TiO ₂	Ag ⁰	/	/	10,0; 10,0; 10,0	24; 24; 24	<i>E. coli</i> ; <i>S. aureus</i> ; <i>C. albicans</i>	[47]
TiO ₂	Ag ⁺	/	10,0	0,001	24	<i>E. coli</i>	[117]

*Vrednost je izražena u nedeljama

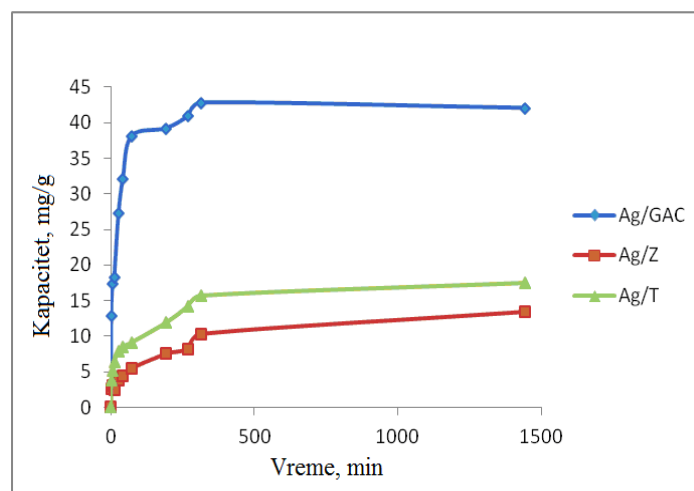
4.3 Sorbenti aktivirani Ag⁺- jonima

4.3.1 Kinetika procesa sorpcije Ag⁺- jona

Aktivacija izabranih GAC, Z and T materijala sa Ag⁺- jonima kao hemijskim agensom, izvršena je u šaržnom sistemu jednokomponentnog procesa adsorpcije. Promena sorpcionih kapaciteta modifikovanih materijala Ag/GAC, Ag/Z i Ag/T, u trajanju od 24 h prikazana je na Slici 13. Kinetika procesa adsorpcije Ag⁺- jona ispitana je u blago kiselim uslovima (pH 5,5). Na ovaj način sprečeno je nastajanje crnog taloga Ag₂O, koji se stvara kao rezultat reakcije katjona srebra (Ag⁺) sa formiranim hidroksidnim anjonom (AgO⁻) u baznoj sredini, prema reakcijama (6, 7):



Umereno kisela sredina omogućava da se Ag⁺- joni uklone iz vodenog rastvora primenom procesa adsorpcije čime se smanjuje efekat precipitacije [118].



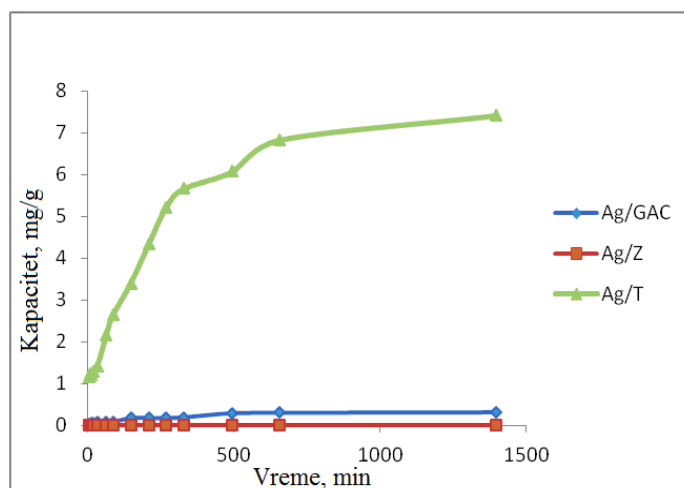
Slika 13. Kinetika procesa aktivacije GAC, Z i T sorbenata sa Ag⁺- jonima

Vrednosti sorpcionih kapaciteta GAC, Z i T sorbenata za Ag⁺- jone, bile su: 42,06, 13,51 i 17,53 mg/g, respektivno. Kada se uporede vrednosti SK, primenjeni proces aktivacije je bio veoma efikasan za Ag/GAC modifikovani sorbent i zadovoljavajući za Ag/T i Ag/Z. Nakon 24 h, 65 % inicijalnih Ag⁺- jona se adsorbovalo na GAC, dok je efikasnost procesa sorpcije za T i Z sorbente bila 27 i 21 %, respektivno. Promena sorpcionih kapaciteta tokom vremena može se prikazati

kinetičkim modelima pseudo-prvog i pseudo-drugog reda. Oba modela pokazuju sličan trend procesa sorpcije. Korišćenjem GAC sorbenta, za svega 45 min uklanja se 50 % Ag^+ - jona prisutnih u početnom rastvoru, dok je kinetika sorpcije kod Z i T sorbenata znatno sporija - 50 % Ag^+ - jona je uklonjeno nakon 3 i 2 h, respektivno.

4.3.2 Kinetika procesa desorpcije Ag^+ - jona

Kinetika desorpcije prati promenu koncentracije oslobođenih Ag^+ - jona tokom vremena. Sporo otpuštanje jona metala omogućava stabilnost i dužu upotrebu aktiviranog sorbenta. Otpuštanje slobodnih Ag^+ - jona izvršeno je u dejonizovanoj vodi, pH 5,5 u trajanju od 24 h. Kinetika procesa desorpcije Ag^+ -jona sa sorbenata Ag/GAC, Ag/Z i Ag/T prikazana je na Slici 14.



Slika 14. Kinetika procesa desorpcije Ag^+ - jona sa Ag/GAC, Ag/Z i Ag/T sorbenata

Kada se uporede sorpcioni kapaciteti modifikovanih Ag/GAC, Ag/Z i Ag/T sorbenata, izraženih u mg/g, dobijene su sledeće vrednosti: 0,32, 0,008 i 7,41, respektivno. Step desorpcije kod Ag/Z sorbenta bio je nizak, Ag/GAC je pokazao umereno izraženu desorpciju, dok je kod Ag/T sorbenta step desorpcije bio visok. Razlike u stepu desorpcije Ag^+ - jona sa površine modifikovanih materijala od izuzetne je važnosti za analizu i objašnjenje mehanizma antimikrobnog dejstva u ovom istraživanju. Praćenjem različitih stepena desorpcije, odnosno koncentracije Ag^+ - jona u mikrobnom rastvoru i izvođenjem odvojenih antimikrobnih testova, može se posmatrati udeo aktivne površine sorbenta (jona sa čvrste faze) u ukupnom antimikrobnom dejstvu. Strukturne i površinske analize Ag^+ -aktiviranih sorbenata omogućile su poznavanje fizičko-

hemijskih svojstava osnovnih i modifikovanih oblika materijala (njihove prirode), odnosno bolje razumevanje mehanizma antimikrobnog dejstva površinski aktiviranih sorbenata.

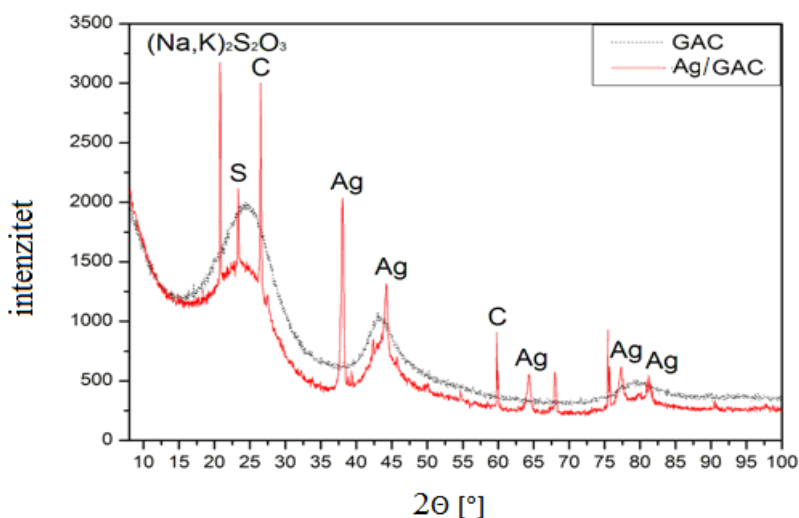
4.3.3 Rendgenska difrakciona analiza Ag⁺-aktiviranih sorbenata

Rezultati XRD analize prirodnog, GAC i modifikovanog, Ag/GAC sorbenta prikazani su na Slici 15. Analiza je pokazala da je došlo do strukturnih promena kod srebrom modifikovanog materijala, u poređenju sa njegovim prirodnim oblikom. Prisustvo elementarnog srebra (Ag⁰) je zabeleženo na karakterističnim pikovima: $2\theta = 38,10, 44,25$ i $64,40^\circ$ [115,116]. Oštri pikovi koji se javljaju kod Ag/GAC oblika, upućuju na istovremeno prisustvo različitih oksidacionih stanja srebra, elementarnog (Ag⁰) i jonskog (Ag⁺) oblika [46]. Joni srebra (Ag⁺) poreklom iz aktivacionog medijuma, adsorbovani su na površinu GAC uzorka i istovremeno redukovani ugljenikom (koji je poznat kao snažan redukcionni agens) do elementarnog srebra (Ag⁰) [119]. Ova reakcija objašnjava oksidaciono stanje aktivacione komponente koja je adsorbovana kao metalno srebro na Ag/GAC aktivnoj površini. Prisustvo dva nova pika, na $2\theta = 20,95^\circ$ ((Na,K)₂S₂O₃) i $2\theta = 23,30^\circ$ (S), su takođe posledica procesa redukcije sulfatne grupe (SO₄²⁻) iz aktivacionog medijuma (Ag₂SO₄ rastvora).

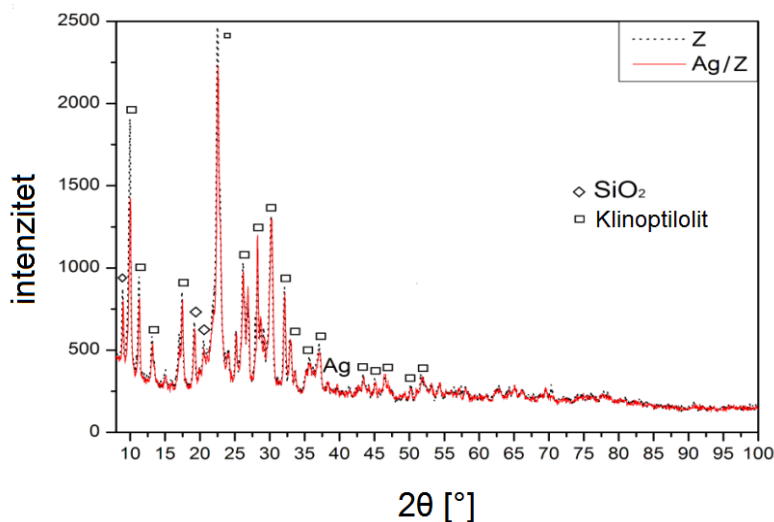
Rezultati XRD analize prirodnog, Z i modifikovanog, Ag/Z sorbenta prikazani su na Slici 16. Difraktogrami su pokazali da ne postoje značajne strukturne promene između prirodnog i aktiviranog sorbenta. Difrakciona šema modifikovanog sorbenta ima pikove ($2\theta = 10,00$ i $22,55^\circ$) koji su manje intenzivni od pikova prirodnog sorbenta. Ovo je posledica prisustva srebra u različitim oksidacionim stanjima, odnosno elementarnom (Ag⁰) i jonskom (Ag⁺) obliku [98]. Veoma nizak intenzitet elementarnog srebra, sa karakterističnim pikom na $2\theta = 38,10^\circ$, ukazuje da je manja količina srebra prisutna u zeolitnoj strukturi, a moguće je i da je došlo do veće disperzije metala unutar zeolitnih šupljina što utiče na smanjenu koncentrisanost metala [98]. Srebro u jonskom obliku nije zabeleženo XRD analizom, ali je njegovo prisustvo potvrđeno komplementarnom XPS tehnikom.

Rezultati XRD analize prirodnog, T i modifikovanog, Ag/T sorbenta prikazani su na Slici 17. Analiza je pokazala da došlo do strukturnih promena kod modifikovanog

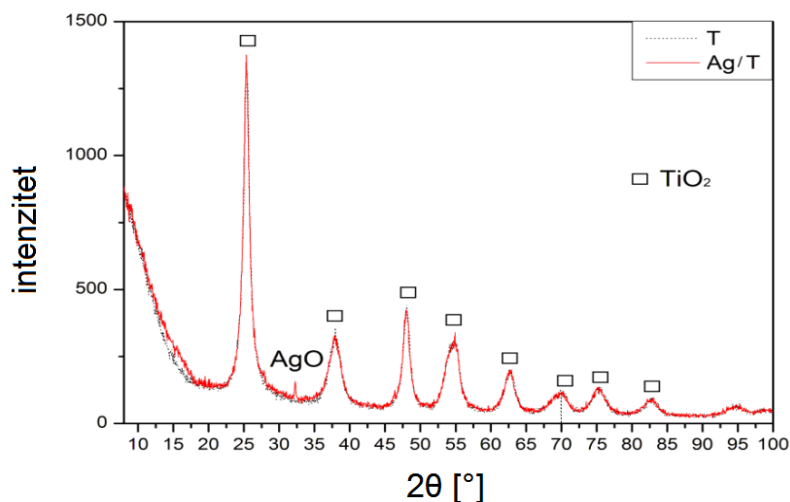
materijala, u poređenju sa njegovim prirodnim oblikom. Karakteristični pikovi titan-dioksida snimljeni su na $2\theta = 25,30^\circ$. Difrakciona šema modificovanog Ag/T sorbenta ukazuje da je srebro prisutno u jonskom obliku, kao hemijsko jedinjenje srebro (I, III) oksid, sa molekulskom formulom AgO , snimljenom na $2\theta = 32,50^\circ$ [120]. Iako empirijska formula, AgO , navodi na zaključak da je srebro prisutno u ovoj komponenti u oksidacionom stanju +2, srebro (I, III) oksid je mešavina dva oksida srebra i prikazuje se formulom $\text{Ag}^{\text{I}}\text{Ag}^{\text{III}}\text{O}_2$ ili $\text{Ag}_2\text{O}\cdot\text{Ag}_2\text{O}_3$ [121]. Prisustvo jona srebra u modificovanom Ag/T sorbentu takođe je potvrđeno XPS analizom.



Slika 15. XRD analiza GAC (isprekidna linija) i Ag/GAC sorbenta (puna linija)



Slika 16. XRD analiza Z (isprekidana linija) i Ag/Z sorbenta (puna linija)



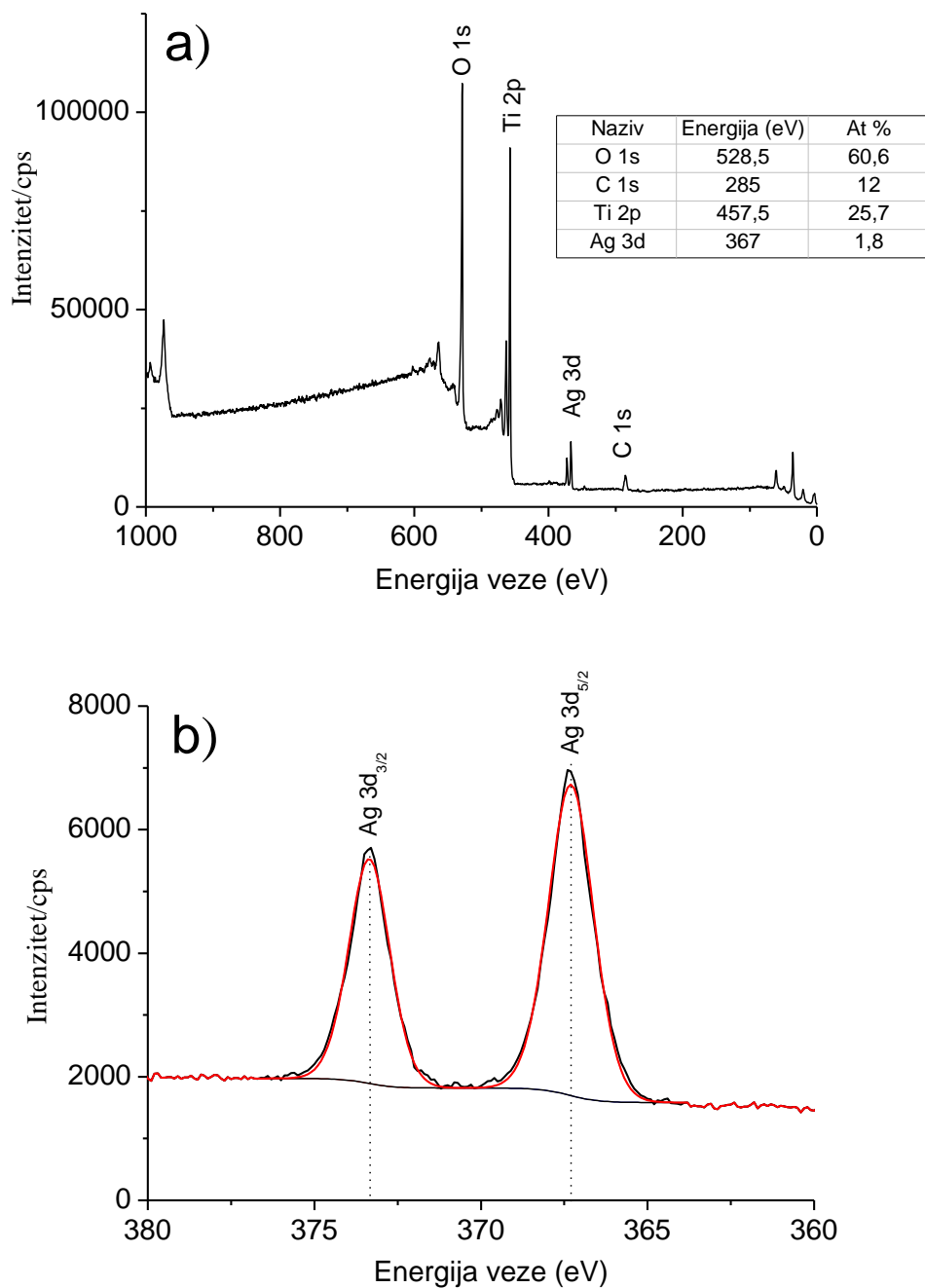
Slika 17. XRD analiza T (isprekidana linija) i Ag/T sorbenta (puna linija)

4.3.4 Rendgenska fotoelektronska spektroskopija Ag^+ -aktiviranih sorbenata

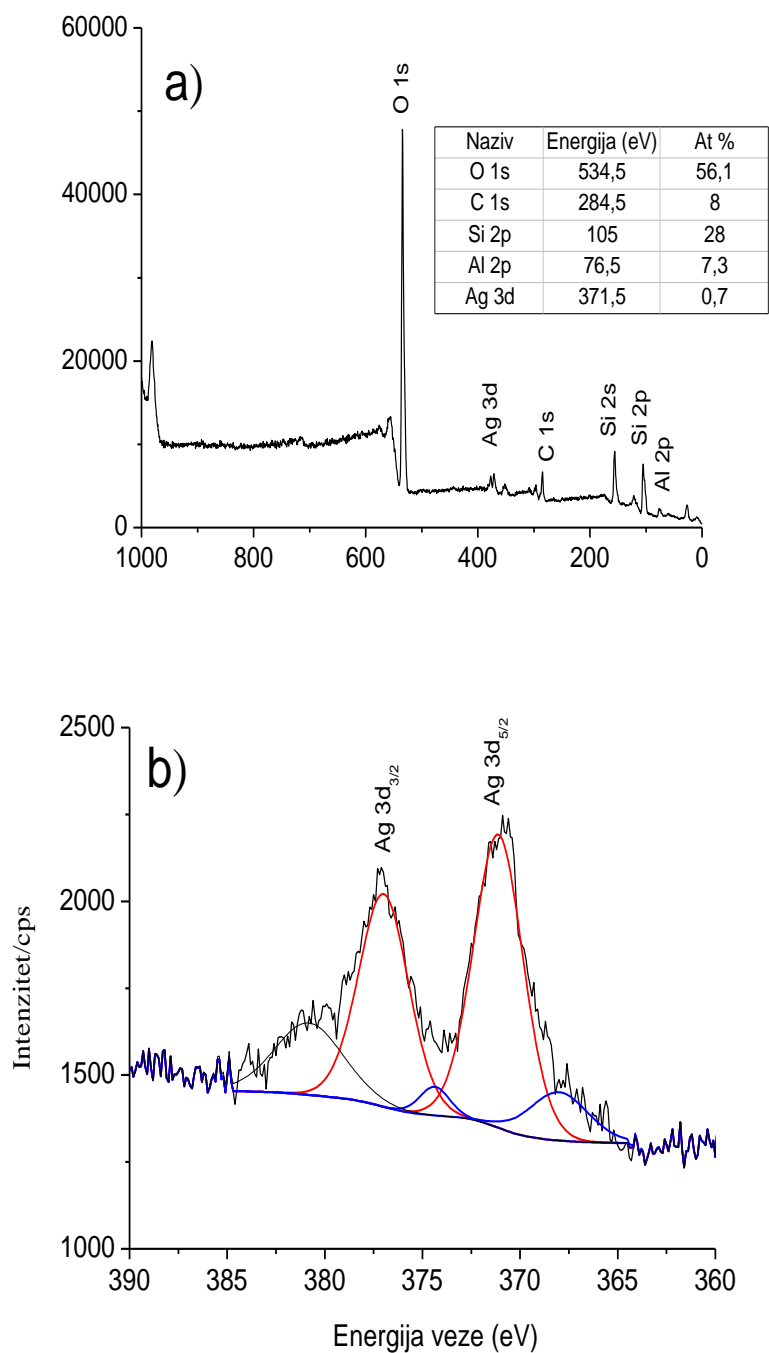
XPS spektar aktiviranog Ag/GAC sorbenta prikazan je na Slici 18. Široki spektar sa pozicijom i atomskim procentom (At %) osnovnih komponenti (kiseonik, ugljenik i srebro) prikazan je na Slici 18a. Analizirani uzorak sastoji se uglavnom od ugljenika sa 93,3 At %. Iako je udeo atoma kiseonika i srebra svega 4,5 i 2,2 At %, respektivno, na osnovu pozicije Ag $3d_{5/2}$ fotoelektron linije na 368,14 eV i Ag $3d_{3/2}$ na 374,17 eV (prikazano na Slici 18b), potvrđeno je da se srebro nalazi u svom elementarnom obliku [122,123].

XPS spektar aktiviranog Ag/Z sorbenta prikazan je na Slici 19. Široki spektar sa pozicijom osnovnih komponenti i njihovim atomskim procentom (At %) prikazan je na Slici 19a. Atomski procenat srebra je 0,7 % i na spektru visoke rezolucije (prikazan na Slici 19b) snimljene su Ag 3d orbitale sa odgovarajućim energijama veze. Ag 3d linije su fitovane na dva pika što ukazuje na istovremeno prisustvo različitih oblika jona srebra. Pozicija Ag $3d_{5/2}$ linije na 371,1 i 368,0 eV mogu se tumačiti prisustvom metalnog srebra (Ag^0) i srebro (I, III) oksida, u obliku AgO, respektivno [124]. Srebro u elementarnom obliku je takođe snimljeno sa XRD analizom, dok se prisustvo Ag^+ -signala može pripisati jonima srebra koji su se inkorporirali u šupljinama Ag/Z strukture. Slično prethodnom, Ag $3d_{3/2}$ orbitale su fitovane na dva dela prema pozicijama linija na 376,9 i 374,3 eV, što odgovara elementarnom (Ag^0) i jonskom (AgO) srebru, respektivno [124].

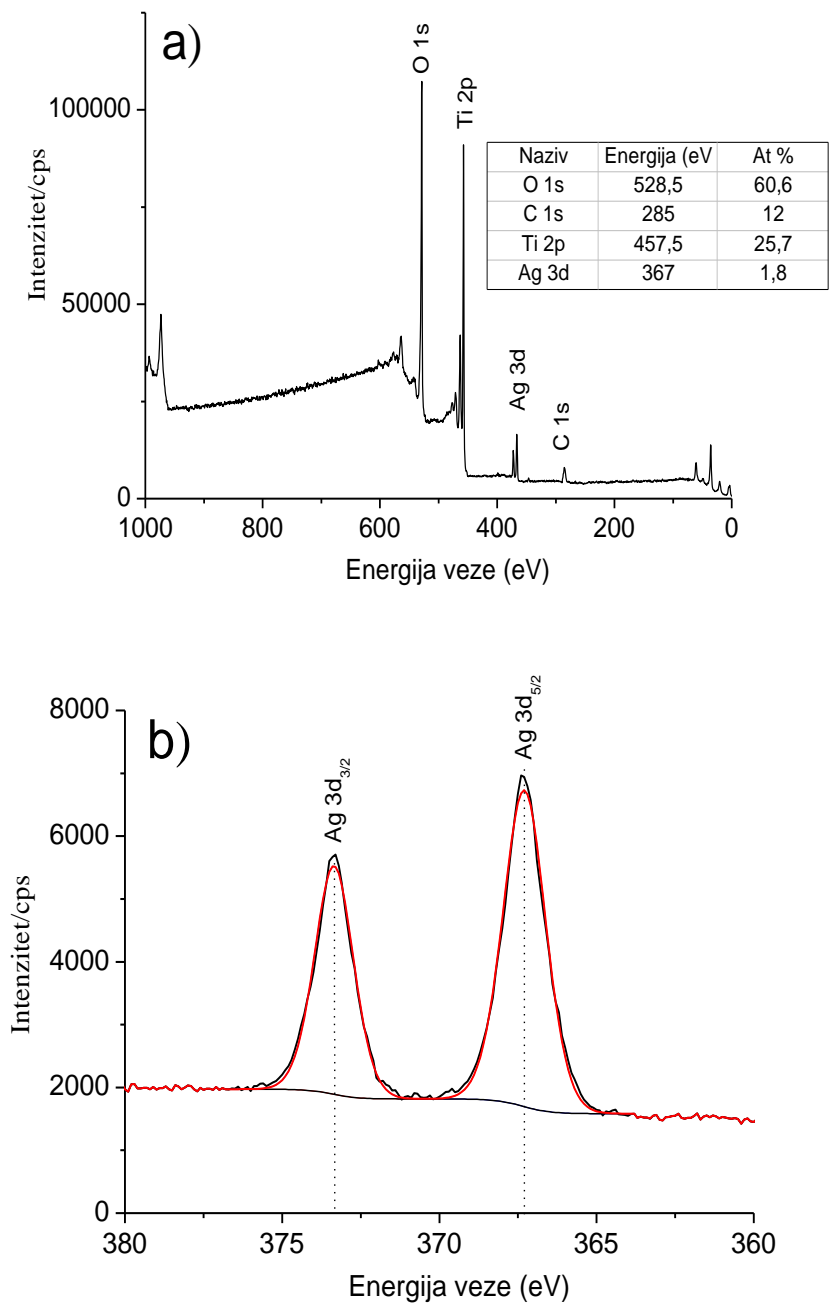
XPS spektar aktiviranog Ag/T sorbenta prikazan je na Slici 20. Široki spektar (prikazan na Slici 20a) odgovara pozicijama atoma kiseonika, titana, srebra i ugljenika. Atomski procenat svake komponente dat je u umetnutoj tabeli. Pozicija Ti 2p pika zabeležena na 457,5 eV, blizu odgovarajuće linije za Ti 2p_{3/2} na 458,0 eV, odgovara +4 oksidacionom stanju titan-dioksida, TiO₂ [49,125]. Ovo odstupanje je razumljivo s obzirom da je atomski procenat kiseonika više od dva puta veći u odnosu na atomski udeo titana, u analiziranom uzorku. Usled prisustva kiseonika dolazi do oksidacije srebra koje je snimljeno u obliku oksida srebra, AgO. XPS spektar Ag 3d linije visoke rezolucije prikazan je na Slici 20b. Ag 3d_{5/2} fotoelektron linija na poziciji 367,3 eV, sa simetričnim oblikom pre i nakon procesa aktivacije (prirodni i modifikovni oblik sorbenta), odgovara srebru u jonskom obliku, prisutnom kao AgO [48]. Spektri dobijeni XPS analizom podudaraju se sa XRD strukturnom analizom srebrom aktiviranih sorbenata.



Slika 18. XPS spektar Ag/GAC sorbenta: a) široki spektar sa pozicijom i atomskim procentom (At %) osnovnih komponenti; b) spektar visoke rezolucije Ag 3d orbitale sa odgovarajućim energijama veze



Slika 19. XPS spektar Ag/Z sorbenta: s) široki spektar sa pozicijom i atomskim procentom (At %) osnovnih komponenti; b) spektar visoke rezolucije Ag 3d orbitale sa odgovarajućim energijama veze



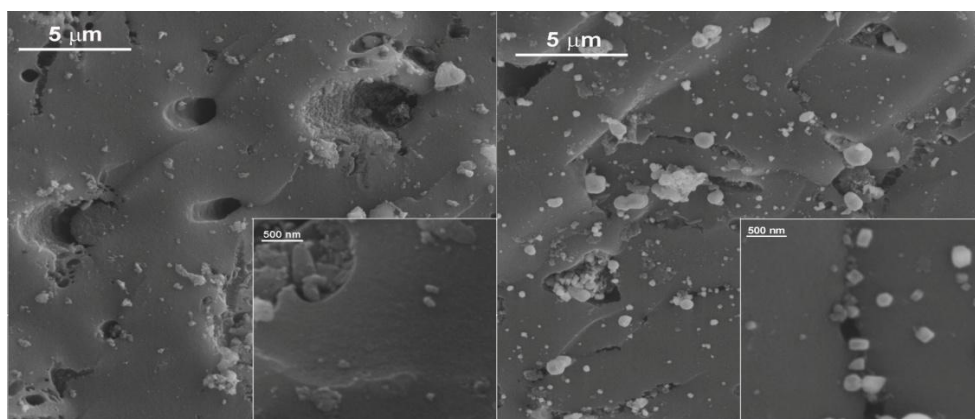
Slika 20. XPS spektar Ag/T sorbenta: a) široki spektar sa pozicijama atomskim procentom (At %) osnovnih komponenti; b) spektar visoke rezolucije Ag 3d orbitale sa odgovarajućim energijama veze

4.3.5 Skenirajuća elektronska mikroskopija Ag⁺-aktiviranih sorbenata

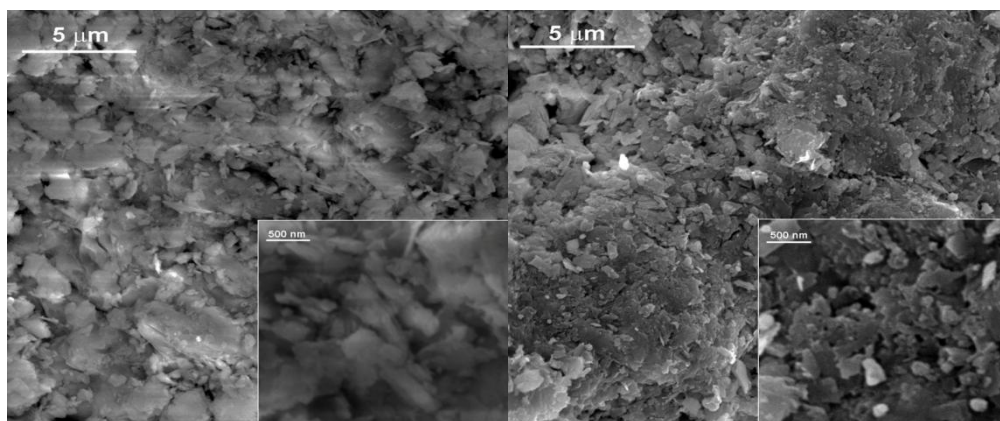
Površinska morfologija prirodnog, GAC i modificiranog, Ag/GAC sorbenta snimljena je pomoću FE-SEM tehnike. Reprezentativni FE-SEM snimci GAC i Ag/GAC sorbenta prikazani su na Slici 21. Morfologija GAC uzorka sastoji se od brojnih čestica različitih oblika i veličina [46]. Nakon procesa aktivacije Ag⁺-jonima, FE-SEM slike pokazuju prisustvo belih nanočestica na površini Ag/GAC, prečnika manjih od 200 nm. Raspodela čestica je u velikoj meri homogena. Čestice srebra, grupisane u agregate pravilnog: četvrtastog, trouglastog i kružnog oblika, ukazuju da je elementarno srebro formiralo kristalite na površini sorbenta [36]. Rezultati ova analize su u saglasnosti sa XRD i XPS tehnikama, koje potvrđuju prisustvo metalnog srebra (Ag⁰) na površini modificiranog Ag/GAC sorbenta.

Reprezentativni FE-SEM snimci prirodnog, Z i modificiranog zeolita, Ag/Z prikazani su na Slici 22. Površinska morfologija zeolita potvrđuje prisustvo čestica različitih oblika i veličina koje se uobičajeno javljaju u kompleksnim neorganskim kristalnim strukturama, kao što su klinoptilolit [34]. Razlike u mikrografu prirodnog, Z i aktiviranog Ag/Z sorbenta, posledica su adsorpcije Ag⁺-jona, koji su prethodno potvrđeni pomoću XRD i XPS analiza. Prisustvo metalnog srebra snimljeno je u vidu belih čestica, nepravilno rasprostranjenih na površini Ag/Z sorbenta. Slični zaključci površinskih analiza srebrom aktiviranih zeolita objavljeni su u prethodnim istraživanjima [36].

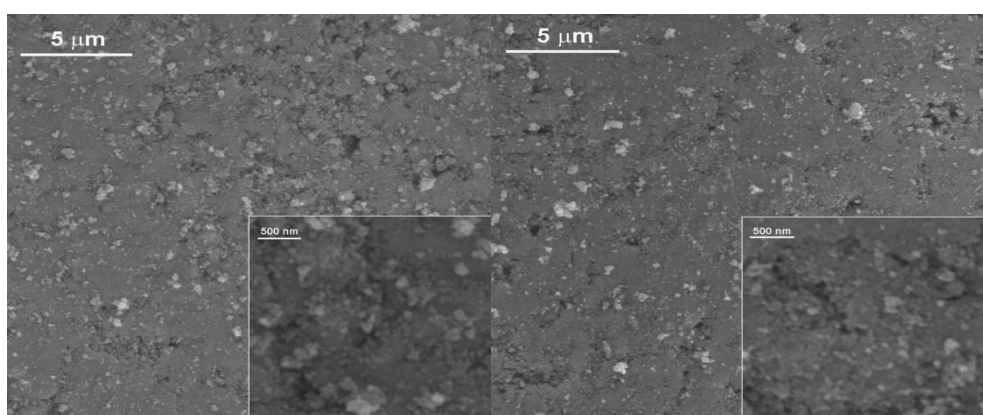
Reprezentativni FE-SEM snimci prirodnog, T i modificiranog, Ag/T sorbenta prikazani su na Slici 23. Uočava se da su čestice prirodnog i aktiviranog titan-dioksida imale slične dimenzije i pravilan oblik [52]. Nakon procesa aktivacije, na mikrografima Ag/T površine zabeleženo je neznatno povećanje broja belih čestica, koje upućuju na prisustvo jona srebra u modificiranom uzorku. Iako FE-SEM slike nisu jasno pokazale prisustvo jona srebra na Ag/T površini, XRD i XPS rezultati su potvrdili prisustvo jonskog srebra na aktiviranom sorbentu. XPS analiza je dala i informaciju o atomskom procentu srebra (1,8 At %) adsorbovanog na Ag/T površini, (Slika 20a, umetnuta tabela).



Slika 21. FE- SEM snimak GAC (levo) i Ag/GAC (desno) sorbenta sa uvećanjem od 10 000 i 70 000 (umetnuta slika)



Slika 22. FE- SEM snimak Z (levo) i Ag/Z (desno) sorbenta sa uvećanjem od 10 000 i 70 000 (umetnuta slika)

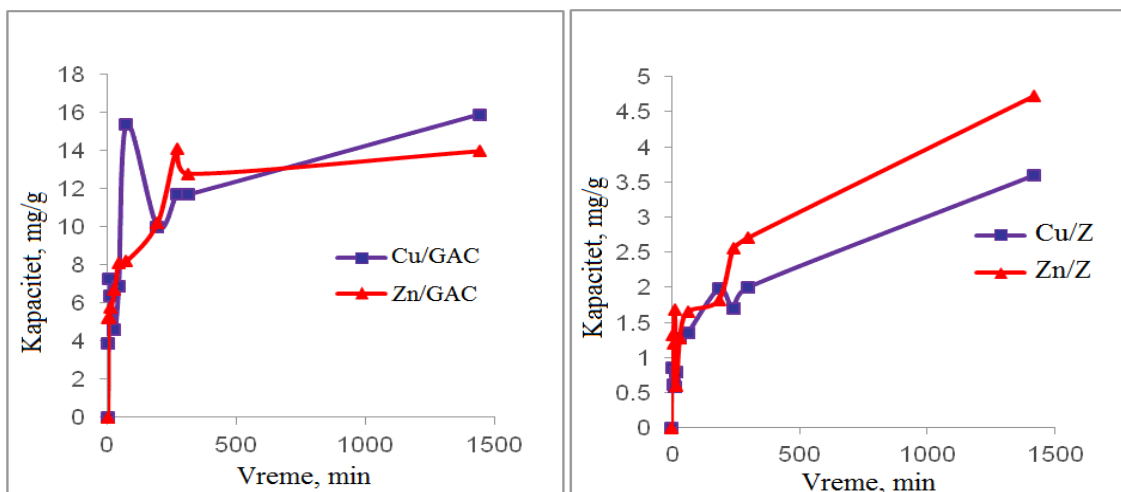


Slika 23. FE-SEM snimak T (levo) i Ag/T (desno) sorbenta sa uvećanjem od 10 000 i 70 000 (umetnuta slika)

4.4 Sorbenti aktivirani Cu^{2+} - i Zn^{2+} - jonima

4.4.1 Kinetika procesa sorpcije Cu^{2+} - i Zn^{2+} - jona

Aktivacija izabranih GAC i Z materijala sa Cu^{2+} - i Zn^{2+} - jonima kao hemijskim agensima, izvršena je u šaržnom sistemu jednokomponentnog procesa adsorpcije. Promena sorpcionih kapaciteta Cu/GAC, Zn/GAC, Cu/Z i Zn/Z modifikovanih sorbenata, tokom 24 h, prikazana je na Slici 24. Aktivacija je izvršena u blago kiselim uslovima ($\text{pH}=5,5$), čime je proces adsorpcije ograničen na uklanjanje dvovalentnih jona teških metala [126, 127]. Sa povećanjem pH vrednosti iznad 5,5 nisu zabeležene značajne promene sorpcionih kapaciteta [128].

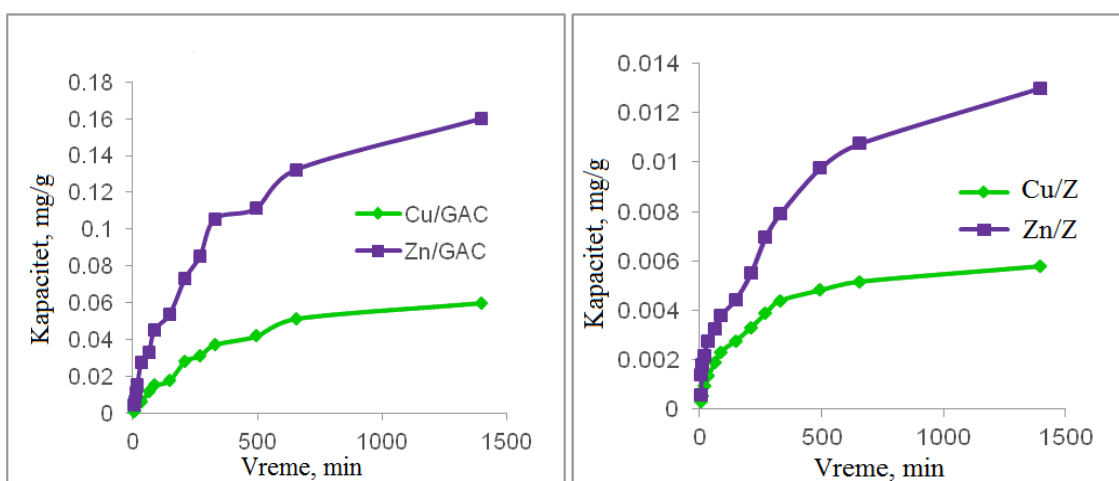


Slika 24. Kinetika procesa aktivacije GAC i Z sorbenata sa Cu^{2+} - i Zn^{2+} - jonima

Sorpcioni kapaciteti GAC i Z sorbenata modifikovanih sa Cu^{2+} - i Zn^{2+} - jonima, imali su sledeće vrednosti za Cu^{2+} - jone: 15,90 i 3,60 mg/g, respektivno, odnosno za Zn^{2+} - jone: 13,62 i 4,72 mg/g, respektivno. Za oba katjona proces aktivacije pokazao se kao efikasan za GAC i zadovoljavajući za Z sorbent. Nakon 24 h, 71 % od početnih Cu^{2+} - jona se adsorbovalo na GAC sorbentu i oko 65 % na Z sorbentu. Afinitet GAC i Z sorbenata prema Zn^{2+} - jonima je bio znatno niži, 39 i 52 %, respektivno. Koristeći GAC i Z sorbent, 50 % početnih Cu^{2+} - jona su uklonjeni iz vodenog rastvora nakon 4 i 7 h, respektivno, dok je uklanjanje Zn^{2+} - jona bilo manje efikasno.

4.4.2 Kinetika procesa desorpcije Cu^{2+} - i Zn^{2+} - jona

Pored vrednosti sorpcionih kapaciteta, analiza desorpcije Cu^{2+} - i Zn^{2+} - jona sa je važna kako bi se opravdao izbor ovih jona kao hemijski aktivacionih agenasa. Kinetika procesa desorpcije zasniva se na promeni koncentracije Cu^{2+} - i Zn^{2+} - jona, oslobođenih sa površine modifikovanih sorbenata tokom vremena. Sporo otpuštanje jona metala je važan preduslov za stabilnost sorbenta i duži radni vek. Proces desorpcije Cu^{2+} - and Zn^{2+} - jona je simuliran u dejonizovanoj vodi, na pH 5,5, tokom 24 h. Kinetika procesa desorpcije Cu^{2+} - i Zn^{2+} - jona sa Cu/GAC, Zn/GAC, Cu/Z i Zn/Z sorbenata prikazana je na Slici 25.



Slika 25. Kinetika procesa desorpcije Cu^{2+} - i Zn^{2+} - jona sa Cu/GAC, Zn/GAC, Cu/Z i Zn/Z sorbenata

Kada se uporede desorpcioni kapaciteti modifikovanih Cu/GAC i Zn/GAC sorbenata, dobijene su sledeće vrednosti: 0,06 i 0,20 mg/g, respektivno. Modifikovani Cu/Z i Zn/Z imao je niži stepen desorpcije od modifikovanog GAC, sa sledećim vrednostima: 0,006 i 0,013 mg/g, respektivno. Prema navedenim rezultatima, tendencija ka otpuštanju Cu^{2+} - i Zn^{2+} - jona bila je ista kod oba odabrana materijala ($\text{Zn}^{2+} > \text{Cu}^{2+}$). Cu/Z sorbent je pokazao najniži stepen desorpcije, dok je Zn/GAC sorbent sa najvećom tendencijom ka otpuštanju jona metala. U ovom istraživanju, nizak stepen desorpcije Cu^{2+} - i Zn^{2+} - jona za odabrane materijale je važan zbog daljih mikrobiološki analiza. Na osnovu zanemarljivo male desorpcije jona metala, ukupno antimikrobno dejstvo modifikovanih sorbenata može se prepisati delovanju onih jona koji su imobilisani na aktivnom nosaču.

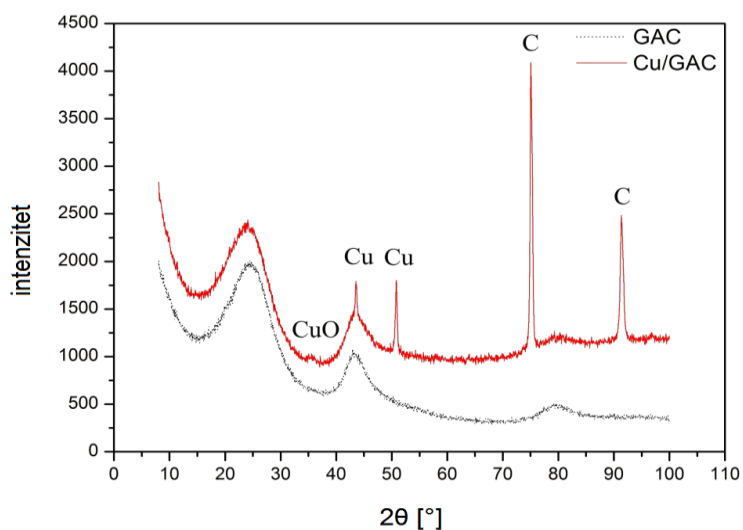
4.4.3 Rendgenska difrakciona analiza Cu²⁺- i Zn²⁺-aktiviranih sorbenata

Rezultati XRD analize prirodnog, GAC i modifikovanih, Cu/GAC i Zn/GAC sorbenata prikazani su na Slici 26 i 27. Široki pikovi snimljeni na $2\theta = 24,00$ i $43,15^\circ$ dokaz su amorfne strukture GAC uzorka [99,46]. Difraktogrami su pokazali da je došlo do strukturnih primena kod Cu²⁺- i Zn²⁺- aktiviranih sorbenata. Prisustvo elementarnog bakra (Cu⁰) u Cu/GAC zabeleženo je na karakterističnim pikovima $2\theta = 43,20$ i $50,40^\circ$ (Slika 26) [45]. Cu²⁺- joni iz aktivacionog medijuma, rastvora Cu₂SO₄·5H₂O, adsorbovani su na GAC sorbentu i redukovani usled prisustva atoma ugljenika, koji su poznati kao snažni redukcionni agensi [119]. Ova reakcija objašnjava oksidaciono stanje aktivacionog agensa (Cu²⁺- jona) koji je adsorbovan i inkorporiran na GAC površini kao elementarni bakar. Dva stabilna oksidaciona stanja bakra su +2 (kupri jon) i +1 (kupro jon). Kupro jon je jače oksidaciono sredstvo od kupri jona što znači da je nepostojan i da se redukuje do elementarnog bakra. Međutim, na osnovu vrednosti oksido-redukcionnih potencijala (Cu⁺ + e⁻ = Cu, E^o = +0,521 V; Cu²⁺ + 2e⁻ = Cu, E^o = +0,337 V; Cu²⁺ + e⁻ = Cu⁺, E^o = +0,153 V), bakar će se iz +2 oksidacionog stanja lakše redukovati direktno do elementarnog bakra nego postupno (do +1 oksidacionog stanja, a potom do Cu⁰) [129]. Drugim rečima, kada se Cu⁰ oksiduje, nastaje Cu²⁺- jon, zato što prelaz Cu⁰ → Cu²⁺ zahteva manje energije od reakcije oksidacije Cu⁰ → Cu⁺.

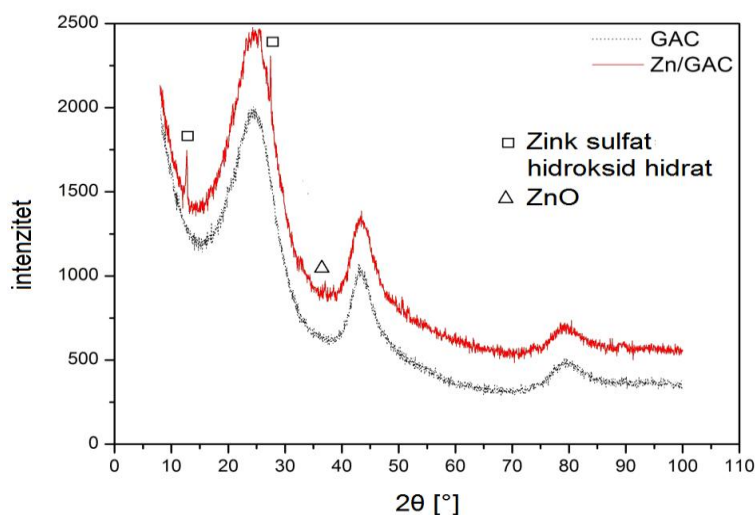
Difrakciona šema Cu/GAC zabeležila je pikove na $2\theta = 24,00$ i $43,15^\circ$, koji su širi od onih koji se pojavljuju kod prirodnog GAC sorbenta. Ovo je posledica istovremenog prisustva različitih oksidacionih stanja bakra, elementarnog (Cu⁰) i jonskog (Cu²⁺) oblika [98]. Takođe, ovo može da ukaže da su čestice bakra bile dispergovane na GAC površini bez formiranja krupnijih agregata [130]. XRD analiza zabeležila je prisustvo bakra u jonskom obliku na karakterističnim pikovima $2\theta = 35,40$ i $38,70^\circ$ [99], ali sa niskim intenzitetima (usled male vrednosti sorpcionog kapaciteta). Komplementarna XPS tehnika nedvosmisleno je potvrdila prisustvo Cu²⁺- jona na Cu/GAC aktiviranoj površini. Difraktogram Zn²⁺-aktiviranog GAC sorbenta pokazao je prisustvo Zn²⁺- jona u hemijskom obliku zink-oksida (ZnO) i zink-sulfat-hidroksid-hidrata (Zn₄SO₄(OH)₆·0.5H₂O/ZnSO₄·3Zn(OH)₂·0.5H₂O) (Slika 27).

XRD analiza prirodnog, Z i modifikovanih, Cu/Z i Zn/Z sorbenata prikazani su na Slici 28 i 29. Difraktogrami pokazuju da nisu zabeležene značajne strukturne

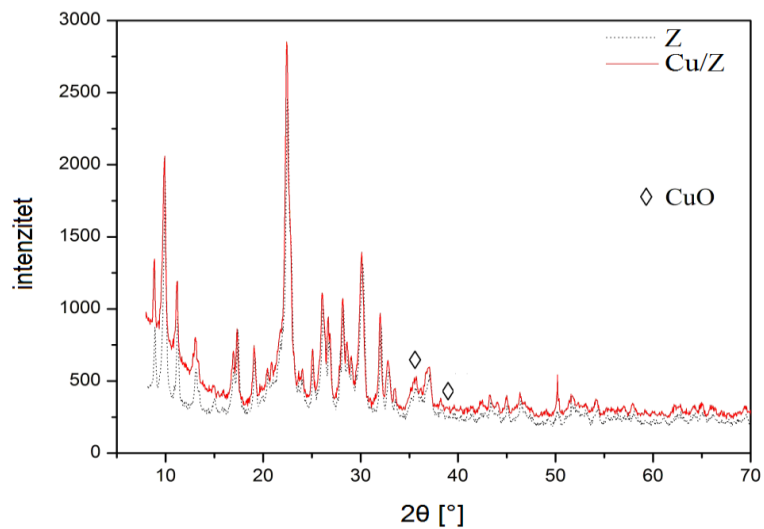
promene kod modificovanih materijala, u odnosu na prirodni zeolit. Niski intenziteti karakterističnih pikova bakra ($2\theta = 35,55$ i $38,90^\circ$) na Slici 28 ukazuju na nizak sadržaj jona metala u strukturi klinoptilolita i visok stepen disperzije unutar šuplina i kanala karakterističnih za ove neorganske strukture [131]. Difakciona šema Zn/Z uzorka nije pokazala nikakve promena u odnosu na prirodan sorbent (Slika 29). Slična zapažanja o promeni strukture prikazana su u analizama Cu^{2+} - i Zn^{2+} - modificovanih neorganskih materijala [132].



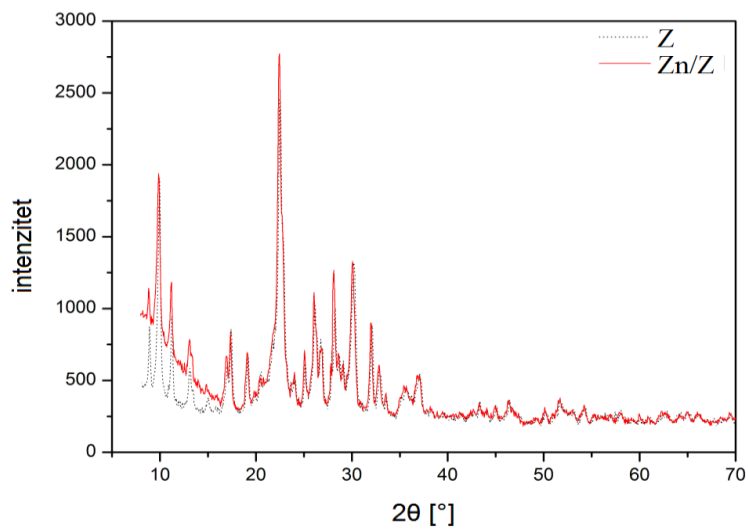
Slika 26. XRD analiza GAC (isprekidana linija) i Cu/GAC sorbenta (puna linija)



Slika 27. XRD analiza GAC (isprekidana linija) i Zn/GAC sorbenta (puna linija)



Slika 28. XRD analiza Z (isprekidana linija) i Cu/Z sorbenta (puna linija)



Slika 29. XRD analiza Z (isprekidana linija) i Zn/Z sorbenta (puna linija)

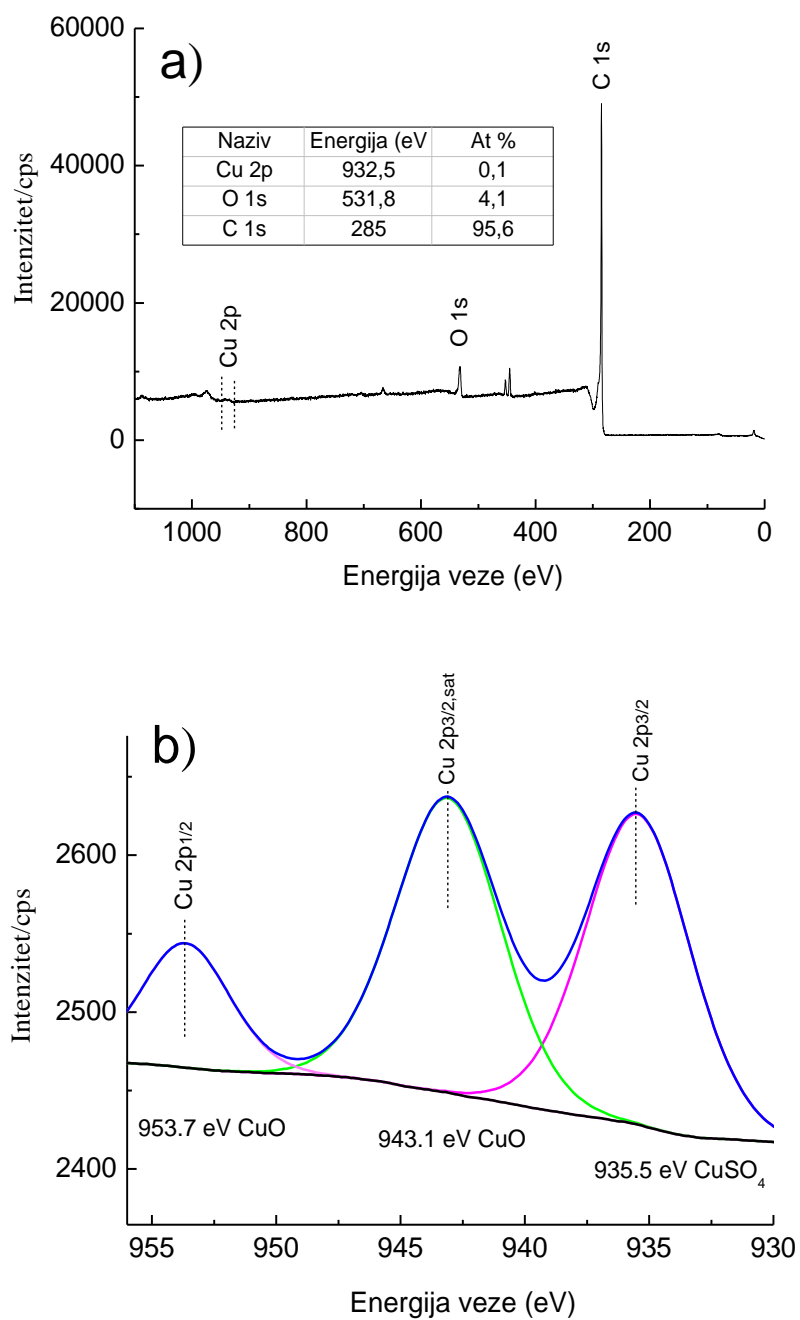
4.4.4 Rendgenska fotoelektronska spektroskopija Cu^{2+} - i Zn^{2+} - aktiviranih sorbenata

XPS spektar Cu/GAC uzorka prikazan je na Slici 30. Široki spektar sa pikovima osnovnih komponenti od kojih se uzorak sastoji (kiseonik, bakar i ugljenik) prikazan je na Slici 30a. Atomski procenat svake pojedinačne komponente dat je u umetnutoj tabeli, na Slici 30a. Uzorak se sastoji uglavnom od ugljenika sa 95,6 At %, od kiseonika sa 4,1 At % i bakra sa svega 0,1 At %. Uprkos maloj količini bakra prisutnog u uzorku, XPS spektar visoke rezolucije Cu 2p orbitale, prikazan na Slici 30b, jasno razlikuje Cu 2p fotoelektronske linije. Cu $2p_{3/2}$ fotoelektronske linije na 935,5 eV odgovaraju hemijskom obliku CuSO_4 [96], ili CuO [133], dok Cu $2p_{3/2,\text{sat}}$ linija na 943,1 eV potvrđuje prisustvu CuO [133]. Cu $2p_{1/2}$ fotoelektronska linija na 953,7 eV dodatno potvrđuje prisustvo CuO u uzorku [134].

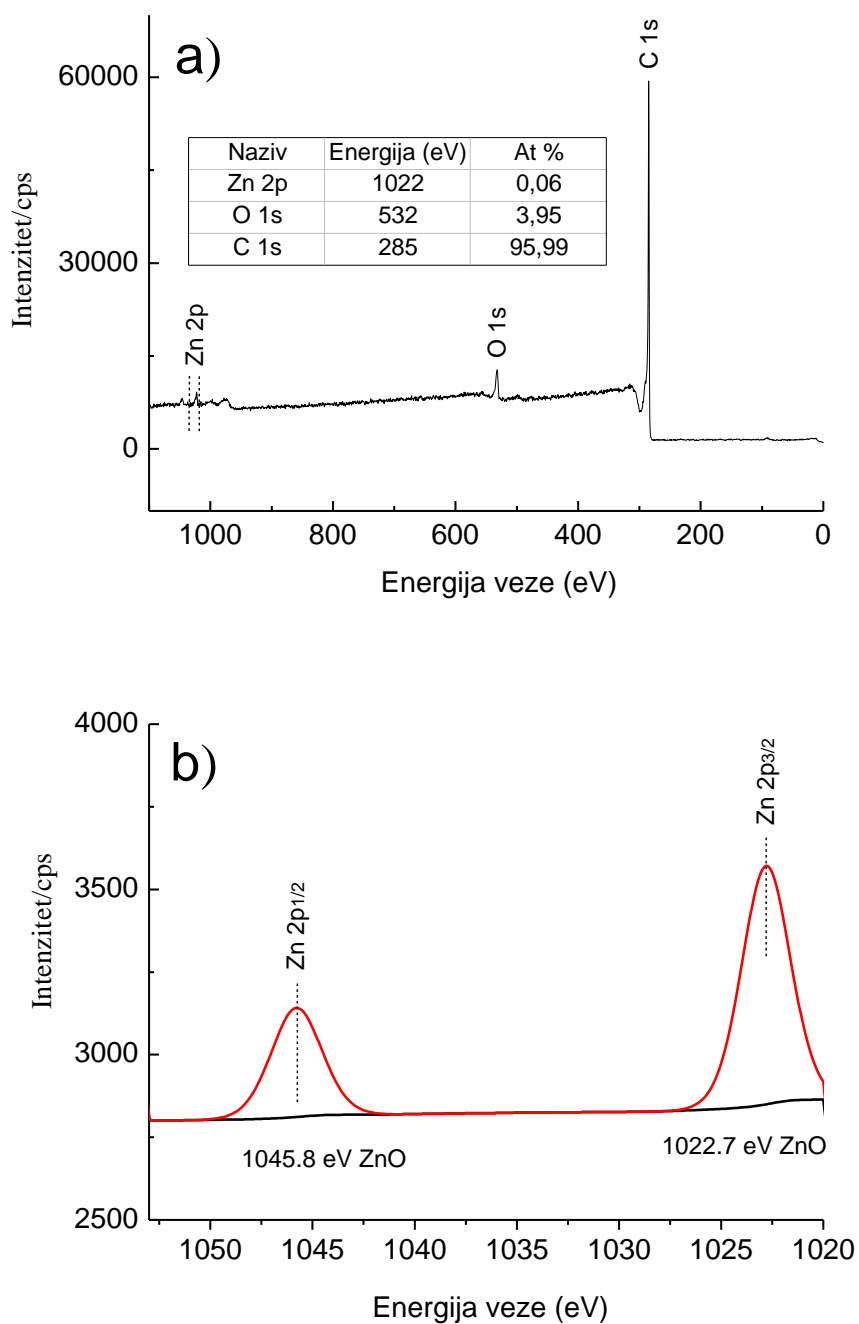
XPS spektar Zn/GAC uzorka prikazan je na Slici 31. Široki spektar prikazan na Slici 31a pokazuje pozicije kiseonika, zinka i ugljenika. Uzorak se uglavnom sastoji od ugljenika sa atomskim procentom 95,99 i 3,95 At % kiseonika (umetnuta tabela). Iako uzorak sadrži svega 0,06 At % zinka, pozicija Zn 2p fotoelektronske linije se može jasno utvrditi sa visokorezolucijskog spektra koji je prikazan na Slici 31b. Prema literaturnim podacima [133,135], obe Zn $2p_{3/2}$ i $2p_{1/2}$ linije, na 1022,7 i 1045,8 eV, respektivno, ukazuju da je zink bio prisutan u oksidacionom stanju Zn^{2+} .

XPS spektar Cu/Z uzorka prikazan je na Slici 32. Široki spektar na Slici 32a pokazuje fotoelektronske linije osnovnih elemenata: Al, Si, O, C, Cu, i njihovih atomskih procenata u umetnutoj tabeli. Atomski procenat bakra iznosio je 0,14 % i spektar visoke rezolucije Cu 2p linije dat je na Slici 32b. Cu 2p linije su fitovane sa dva pika koji odgovaraju hemijskom obliku CuO, sa Cu $2p_{3/2}$ linijom pozicioniranom na 933,7 eV [133] i Cu $2p_{1/2}$ na 953,6 eV [134].

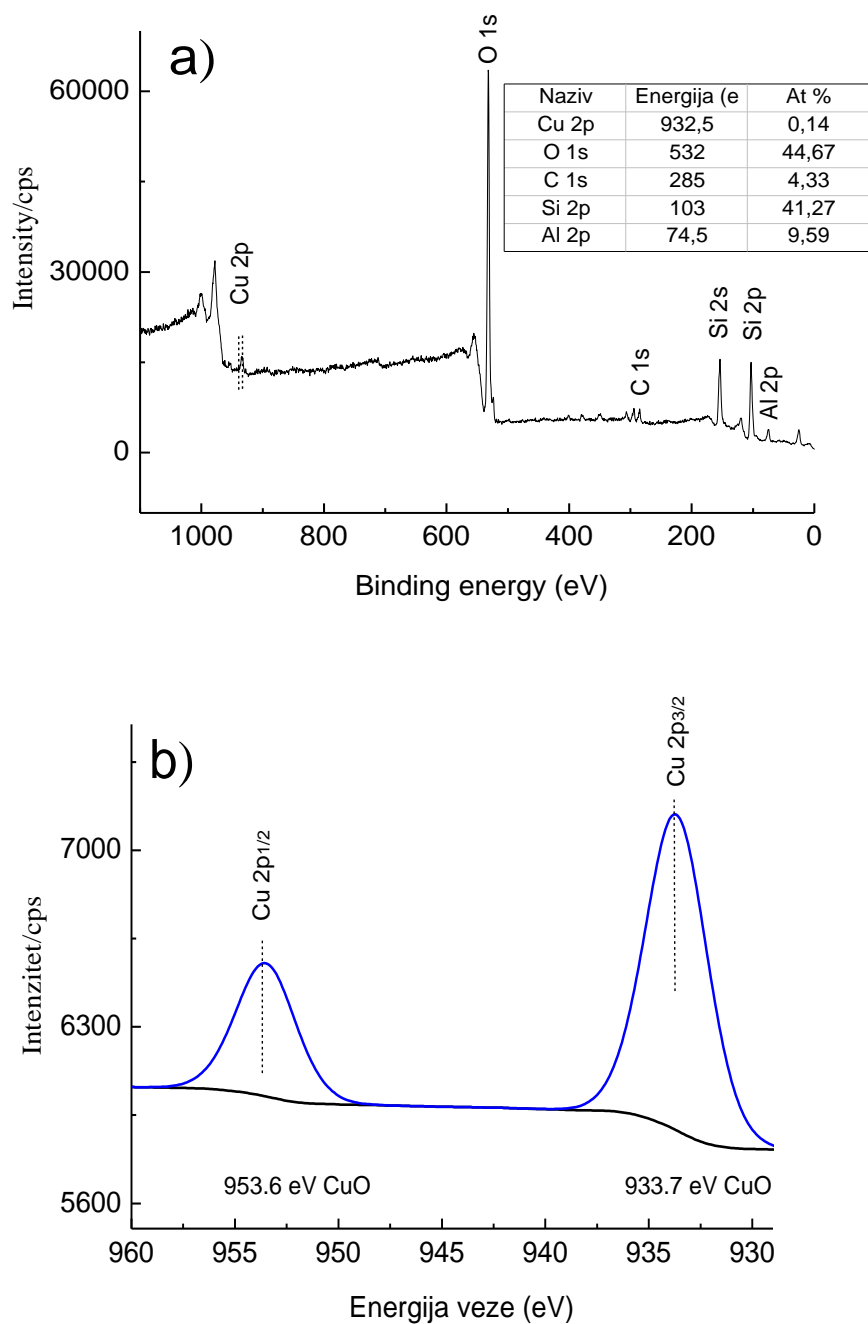
XPS spektar Zn/Z uzorka prikazan je na Slici 33. Široki spektar sa pozicijom osnovnih elemenata i njihovim atomskim procentima dat je na Slici 33a (umetnuta tabela). Spektar visoke rezolucije Zn 2p fotoelektronske linije, prikazane na Slici 33b, ukazuje na prisustvo Zn^{2+} jona u Zn/Z uzorku sa Zn $2p_{3/2}$ i $2p_{1/2}$ linijama pozicioniranim na 1022,8 i 1046,0 eV, respektivno [133,135].



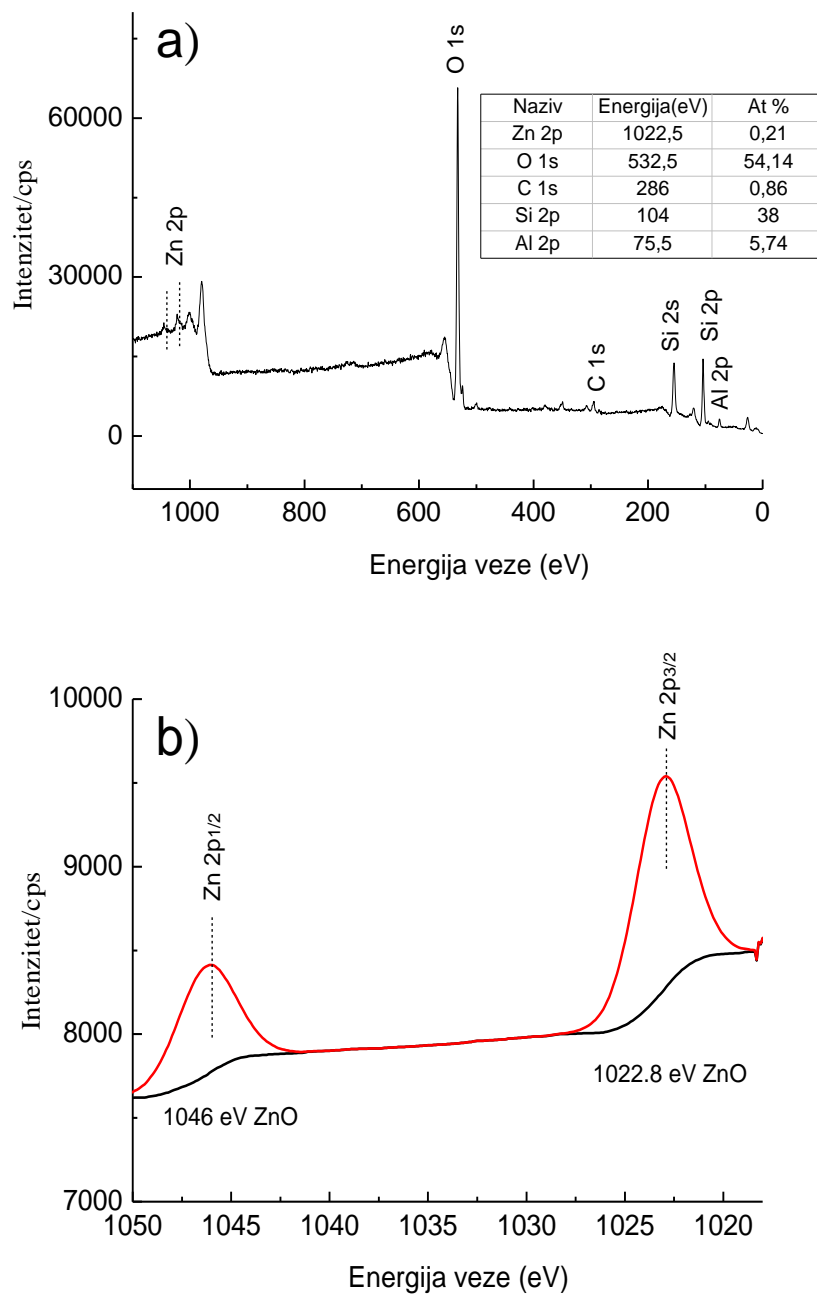
Slika 30. XPS spektar Cu/GAC sorbenta: a) široki spektar sa pozicijom i atomskim procentom (At %) osnovnih komponenti; b) spektar visoke rezolucije Cu 2p orbitale sa odgovarajućim energijama veze



Slika 31. XPS spektar Zn/GAC sorbenta: a) široki spektar sa pozicijom i atomskim procentom (At %) osnovnih komponenti; b) spektar visoke rezolucije Zn 2p orbitale sa odgovarajućim energijama veze



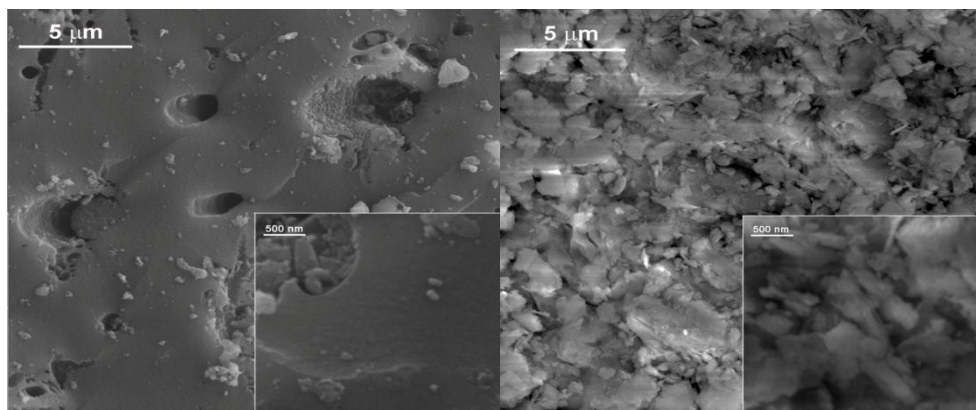
Slika 32. XPS spektar Cu/Z sorbenta: a) široki spektar sa pozicijom i atomskim procentom (At %) osnovnih komponenti; b) spektar visoke rezolucije Cu 2p orbitale sa odgovarajućim energijama veze



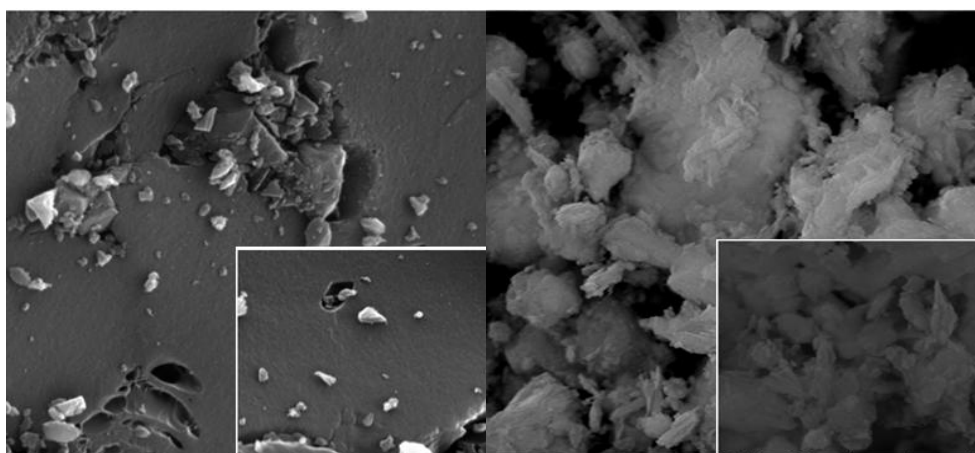
Slika 33. XPS spektar Zn/Z sorbenta: a) široki spektar sa pozicijom i atomskim procentom (At %) osnovnih komponenti; b) spektar visoke rezolucije Zn 2p orbitale sa odgovarajućim energijama veze

4.4.5 Skenirajuća elektronska mikroskopija Cu^{2+} - i Zn^{2+} -aktiviranih sorbenata

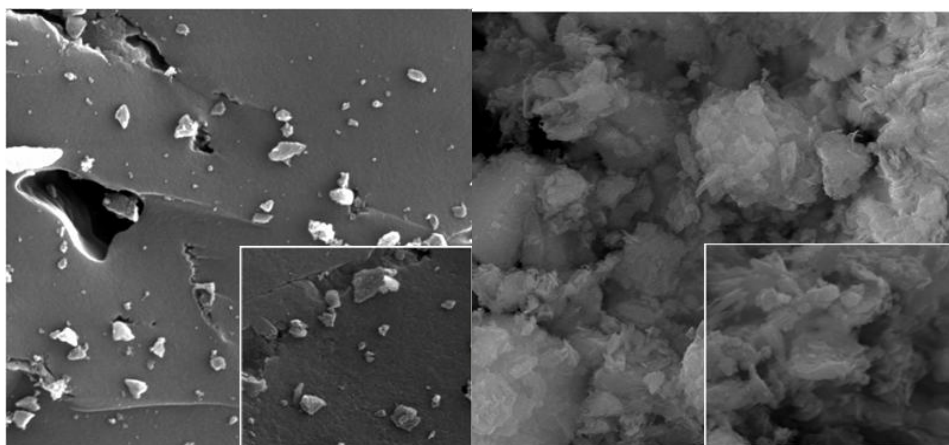
Površinska morfologija prirodnih i metalom aktiviranih sorbenata ispitana je primenom FE-SEM tehnike. Reprezentativni FE-SEM snimci prirodnih oblika GAC i Z sorbenata prikazani su na Slici 34 (levo i desno, respektivno). Pokazano je da se GAC uzorak sastoji od čestica raznovrnih oblika i veličina [46]. Morfologija klinoptilolita takođe se sastoji od čestica različitih oblika i veličina, što je uslovljeno postojanjem brojnih šupljina i kanala karakterističnih za neorgansku strukturu prirodnih zeolita [131]. Nakon Cu^{2+} -aktivacije, FE-SEM slike su pokazale prisustvo belih nanočestica na površini Cu/GAC uzorka, sa homogenom raspodelom i prečnikom čestica manjim od 500 nm (Slika 35, levo). Na površini aktiviranog Zn/GAC sorbenta takođe su snimljene promene uzorka u odnosu na prirodan materijal, usled prisustva čestica metala (Slika 36, levo). Morfološke promene Cu/GAC i Zn/GAC modifikovanih sorbenata bile su predmet istraživanja u nekim od prethodnih studija [99,135]. Reprezentativne FE-SEM slike Cu^{2+} - i Zn^{2+} - modifikovanog Z sorbenta prikazane su na Slici 35 (desno) i 36 (desno). Razlike u površinskim snimcima prirodnog, Z i aktiviranih, Cu/Z i Zn/Z sorbenata, nisu toliko očigledne kao što su pokazali FE-SEM snimci GAC modifikovanih sorbenata. Ovo se može objasniti prirodom materijala (prisustvom šupljina unutar zeolitne strukture) koja uslovljava veći stepen disperzije metalnih čestica i manje zadržavanje Cu^{2+} - i Zn^{2+} - jona na samoj površini.



Slika 34. FE-SEM snimak GAC (levo) i Z (desno) sorbenata sa uvećanjem od 10 000 i 70 000 (umetnuta slika)



Slika 35. FE- SEM snimak Cu/GAC (levo) i Cu/Z (desno) sa uvećanjem od 10 000 i 70 000 (umetnuta slika)



Slika 36. FE-SEM snimak Zn/GAC (levo) i Zn/Z (desno) sa uvećanjem od 10 000 i 70 000 (umetnuta slika)

4.5 Antimikrobni testovi

4.5.1. Antimikrobna aktivnost Ag^+ -aktiviranih sorbenata

Antimikrobna aktivnost sorbenata aktiviranih Ag^+ -jonima posmatrana je preko: reakcije jona metala adsorbovanih na površini sorbenta i reakcije slobodnih jona metala desorbovanih sa aktivne površine. Slobodni Ag^+ -joni ispoljavaju antimikrobno dejstvo [42,105]. Istovremeno, metalom aktivirani sorbenti privlače negativno naelektrisane ćelijske membrane na površinu materijala [33,35,38]. U okviru ovog istraživanja objašnjena je razlika u doprinosu Ag^+ -jona iz vodene faze i Ag^+ -jona sa aktivne površine sorbenta u ukupnom antimikrobnom dejstvu metalom aktiviranog sorbenta. Ukupna antimikrobna aktivnost aktiviranih sorbenata može da se posmatra kao sinergetsko dejstvo ova dva efekta. Posebni mikrobiološki testovi su izvedeni kako bi se dokazala polazna hipoteza ovog istraživanja: antimikrobno dejstvo metalom aktiviranih sorbenata posledica je dejstva jona imobilisanih na aktivnoj površini sorbenta (ne samo slobodnih jona koji desorbuju sa aktivne površine nosača).

4.5.1.1 Antimikrobni testovi Ag^+ -jona na površini sorbenta

Antimikrobno dejstvo Ag^+ -aktiviranih sorbenata ispitano je u tri različite faze aktivacije. Sorbenti su podeljeni prema količini preostalog adsorbata na površini sorbenta. Aktivirani Ag/GAC, Ag/Z i Ag/T sorbenti testirani su nakon: 24 h procesa sorpcije (uzorak obeležen kao 24S, u Tabeli 7), 6 h procesa desorpcije (uzorak obeležen kao 06D, u Tabeli 7) i 24 h procesa desorpcije (uzorak obeležen kao 24D, u Tabeli 7). Kako bi se obezbedili što pouzdaniji mikrobiološki uslovi za Ag^+ -aktivirane sorbente i sprečila redukcija jona srebra pod dejstvom svetlosti, svi eksperimenti su izvedeni u mraku. Vreme kontakta aktiviranih materijala i mikrobnih kultura bilo je ograničeno na 15 min, kako bi se smanjio uticaj desorpcije Ag^+ -jona u rastvoru, odnosno minimizirao efekat slobodnih Ag^+ -jona na ukupno antimikrobno dejstvo. Za nizak stepen desorpcije Ag^+ -jona, može se očekivati da je ukupan antimikrobni efekat metalom aktiviranog sorbenta posledica dejstva Ag^+ -jona sa površine. Aktivna mesta na površini sorbenta su mesta gde dolazi do reakcije jona sa mikrobnim ćelijama i do njihove inaktivacije. Za sorbente sa visokim stepenom desorpcije Ag^+ -jona, inaktivacija mikrobnih ćelija je posledica dominantnog dejstva slobodnih jona metala u mikrobnom rastvoru.

Prema rezultatima prikazanim u Tabeli 7, redukcija mikrobnih ćelija je bila najefikasnija u testovima sa Ag/Z sorbentom. Za *E. Coli*, smanjenje broja mikroorganizama je dostiglo 90,7, 92,2 i 93,5 %, za uzorke 24S, 06D i 24D, respektivno (prikazano u Tabeli 7). Step en inhibicije za *S. aureus*, u tri različite faze adsorbovanog srebra za Ag/Z sorbent, bio je: 99,1, 99,6 i 99,8 %. Antimikrobno dejstvo prema *C. albicans* se pokazalo kao nedovoljno efikasno kada je testiran Ag/Z, gde je za 24S, 06D i 24D uzorke inaktivacija ćelija iznosila: 19,1, 20,9 i 24,5 %, respektivno. Sorpcioni kapacitet kod Z sorbenta imao je najnižu vrednost za Ag⁺- jone, u poređenju sa GAC i T sorbentima (kao što je prikazano u Tabeli 6), ali je Ag/Z aktivirani sorbent pokazao najefikasnije inhibitorno dejstvo. Na osnovu dobijenih rezultata utvrđeno je da koncentracija aktivacionog agensa na površini materijala nije odlučujući faktor za efikasnu antimikrobnu aktivnost. Dostupnost i raspodela hemijskog agensa uticali su na efikasnost antimikrobnog dejstva metalom aktiviranog materijala [44]. Ovakvi antimikrobni rezultati uslovljeni su prirodom samog materijala, odnosno biodostupnošću aktivacionog agensa. Ag⁺- joni kod klinoptilolita dispergovani su na površini materijala i inkorporirani unutar strukture zeolita što je uslovalo efikasnu antimikrobnu aktivnost.

Inhibitorno dejstvo Ag/T aktiviranog sorbenta prema svim testiranim mikrobnim kultarama imalo je prosečnu efikasnost uklanjanja oko 80 %. Iako je vrednost SK, kao što je prikazano u Tabeli 6, bila veća za Ag/T sorbent u poređenju sa Ag/Z uzorkom, dezinfekcija je bila manje izražena kod Ag/T aktiviranog sorbenta. Step en inhibicije mikrobnih ćelija za Ag/T sorbent, upotrebljen u različitim fazama aktivacije materijala (uzorci obeleženi sa: 24S, 06D i 24D, u Tabeli 7), imao je sledeće vrednosti: 78,4, 82,0 i 86,8 %, respektivno. Inaktivacija *S. aureus* ćelija, u pomenutom poretku Ag/T uzoraka (24S, 06D i 24D), iznosila je: 79,0, 85,1 i 89,6 %. Kada se porede sva tri Ag⁺-aktivirana sorbenta, najefikasnije uklanjanje ćelija plesni *C. albicans* postignuto je sa Ag/T uzorkom. Interesantna je činjenica da je antimikrobna aktivnost Ag⁺- aktiviranog T sorbenata rasla sa smanjenjem sadržaja aktivirajuće supstance (hemijskog agensa) na aktivnoj površini. Tako je za Ag/T uzorke: 24S, 06D i 24D, efikasnost uklanjanja ćelija *C. albicans* imala sledeće vrednosti: 33,3, 40,7 i 48,1 %, respektivno. Strukturna analiza Ag/T uzorka pokazala je da je srebro adsorbovano na površinu sorbenta u vidu Ag⁺-jona (u hemijskom obliku AgO). Međutim, pretpostavlja se da je heterogena distribucija

Ag⁺- jona, kao i redukcija AgO na površini materijala [136], dovela do smanjene antimikrobne aktivnosti Ag/T sorbenta u poređenju sa Ag/Z sorbentom. Analiza i tumačenje rezultata stepena inhibicije mikroorganizama, naročito je značajna i interesantna sa aspekta procesa desorpcije. Iako je Ag/T sorbent imao 10 puta izraženiju desorpciju u odnosu na Ag/Z, antimikrobna aktivnost Ag/T nije prešla 90 %. Ovo navodi na zaključak da je inhibitorno dejstvo Ag/T aktiviranog sorbenta posledica simultanog dejstva - kontakta između mikrobnih ćelija i Ag⁺- jona sa aktivne površine (jona u čvrstoj fazi), kao i Ag⁺- jona desorbovanih sa površine materijala.

Antimikrobno dejstvo Ag/GAC aktiviranog sorbenta pokazalo se kao najmanje efikasno za sve tri mikrobne kulture: *E. coli*, *S. aureus* i *C. Albicans* (kao što je prikazano u Tabeli 7), u poređenju sa Ag/Z i Ag/T sorbentima. Stepen inhibicije *E. coli*, za Ag/GAC uzorke 24S, 06D i 24D imao je sledeće vrednosti: 47,2, 49,7 i 51,8 %, respektivno. Prema navedenom redosledu Ag/GAC uzoraka (uzorci obeleženi sa: 24S, 06D i 24D, u Tabeli 7), redukcija ćelija *S. aureus* je bila slična kao za *E. coli*, sa sledećim vrednostima: 45,0, 48,3, i 50,0 %, dok je za *C. albicans* uklanjanje ćelija bilo slabije izraženo, sa vrednostima: 34,1, 36,4 i 43,2 %. Ovi rezultati su očekivani s obzirom na činjenicu da se joni srebra iz aktivacionog medijuma redukuju na GAC površini i Ag/GAC aktivirani sorbent sadrži, u najvećoj meri, srebro u elementarnom obliku. Poznato je da je metalno srebro manje efikasan inhibitor u odnosu na jone srebra [107], ali i da ukupni antibakterijski efekat zavisi od njegove biodostupnosti [97]. Ova činjenica ukazuje da je redukcija mikrobnih ćelija koristeći Ag/GAC sorbent posledica oslobađanja Ag⁺- jona u mikrobni rastvor sa Ag/GAC površine, tokom 15 min kontaktnog perioda. Ovo zapažanje je potvrđeno i u antimikrobnim testovima Ag⁺- jona oslobođenih sa aktivne površine sorbenta, analizirajući aspekt desorpcije u antimikrobnim testovima. Ukoliko bi stepen inhibicije zavisio samo od desorbovanih Ag⁺- jona, isti stepen desorpcije GAC i Z sorbenata rezultovao bi sličnom antimikrobnom efikasnošću ova dva materijala. Suprotno tome, Ag/Z sorbent je pokazao duplo veću efikasnost inhibicije kao rezultat površinskih svojstava ispitanog materijala.

Kada se analizira antimikrobna aktivnost Ag⁺- aktiviranih sorbenata (prikazano u Tabeli 7), redukcija mikrobnih ćelija raste od *C. albicans*, preko *S. aureus* do *E. coli*,

dok se kod Ag/Z i Ag/T sorbenata uočava blaga prednost za *S. aureus* ćelije u odnosu na *E. coli*. Za sva tri Ag⁺- aktivirana sorbenta, *C. albicans* se pokazala kao najotpornija kultura za inhibiciju srebrom. Različite mikrobnne ćelije imaju specifične mehanizme zaštite kada su izložene dejstvu hemijskog agensa [47]. Među testiranim organizmima, *E. coli* i *S. aureus* su pokazale visoku osetljivost prema srebru (naročito u jonskom obliku, koje je prisutno na aktivnim mestima Ag/Z i Ag/T sorbenata). Sposobnost *C. albicans* da proizvede antioksidativni enzim - katalazu, objašnjava otpornost ćelije da se zaštititi od destruktivnog dejstva hemijskog agensa [122].

Kod analize antimikrobnog dejstva sorbenata aktiviranih jonima metala, prema količini preostalog adsorbata na površini sorbenta, primećeno je da su uzorci sa većom količinom hemijskog agensa (uzorci obeleženi sa 06D i 24D, u Tabeli 7) pokazali neznatno veću antimikrobnu efikasnot, u poređenju sa sveže aktiviranim materijalom (24S). Ovo zavisi od broja Ag⁺- aktivnih mesta i njihove (bio)dostupnosti mikrobnim ćelijama. U prethodnim istraživanjima dokazano je da visoke vrednosti sorpcionih kapaciteta Ag⁺- jona rezultuju smanjenom antimikrobnom aktivnošću Ag⁺- aktiviranog sorbenta [34,40]. Sorbenti nakon 6 i 24 h procesa desorpcije (uzorci obeleženi sa 06D i 24D, u Tabeli 7), pokazali su se kao efikasniji inhibitori u poređenju sa uzorkom sa maksimalnim stepenom aktivacije (uzorak obeležen sa 24S, u Tabeli 7). Postoje dva moguća objašnjenja smanjene antimikrobne aktivnosti sorbenata sa većim sadržajem srebra: i) ovo je posledica redukcije jona srebra do elementarnog oblika srebra na aktivnoj površini sorbenta (od Ag⁺ do Ag⁰) [40] i ii) oslobađanje adsorbovanih Ag⁺- jona sa površine sorbenta vodi do povećanje stepena poroznosti materijala [36]. Veći Ag⁺/Ag⁰ odnos u metalom aktiviranom sorbentu rezultuje efikasnijim antimikrobnim dejstvom materijala [98]. Otpuštanjem Ag⁺- jona sa površine sorbenta (nakon 6 i 24 h procesa desorpcije), ostaje znatno više slobodnog prostora koji omogućava mikroorganizmima da se „zakače” na površinu sorbenta kao preduslov za antimikrobni efekat. Slična zapažanja su već objavljena kao rezultat predhodnih antimikrobnih istraživanja [40].

4.5.1.2 Antimikrobni testovi Ag⁺- jona u vodenoj sredini

Analiza procesa desorpcije Ag⁺- jona za testirane Ag/GAC, Ag/Z i Ag/T sorbente (kao što je prikazano u potpoglavlju 4.3.2), pokazala je različite afinitete

aktiviranih materijala za otpuštanje Ag^+ - jona. Slabo izražena desorpcija karakteristična je za zeolit, umerena za aktivni ugalj, dok je izražena desorpcija zabeležena kod titandioksida. Selekcija sorbenata sa različitim stepenima desorpcije izvršena je kako bi se pratila koncentracija slobodnih Ag^+ - jona u vodenom rastvoru. Na osnovu koncentracije Ag^+ - jona oslobođenih u vodenu sredinu tokom desorpcionog eksperimenta može da se odredi doprinos ovih jona u ukupnoj antimikrobnoj aktivnosti Ag^+ - aktiviranog sorbenta. Odvojeni antimikrobni testovi Ag^+ - jona u vodenoj sredini (desobovanih sa aktivne površine nosača) doprineli su razjašnjenju mehanizma antimikrobnog dejstva metalom aktiviranih sorbenata.

Mikrobiološko ispitivanje izvedeno je u kontrolisanim antimikrobnim uslovima, gde su Ag^+ - joni desorbovani sa površine Ag/GAC, Ag/Z i Ag/T sorbenata korišćeni kao hemijski agensi. Sorbenti su testirani u različitim fazama desorpcije. Testirani uzorci obeleženi su na sledeći način: 24S-a (koncentracija Ag^+ - jona koju desorbuje uzorak 24S, u Tabeli 8), 06D-a (koncentracija Ag^+ - jona koju desorbuje uzorak 06D, u Tabeli 8) i 24D-a (koncentracija Ag^+ - jona koju desorbuje uzorak 24D, u Tabeli 8). Oznaka 'a' ukazuje na koncentraciju Ag^+ - jona u vodenom rastvoru. Vreme trajanja procesa desorpcije za sve posmatrane uzorke bilo je ograničeno na 15 min. Ovo kontaktno vreme je ekvivalentno trajanju inkubacije kod antimikrobnih testova Ag^+ - jona na površini sorbenta. Na ovaj način, omogućeno je razdvajanje uticaja Ag^+ - jona iz rastvora i Ag^+ - jona iz čvrste faze u ukupnoj antimikrobnoj aktivnosti metalom aktiviranog sorbenta. Rezultati antimikrobne aktivnosti desorbovanih Ag^+ - jona sa površine aktiviranog materijala prikazani su u Tabeli 8.

Čvrsti uzorci u različitim fazama aktivacije (obeleženi sa 24S, 06D, 24D, u Tabeli 7) desorbovali su niske koncentracije Ag^+ - jona u vodenoj fazi (obeleženi sa 24S-a, 06D-a, 24D-a, u Tabeli 8). Dobijene su sledeće vrednosti koncentracija Ag^+ - jona desorbovanih sa Ag/Z sorbenta, prema redosledu navedenih vodenih uzoraka, izražene u mg/L: 0,080, 0,030 i 0,020, respektivno. Koncentracija Ag^+ - jona desorbovanih sa Ag/GAC sorbenta su bile 10 puta veće od onih za Ag/Z, desorbovanih za isto vreme. Vrednosti izmerenih koncentracija Ag^+ - jona za Ag/GAC sorbent, odnosno za uzorke 24S-a, 06D-a, 24D-a bile su: 0,500, 0,200 and 0,035 mg/L, respektivno. Ag/T sorbent je pokazao izuzetno visoko otpuštanje Ag^+ - jona, sa

vrednostima: 5,00, 0,400 i 0,170 mg/L nakon 15 min desorpcije, za ispitivane uzorke: 24S-a, 06D-a i 24D-a, respektivno.

Rezultati prikazani u Tabeli 8 ukazuju da, slično kao kod ispitivanja ukupne antimikrobne aktivnosti Ag^+ - aktiviranih sorbenata, ćelije *S. aureaus* i *E. coli* su bile najosetljivije na prisustvo Ag^+ - jona [104]. *C. albicans* bila je najotpornija na desjstvo svih aktiviranih materijala. Redukcija mikrobnih ćelija Ag^+ - jonima iz vodene faze (prikazano u Tabeli 8) izvedena je u odvojenim antimikrobnim eksperimentima, koji se odnose samo na prisustvo Ag^+ - jona desorbovanih sa površine metalom aktiviranih sorbenata. Uklanjanje ćelija opada sa smanjenjem koncentracije Ag^+ - jona, za analizirane uzorke: 24S-a, 06D-a i 24D-a. Najefikasnije uklanjanje mikrobnih ćelija dobijeno je za Ag/T vodene uzorke, zbog najizraženijeg stepena desorpcije Ag^+ - jona. Generalno, antimikrobna aktivnost Ag^+ - jona desorbovanih sa Ag/GAC, Ag/Z i Ag/T aktiviranih sorbenata je neznatna usled kratkog vremena kontakta (15 min) upotrebljenog hemijskog agensa sa mikrobnim rastvorom (prikazano u Tabeli 8).

4.5.1.3 Mehanizam antimikrobnog dejstva Ag^+ -aktiviranih sorbenata

Ukupna antimikrobna aktivnost Ag/GAC, Ag/Z i Ag/T aktiviranih sorbenata može se objasniti preko odvojenih antimikrobnih testova Ag^+ - jona sa čvrste i Ag^+ - jona iz vodene faze. Najvažniji aspekt ovog istraživanja vezan je za proces desorpcije, odnosno za različite stepene desorpcije Ag^+ - jona za testirane materijale. Na taj način, omogućeno je praćenje interakcija mikrobnih ćelija sa Ag^+ - jonima iz vodene i čvrste faze. Posmatrajući Ag/Z sorbent, sa niskim stepenom desorpcije i neznčajnim antimikrobnim dejstvom oslobođenih Ag^+ - jona (prikazano u Tabeli 8), zaključuje se da je ukupna redukcija mikrobnih ćelija posledica dejstva Ag^+ - aktivnih mesta na površini sorbenta. Uprkos tome, izražena desorpcija kod Ag/T aktiviranog sorbenta rezultovala je sa značajnim udelom Ag^+ - jona desorbovanih sa aktivne površine na ukupno inhibitorno dejstvo. Kada se uporede vrednosti stepena redukcije mikrobnih ćelija koristeći Ag/T, odnosno 24S čvrsti uzorak (prikazan u Tabeli 7) i 24S-a vodeni uzorak (prikazan u Tabeli 8), skoro 50 % od ukupnog antimikrobnog dejstva posledica je prisustva Ag^+ - jona u vodenoj fazi. Ispitivanje procesa desorpcije Ag^+ - jona sa Ag/T aktivne površine u trajanju od 15 min, bilo je značajno u potvrdi ovakvog rezultata. Slično kao kod Ag/T sorbenta, antimikrobni rezultati su pokazali značajan uticaj Ag^+ -

jona iz vodene faze kod Ag/GAC sorbenta. Srebro je adsorbovano kao elementarno srebro (Ag^0) na Ag/GAC aktiviranom materijalu, što dodatno potvrđuje antimikrobno dejstvo Ag^+ - jona koji desorbuju sa površine (Ag^0 je slabije antimikrobno sredstvo od Ag^+ - jona). Međutim, važno je istaći da je uticaj Ag^+ - jona iz vodene faze najdominantniji za sveže aktivirane sorbente, sa najvećim sorpcionim kapacitetom (uzorak obeležen sa 24S, u Tabeli 7), gde je i najveća promena koncentracije desorbovanih Ag^+ - jona tokom vremena (uzorak obeležen sa 24S-a, u Tabeli 8). Uzorci testirani sa smanjenim sadržajem adsorbata na površini sorbenta (obeleženi kao 06D i 24D u Tabeli 7), imaju sporiju kinetiku desorpcije i, samim tim, otpuštanje Ag^+ - jona je slabije izraženo. Za ove uzorke, uticaj Ag^+ - jona iz vodene faze (prikazano u Tabeli 8) na ukupnu antimikrobnu aktivnost aktiviranog sorbenta je manje značajan. Dakle, za sorbente koji su upotrebljeni u određenoj fazi aktivacije, dominantan je uticaj aktivnih mesta na površini sorbenta u ukupnom antimikrobnom dejstvu. Ovaj zaključak je od izuzetnog značaja za praktičnu primenu površinski modifikovanih materijala u mikrobiološkom prečišćavanju voda.

Na osnovu rezultata dobijenih iz posebnih antimikrobnih testova Ag^+ - jona iz čvrste i vodene faze, ukupno antimikrobno dejstvo metalom aktiviranih sorbenata zavisi od površinskih svojstava ispitivanog materijala, kao i od hemijskog oblika i oksidacionog stanje antimikrobnog agensa.

Tabela 7. Antimikrobna aktivnost Ag⁺- jona na čvrstoj fazi (Ag/GAC, Ag/Z i Ag/T aktivirani sorbenti u različitim fazama aktivacije), nakon 15 min kontakta sa mikrobnom kulturom

Uzorak	<i>E. coli</i>						<i>S. aureus</i>						<i>C. albicans</i>					
	CFU/mL			R (%)			CFU/mL			R (%)			CFU/mL			R (%)		
	24S	06D	24D	24S	06D	24D	24S	06D	24D	24S	06D	24D	24S	06D	24D	24S	06D	24D
Kontrolni GAC	3,98 x 10 ⁵	3,98 x 10 ⁵	3,98 x 10 ⁵				6,00 x 10 ⁵	6,00 x 10 ⁵	6,00 x 10 ⁵				2,20 x 10 ⁵	2,20 x 10 ⁵	2,20 x 10 ⁵			
Ag/GAC	2,10 x 10 ⁵	2,00 x 10 ⁵	1,92 x 10 ⁵	47,2	49,7	51,8	3,30 x 10 ⁵	3,10 x 10 ⁵	3,00 x 10 ⁵	45,0	48,3	50,0	1,45 x 10 ⁵	1,40 x 10 ⁵	1,25 x 10 ⁵	34,1	36,4	43,2
Kontrolni Z	3,83 x 10 ⁵	3,83 x 10 ⁵	3,83 x 10 ⁵				5,40 x 10 ⁵	5,40 x 10 ⁵	5,40 x 10 ⁵				2,78 x 10 ⁵	2,78 x 10 ⁵	2,78 x 10 ⁵			
Ag/Z	3,56 x 10 ⁴	3,00 x 10 ⁴	2,50 x 10 ⁴	90,7	92,2	93,5	5,10 x 10 ³	2,20 x 10 ³	1,10 x 10 ³	99,1	99,6	99,8	2,25 x 10 ⁵	2,20 x 10 ⁵	2,10 x 10 ⁵	19,1	20,9	24,5
Kontrolni T	3,45 x 10 ⁵	3,45 x 10 ⁵	3,45 x 10 ⁵				5,00 x 10 ⁵	5,00 x 10 ⁵	5,00 x 10 ⁵				2,70 x 10 ⁵	2,70 x 10 ⁵	2,70 x 10 ⁵			
Ag/T	7,45 x 10 ⁴	5,90 x 10 ⁴	4,10 x 10 ⁴	78,4	82,0	86,8	1,05 x 10 ⁵	7,45 x 10 ⁴	5,20 x 10 ⁴	79,0	85,1	89,6	1,80 x 10 ⁵	1,60 x 10 ⁵	1,40 x 10 ⁵	33,3	40,7	48,1

Tabela 8. Antimikrobna aktivnost desorbovanih Ag⁺- jona u vodenoj fazi (sa aktivne površine sorbenta u različitim fazama aktivacije), nakon 15 min kontakta sa mikrobnom kulturom

Uzorak	<i>E. coli</i>						<i>S. aureus</i>						<i>C. albicans</i>					
	CFU/mL			R (%)			CFU/mL			R (%)			CFU/mL			R (%)		
	24S a	06D a	24D a	24S a	06D a	24D a	24S a	06D a	24D a	24S a	06D a	24D a	24S a	06D a	24D a	24S a	06D a	24D a
Kontrola fiziološki rastvor	2,12 x 10 ⁶	2,12 x 10 ⁶	2,12 x 10 ⁶				1,35 x 10 ⁶	1,35 x 10 ⁶	1,35 x 10 ⁶				1,43 x 10 ⁶	1,43 x 10 ⁶	1,43 x 10 ⁶			
Ag/GAC	1,65 x 10 ⁶	1,78 x 10 ⁶	1,95 x 10 ⁶	22,2	16,0	8,0	1,07 x 10 ⁶	1,10 x 10 ⁶	1,21 x 10 ⁶	20,7	18,5	10,4	1,22 x 10 ⁶	1,37 x 10 ⁶	1,41 x 10 ⁶	14,7	4,2	1,4
Ag/Z	1,98 x 10 ⁶	2,00 x 10 ⁶	2,05 x 10 ⁶	6,6	5,7	3,3	1,25 x 10 ⁶	1,30 x 10 ⁶	1,32 x 10 ⁶	7,4	3,7	2,2	1,38 x 10 ⁶	1,40 x 10 ⁶	1,39 x 10 ⁵	3,5	2,1	2,8
Ag/T	1,35 x 10 ⁶	1,65 x 10 ⁶	1,75 x 10 ⁶	36,3	22,2	17,5	8,00 x 10 ⁵	1,02 x 10 ⁶	1,18 x 10 ⁶	40,7	24,4	12,6	1,05 x 10 ⁶	1,20 x 10 ⁵	1,35 x 10 ⁵	26,6	16,2	5,6

4.5.2 Antimikrobna aktivnost Cu²⁺- i Zn²⁺-aktiviranih sorbenata

Antimikrobnom testiranju Cu²⁺- i Zn²⁺- aktiviranih sorbenata prethodilo je ispitivanje kinetike desorpcije Cu²⁺- i Zn²⁺- jona u vodenom rastvoru (prikazano u potpoglavlju 4.4.2). Na osnovu prethodno dobijenih rezultata mikrobioloških analiza za Ag⁺- aktivirane sorbente, zaključeno je da nizak stepen desorpcije jona metala ne doprinosi ukupnom antimikrobnom dejstvu metalom aktiviranih sorbenata. Upravo iz tog razloga (slabo izražene desorpcije), kod Cu/GAC, Zn/GAC, Cu/Z i Zn/Z aktiviranih sorbenata nisu rađene odvojene mikrobiološke analize za Cu²⁺- i Zn²⁺- jone u vodenoj fazi. Ukupno antimikrobno dejstvo Cu²⁺- i Zn²⁺- aktiviranih sorbenata, sa zanemaljivo izraženom desorpcijom, posmatra se kao aktivnost jona metala imobilisanih na aktivnoj površini sorbenta (jona u čvrstoj fazi). Rezultati antimikrobne aktivnosti Cu/GAC, Zn/GAC, Cu/Z i Zn/Z aktiviranih sorbenata, nakon 15 min kontakta sa mikrobom kulturom prikazani su u Tabeli 9.

Tabela 9. Antimikrobna aktivnost Cu/GAC, Zn/GAC, Cu/Z i Zn/Z aktiviranih sorbenata, nakon 15 min kontakta sa mikrobom kulturom

Uzorak	<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>		<i>C. albicans</i>	
	CFU/mL	R (%)	CFU/mL	R (%)	CFU/mL	R (%)
Kontrolni GAC	3,98 × 10 ⁵		6,00 × 10 ⁵		2,20 × 10 ⁵	
Cu/GAC	7,00 × 10 ³	98,24 ± 0,2	3,00 × 10 ⁵	50,00 ± 0,3	1,48 × 10 ⁵	32,73 ± 0,3
Zn/GAC	4,50 × 10 ⁴	88,69 ± 0,1	5,80 × 10 ⁵	3,33 ± 0,4	1,34 × 10 ⁵	39,09 ± 0,2
Kontrolni CLI	3,83 × 10 ⁵		5,40 × 10 ⁵		2,78 × 10 ⁵	
Cu/Z	0,00	100,00 ± 0,2	2,20 × 10 ⁵	59,26 ± 0,2	1,55 × 10 ⁵	44,24 ± 0,4
Zn/Z	9,10 × 10 ⁴	76,24 ± 0,3	5,10 × 10 ⁵	5,56 ± 0,5	1,84 × 10 ⁵	33,81 ± 0,3

Antimikrobna aktivnost Cu/GAC, Zn/GAC, Cu/Z i Zn/Z sorbenata testirana je na uzorcima nakon 24 h procesa aktivacije, sa najvećom količinom adsorbovanih Cu²⁺- i Zn²⁺- jona na testiranim materijalima. Vreme kontakta mikroorganizama sa metal-aktiviranim sorbentima bilo je 15 min kako bi se minimizirao uticaj desorpcije Cu²⁺- i Zn²⁺- jona u rastvoru mikrobne

kulture. U cilju stimulisanja maksimalnog inhibitornog dejstva aktiviranih sorbenata na bakterije i plesan, eksperimenti su izvedeni na dnevnoj svetlosti. U prethodnim istraživanjima dokazano je da kod antimikrobnih testova Cu^{2+} - i Zn^{2+} - aktiviranih sorbenata dolazi do povećavanja uklanjanja mikrobnih ćelija usled prisustva svetlosti [93].

Kada se analiziraju antimikrobni rezultati aktiviranih sorbenata, prikazanih u Tabeli 9, redukcija mikrobnih ćelija za Cu^{2+} - aktivirane sorbente imala je sledeći rastući poredak: *C. albicans*, *S. aureus* i *E. coli*, dok su za Zn^{2+} - aktivirane uzorke, najotpornije ćelije *S. aureus*, *C. albicans* i najposle *E. coli*. Najveći stepen uklanjanja nakon 15 min kontakta sa mikroorganizmima dobijen je za Cu/Z i Cu/GAC sorbente prema ćelijama *E. coli*, u vrednostima 100,0 i 98,24 %, respektivno, dok je za Zn/GAC i Zn/Z, uklanjanje ćelija dostiglo vrednosti od 88,69 i 76,24 %, respektivno. Kada su Cu/GAC i Cu/Z sorbenti bili u kontaktu sa *S. aureus*, rezultati su pokazali umerenu inhibiciju (50,0 i 59,26 %, respektivno), dok je za Zn/GAC i Zn/Z, redukcija ćelija bila minimalna (3,33 i 5,56 %, respektivno). Najpravnomernije uklanjanje mikrobnih ćelija postignuto je za plesan *C. albicans*, sa vrednostima u opsegu od 32,73 do 44,24 % za Cu/GAC i Cu/Z sorbente, respektivno.

Kada se uporede rezultati antimikrobnih testova Cu^{2+} - i Zn^{2+} - modifikovanih materijala, najefikasnije uklanjanje mikrobnih ćelija dobijeno je za Cu^{2+} - aktivirane sorbente (sa izuzetkom Cu/GAC dejstva na *C. albicans*). Ovo je u saglasnosti sa prethodnim istraživanjima gde su ćelije *E. coli* i *S. aureus* pokazale veću osetljivost prema bakru, u poređenju sa cinkom, naročito prema Cu^{2+} - jonima [33,38,42,38,93]. Santo je sa saradnicima ispitao antimikrobnu aktivnost elementarnog bakra [72]. U ovom istraživanju, Cu/GAC modifikovani materijal sa elementarnim bakrom (Cu^0) adsorbovanim na površini sorbenta i malom količinom bakra u jonskom obliku (Cu^{2+}), pokazao se kao veoma dobar nosač za uklanjanje bakterije *E. coli*. Hu i koautori pokazali su da je antimikrobno dejstvo bakrom modifikovanog montmorilonita u većoj meri zavisilo od prisustva Cu^{2+} - jona u čvrstoj fazi, nego od desorbovanih Cu^{2+} - jona. Objašnjenje antimikrobne aktivnosti je usko vezano za površinska svojstva ispitivanog materijala gde je gustina Cu^{2+} - jona raspoređenih na mineralnoj površini bila mnogo veća nego koncentracija Cu^{2+} - jona oslobođenih u mikrobnom rastvoru [106].

Nizak stepen inhibicije Zn/GAC i Zn/Z sorbenata prema ćelijama *S. aureus* može se objasniti malim sorpcionim kapacitetima testiranih materijala prema Zn^{2+} -jonima adsorbovanim na površini sorbenta. Pretpostavlja se da zink, kao esencijalni element, kada je prisutan u niskim koncentracijama može da stimuliše rast bakterijskih ćelija [42]. Ćelije mikroorganizama imaju specifične mehanizme zaštite kada su izložene dejstvu hemijskog agensa. Osetljivost različitih bakterija prema Cu^{2+} - i Zn^{2+} -jonima je ispitana u ranijim studijama [137]. U ovom istraživanju, inhibitorno dejstvo svih aktiviranih Cu/GAC, Zn/GAC, Cu/Z i Zn/Z sorbenata prema ćelijama *C. albicans* pokazalo se kao nedovoljno efikasno. Slični rezultati antimikrobnih testova prema ćelijama plesni dobijeni su za GAC i Z sorbente aktivirane sa Ag^+ -jonima [66].

Kada se analizira inhibitorno dejstvo GAC i Z sorbenata aktiviranih sa Cu^{2+} - i Zn^{2+} -jonima, zaključuje se da je klinoptilolit najefikasniji antimikrobni materijal. Najveći stepen inhibicije, za sve testirane mikrobne kulture, dobijen je za Cu/Z aktivirani sorbent. Kao što je dokazano i kod mikrobioloških analiza Ag^+ -aktiviranih sorbenata, razlog efikasnog antimikrobnog dejstva ne leži u sorpcionom kapacitetu materijala prema izabranom jonu metala (klinoptilolit je imao najmanju vrednost sorpcionog kapaciteta za Cu^{2+} -jone, u poređenju sa svim drugim metal-sorbent kombinacijama, pokazanim u Tabeli 6). Priroda materijala, odnosno površinska svojstva u velikoj meri su uticala na raspodelu Cu^{2+} -jona po površini Cu/Z sorbenta i njihovu biodostupnost ćelijama mikrobni kultura. U prethodnim studijama, pokazano je da povećanje količine adsorbovanog bakra na površini zeolita nije rezultovalo značajnom promenom u antimikrobnoj aktivnosti modifikovanog materijala [93]. Antimikrobna aktivnost Cu/Z sorbenta uslovljena je prisustvom Cu^{2+} -jona koji su inkorporirani unutar zeolitne strukture i dispegovani na površini materijala. Ova činjenica dokazuje da strukturne karakteristike metalom aktiviranih sorbenata imaju veliki uticaj na njihovu antimikrobnu aktivnost.

Na osnovu rezultata mikrobioloških testova dobijenih u ovom istraživanju, zaključuje se da ukupno antimikrobno dejstvo metalom aktiviranih sorbenata ne zavisi samo od prisustva i količine metalnih jona (jona u čvrstoj fazi) kao hemijskih agenasa, već i od površinskih svojstava ispitivanog uzorka.

5. Testiranje mineralne sirovine za antimikrobnu aktivnost

5.1 Mineralne sirovine kao sorpcioni materijali

Mineralne sirovine mogu da se koriste kao sorpcioni materijali, u prirodnom ili u modifikovanom obliku. Sadržaj teških metala u mineralima predstavlja najčešće ograničenje ovoj primeni. Prečišćavanje minerala pre praktične upotrebe zahteva poznavanje prirode materijala, kao i primenu odgovarajućih analitičkih postupaka. Cilj ovog dela istraživanja bio je upravo prečišćavanje heterogenog mineralnog uzorka sa povećanim sadržajem olova, a ispitivana je mogućnost primene u sorpcionim eksperimentima. U eksperimentalnom delu od posebne važnosti je analiza procesa desorpcije i tumačenje mehanizma otpuštanja jona metala. Prečišćeni materijal, sa smanjenim sadržajem olova i drugih teških metala, antimikrobno je testiran na *E. coli*, *S. aureus* i *C. albicans*.

5.2 Priprema materijala i karakterizacija

Prirodni, sirovi mineralni uzorak, poreklom iz Centralne Bosne i Hercegovine, svetlo sive boje, šljunkovit i delimično peskovit, sa veličinom čestica od 0,5–2,0 mm, može se opisati kao heterogeni uzorak. Izgled ispitivanog materijala prikazan je na Slici 37. Materijal je homogenizovan pomoću avana i tučka, ispran dejonizovanom vodom, sušen 2 h na 105 °C, a potom odložen u deksikator do dalje analitičke upotrebe.



Slika 37. Izgled heterogenog mineralnog uzorka

Strukturna svojstva realnog uzorka heterogene mineralne smeše ispitana su pomoću XRD tehnike i γ - spektrometrije. XRD analiza omogućila je utvrđivanje kristalne strukture uzorka (sadržaja pojedinačnih komponenti), dok je γ - spektrometrijom proveren sadržaj prirodnih radionuklida. Uzorak je iskopan na lokalitetu u blizini nalazišta uglja, gde je poznato da se javlja povišen sadržaj prirodnih radionuklida. Elementarnom hemijskom analizom određen je sadržaj mikro (izražen u mg/kg) i makro (izražen u %) elemenata u prirodnom mineralu.

Strukturna analiza mineralne smeše izvršena je merenjem difrakcije X zraka na *ENRAF NONIUS FR590* (Bruker AXS, MA, USA) XRD instrumentu sa *Vario 1* monohromatorom (Cuk α 1 radiation, $\lambda=1,54059$ Å). Podaci su prikupljeni u rasponu 2θ ugla od 5 do 50°, sa korakom od 0,05°. Difraktogram prirodnih uzoraka poređen je sa standardima u prahu (PDF2), gde su korišćene referentne kartice za silikate (70-1859, 72-1386, 78-1254, 82-1572, 80-2157) i kalcit (89–1305).

Merenje radioaktivnosti izvršeno je na *ORTEC-AMETEK* (PA, USA) HPGe γ -rendgenskom spektrometru (relativne efikasnosti 49 % i 1, 85 keV FWHM za ^{60}Co na 1,33 MeV, 8192 kanala) sa olovnim štitom debljine 10 cm i unutrašnjom bakarnom folijom debljine 2 mm. Aktivnost svakog uzorka merena je na 60 000 s. Aktivnost ^{226}Ra procenjena je sa 609,3 keV γ -rendgenskim pikom ^{214}Bi i 351,9 keV γ -rendgenskim pikom ^{214}Pb . Za određivanje aktivnosti ^{232}Th korišćene su 911,2 i 969,1 keV γ -linije emitovane od ^{228}Ac i 238,6 keV pikovi emitovani od ^{212}Pb . Aktivnost ^{40}K određena je preko 1460,8 keV γ -rendgenske linije. Spektralne linije su obrađene u *Gamma Vision 32* softveru.

Za određivanje sadržaja elemenata iz prirodnog uzorka, odnosno za pripremu čvrstih uzoraka za spektroskopsku analizu, korišćen je postupak mikrotalasne digestije (tip uređaja: *MW CEM MARS 5 system*). Čvrsti uzorak mase 0,5 g razoren je koristeći ekstrakcioni rastvor: 6,0 mL HNO_3 , 4,0 mL HCl i 2,0 mL HF (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA). Mikrotalasno zagrevanje uspostavljeno je na sledeći način: 15 min podizanjem pritiska do 250 psi, a potom 15 min održavanjem postignutih radnih uslova. Nakon postupka digestije, tečnost (mešavina korišćenih kiselina i izluženih jona metala) je dekantovana od ostatka čvrstog uzorka u centrifugalne kivete. Centrifugiranjem na 1200 obrtaja min^{-1} (tip uređaja: *IE Centra CI3*, Thermo Scientific) u trajanju

od 5 min postignuto je razdvajanje faza. Koncentracija jona metala u supernatantu određena je korišćenjem ICP-OES tehnike.

5.3. Sekvencijalna ekstrakcija

5.3.1 Ekstrakcioni rastvori

U postupku sekvencijalne ekstrakcije korišćeni su sledeći 0,1 M rastvori:

1. Sirćetne kiseline, CH₃COOH (HOAc),
2. Etildiaminotetrasirćetne kiseline (EDTA) i
3. EDTA sa acetatnim puferom (NaOAc–HOAc), EDTA/NaOAc–HOAc.

U svim eksperimentima korišćena je je dejonizovana voda otpornosti ispod 18 MΩ cm. (*Millipore Milli-Q system*). Trokomponentni ekstrakcioni rastvor 0,1 M EDTA/NaOAc–HOAc (pH 3,5) prepremljen je tako što je 0,2 M EDTA pomešan sa 0,01 M NaOAc–HOAc (pH 3,0) u zapreminskom odnosu 1:1.

EDTA ili komplekson III (KIII) je aminopolikarboksilna kiselina i predstavlja jedan od najčešće korišćenih reagenasa u analitičkoj hemiji. Označava se hemijskom formulom C₁₀H₁₆O₈N₂ i predstavlja slabu četvorobaznu kiselinu. Naziv EDTA se koristi i za slobodnu kiselinu i za njene soli, odnosno za anjonske oblike kiseline. Struktura molekula EDTA prikazana je na Slici 38. Iz strukture se uočava da protoni na atomima azota potiču iz karboksilnih grupa. Prilikom prve i druge disocijacije dolazi do otpuštanja protona sa preostale dve karboksilne grupe, a prilikom treće i četvrte disocijacije dolazi do otpuštanja protona sa atoma azota. Usled niske rastvorljivosti u čistoj vodi, dinatrijum oblik soli EDTA (Na₂H₂Y·2H₂O) se najčešće koristi u analitičkim procedurama.

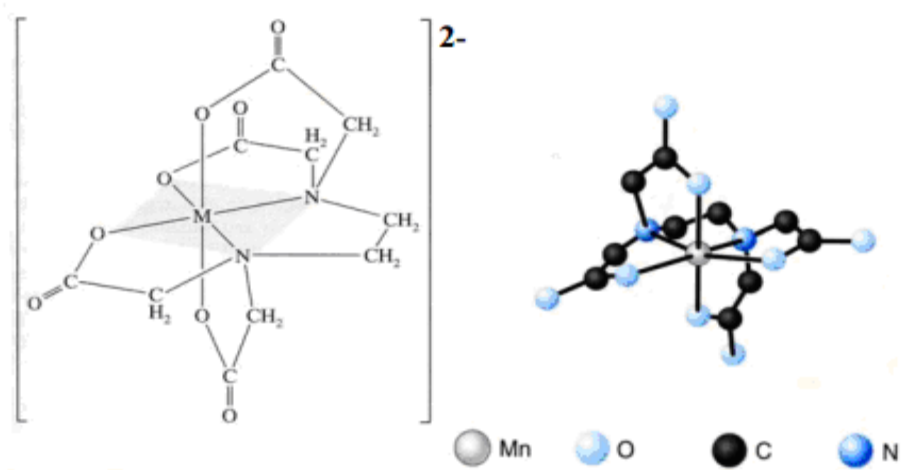
Reakcija metal-EDTA kompleksiranja može se prikazati sledećom reakcijom (3):



gde M²⁺ simbolizuje jone teškog metala (u ovom slučaju olova), a H₂Y²⁻ predstavlja helatni agens [138]. Potpuno deprotonovani oblik EDTA (diacetatni oblik anjona) vezuje jon metala u kompleks M–EDTA. Ovaj oblik je dominantan u opsegu pH vrednosti od 3,0 do 6,0.

Vrednosti pK konstante za M-EDTA komplekse (na temperaturi od 20 °C, za 0,1 M EDTA) su sledeće: 13,80, 14,30, 16,30, 16,50, 16,70, 18,00, 18,60, 18,80 i 25,1 za Mn^{2+} -, Fe^{2+} -, Al^{3+} -, Co^{2+} -, Zn^{2+} -, Pb^{2+} -, Ni^{2+} -, Cu^{2+} - i Fe^{3+} - jone, respektivno [139,140]. Formiranje Pb-EDTA kompleksa je favorizovano u odnosu na druge katjone, izuzev u konkurenciji sa Ni^{2+} -, Cu^{2+} - i Fe^{3+} - jonima. Optimalna pH vrednost za EDTA kompleksiranje olova je u opsegu $3,0 < pH < 6,0$, što je važno s obzirom da se Fe-EDTA formira u opsegu $6,5 < pH < 8,0$. Međutim, ukoliko su prisutni Ni^{2+} - i Cu^{2+} - joni, obrazuju se veoma stabilni M-EDTA kompleksi ovih jona unutar svih pH vrednosti.

Važni analitički uslovi za formiranje stabilnih M-EDTA kompleksa su: i) dovoljna količina reagensa (da bi se osigurala nepovratnost reakcije kompleksiranja), ii) precizno određena stehiometrija (jedan EDTA molekul vezuje jedan jon metala), i iii) selektivnost reakcije u kontrolisanim pH uslovima (kako bi se izbegle sporedne reakcije). Kod procesa desorpcije, bilo kakvo povećanje koncentracije H^+ - jona može uzrokovati razgradnju M-EDTA kompleksa. U kiselim uslovima, M-EDTA kompleks teži razgradnji povećavajući koncentraciju katjona (posledica povratne desorpcije). Na pH vrednostima iznad 7,5 veliki procenat jona olova (oko 80%) teži precipitaciji, odnosno formiraju se hidroksidni oblici olova. Precipitacijom, odnosno smanjenjem koncentracije Pb^{2+} - jona u rastvoru, smanjuje se i mogućnost formiranja Pb-EDTA kompleksa [62].



Slika 38. Struktura molekula EDTA

5.3.2 Eksperimentalna procedura

Za smanjenje sadržaja olova u ispitivanom uzorku korišćen je postupak sekvencijalne ekstrakcije (SE), odnosno vršeno je izluživanje olova primenom ekstrakcije u više koraka. Postupak ekstrakcije ispitan je u šaržnom sistemu u staklenim peharima od 100 mL. Pre upotrebe, uzorci su isprani dejonizovanom vodom kako bi se uklonile čestice prašine, a potom sušeni 2 h na 105 °C. Masa sirovog uzorka korišćenog za analizu bila je 2,5 g. Odnos mase uzorka i zapremine ekstrakcionog rastvora iznosio je 1:10 i 1:20. Proces ekstrakcije je stimulisan magnetnim mešanjem na 170–200 obrtaja min^{-1} (tip uređaja: *MTS basicC*, Ika, Chelmsford, UK) na sobnoj temperaturi od 22 ± 1 °C, u trajanju od 2 h. Nakon završene ekstrakcije, čvrsti uzorak i rastvor su razdvojeni filtracijom preko standardnog laboratorijskog filter papira (MF-Millipore membranski filter, promera 0.45 μm). Filtratni depoziti su sušeni 2 h na 105 °C. Sadržaj ekstrahovanog olova određen je u:

- a) osušenim filtratnim depozitima (nakon primene postupka kiselinske digestije) i
- b) u filtratima, kako bi se obezbedila veća pouzdanost merenja.

Identičan postupak ponovljen je u 5 iteracija. Koncentracija jona metala olova određena je korišćenjem ICP-OES tehnike. Svako merenje je rađeno sa tri ponavljanja. Radna talasna dužina za Pb^{2+} -jon iznosila je 220,353 nm, a detekcioni limit 0,01 mg/L. Analitička tačnost i preciznost merenja potvrđena je korišćenjem referentnog materijala *NIST 2711a*. Finalno prečišćeni sorbent je dalje antimikrobno testiran na *E. coli*, *S. aureus* i *C. albicans*.

Efikasnost procesa ekstrakcije

Sadržaj izluženog metala u ekstrakcionom rastvoru nakon završene SE, predstavlja količinu metala koja je ekstrahovana sa čvrstog mineralnog uzorka. Efikasnost procesa ekstrakcije (E_a) izražena je u % i predstavlja odnos količine metala ekstrahovanog po jedinici mase uzorka Q_d (mg/kg) sa količinom metala koja je prisutna u prirodnom uzorku, izražena po 1 kg uzorka, q_a (mg/kg). E_a se računa prema sledećoj jednačini (8):

$$E_a = \frac{Q_d}{q_a} 100 (\%) \quad (8)$$

Vrednost Q_d (mg/kg) se računa prema jednačini (9):

$$Q_d = \frac{c_d}{m} V_d \quad (9)$$

gde je c_d (mg/L) koncentracija jona metala u tečnoj fazi određena u ekstrakcionom rastvoru na kraju procesa ekstrakcije, V_d (L) je zapremina ekstrakcionog rastvora i m je masa uzorka.

5.4 Adsorpcioni eksperiment

Serijski adsorpcioni eksperimenti izvršeni su kako bi se uporedio sorpcioni kapacitet prirodnog i tretiranih uzoraka, prečišćenih sa HOAc, EDTA i EDTA/NaOAc–HOAc reagensima u postupku SE. Standardni rastvori: Cd(II), Cr(II), Cu(II), Ni(II), Pb(II) i Zn (II), koncentracije 10,0 mg/L pripremljeni su rastvaranjem pojedinačnih standarda za svaki jon metala (Merck, Germany) u ultra čistoj vodi. Adsorpcioni eksperimenti su izvedeni prema sledećoj proceduri: 0,25 g čvrstog uzorka pomešan je sa 50,0 mL standardnog rastvora metala. Sorpcioni kapacitet materijala za svaki jon metala određen je u pojedinačnom jednokomponentnom šaržnom procesu. Proces adsorpcije izvršen je u kiselj sredini (pH 5,5), pri kojoj je adsorpcija ograničena na dvovalentne jone metala. Mešanje suspenzije uzorka i standardnog rastvora jona metala bilo je podstaknuto ultrazvučnim talasima (tip uređaja: *Euromax ultrasonic cleaner*) na 37 °C, kako bi se obezbedila bolja kavitacija uzorka. Nakon 45 min, izvršena je filtracija uzoraka i izmerena je preostala koncentracija jona metala u standardnom rastvoru koristeći ICP-OES tehniku.

Sorpcioni kapacitet

Određivanje vrednosti sorpcionog kapaciteta prikazano je u potpoglavlju 2.3.1.3 (jednačina 2).

5.5 pH vrednost i provodljivost

Promena pH vrednosti i provodljivosti tokom procesa SE je veoma značajna za tumačenje mehanizma procesa desorpcije. pH vrednost i provodljivost svakog ekstrakcionog reagensa (pH_{er}) i ravnotežne suspenzije (pH_s), mereni su sa multiparametarskim instrumentom *WTW Multi340i/Set*, Weilheim, Germany.

5.6 Antimikrobni testovi

Ispitivani mineralni uzorak, nakon procesa prečišćavanja, antimikrobno je testiran na ćelije *E. Coli*, *S. aureus* i *C.albicans*. Postupak mikrobiološke analize opisan je u poglavlju 3.6.

5.7 Rezultati i diskusija

5.7.1 Karakterizacija prirodnog materijala

XRD difrakciona analiza pokazala je da minerološki sastav uzorka čini: 40 % kvarca, SiO_2 , 31 % kalcita, $\text{Mg}_{0,06}\text{Ca}_{0,96}\text{CO}_3$, 23 % klinoptilolita $\text{Ca}_{3,16}\text{Si}_{136}\text{O}_{72}\text{H}_2\text{O}_{21,80}$, i nefelin koji se smatra nečistoćom.

Radiohemijska analiza potvrdila je da uzorak sadrži prirodne radionuklide ^{40}K , ^{232}Th i ^{226}Ra , u sledećim koncentracijama: 542 ± 60 , 32 ± 6 i 30 ± 8 Bq/kg, respektivno. Koncentracija radioaktivnog izotopa cezijuma ^{137}Cs bila je ispod 1 Bq/kg.

Koncentracija olova u prirodnom mineralnom uzorku, pre i nakon procesa prečišćavanja, određena je pomoću ICP-OES tehnike. Sadržaj olova u heterogenoj mineralnoj smeši iznosio je 58,20 mg/kg.

5.7.2 Sekvencijalna ekstrakcija

Rezultati SE sa HOAc, EDTA i EDTA/NaOAc–HOAc ekstrakcionim rastvorima, 0,1M koncentracije (c_{er}), nakon 5 uzastopnih koraka ekstrakcije, prikazani su u Tabeli 10.

Tabela 10. Rezultati SE sa HOAc, EDTA and EDTA/NaOAc–HOAc ekstrakcionim rastvorima

Korak	CH ₃ COOH				EDTA				EDTA/NaOAc–HOAc			
	c_{er} , M	q_{a} , mg/kg	Q_{d} , mg/kg	E_{a} , %	c_{er} , M	q_{a} , mg/kg	Q_{d} , mg/kg	E_{a} , %	c_{er} , M	q_{a} , mg/kg	Q_{d} , mg/kg	E_{a} , %
1	0,10	58,20	7,22	12,4	0,10	58,20	5,82	10,0	0,10	58,20	15,0	25,9
2	0,10	50,98	2,24	4,40	0,10	52,38	2,25	4,30	0,10	43,13	7,29	16,9
3	0,10	48,74	1,27	2,60	0,10	50,13	2,05	4,10	0,10	35,84	4,26	11,9
4	0,10	47,47	0,95	2,00	0,10	48,08	1,35	2,80	0,10	31,58	1,74	5,50
5	0,10	46,52	<LOD	/	0,10	45,28	0,86	1,90	0,10	29,84	1,13	3,80
Σ		46,52	11,7	20,1		45,28	12,3	21,2		29,84	29,5	50,8

Efikasnost postupka prečišćavanja mineralnog uzorka korišćenjem HOAc i EDTA iznosila je oko 20 i 21 %, respektivno. Kada se uporede pojedinačni koraci prečišćavanja, uočava se velika sličnost u trendu efikasnosti kod ova dva ekstraktanta. Međutim, EDTA u puferskom rastvoru (EDTA/NaOAc–HOAc) pokazao se kao najefikasnije ekstrakciono sredstvo. Preko 50 % olova ekstrahovano je u postupku sekvencijalne ekstrakcije pomoću EDTA/NaOAc–HOAc. Nakon samo prvog koraka ekstrakcije izluženo je više od 25 % metala, što je više od ukupne efikasnosti prečišćavanja sa HOAc i EDTA reagensom nakon 5 uzastopnih koraka.

Izbor ekstrakcionog rastvora zavisi od brojnih faktora, kao što su: hemijsko i fizičko ponašanje metala koji se ekstrahuje, selektivnost, cena koštanja reagensa, kao i mogućnost njegove regeneracije. Upotreba organskih reagenasa u analitičkoj hemiji od posebnog je značaja za razumevanje sorpciono-desorpcionim procesa i njihovih mehanizama. Brojne studije su ukazale na sposobnost organskih molekula da promenom površinskih svojstava materijala povećaju i sorpcioni afinitet, kako prema katjonima [141], tako i prema anjonima [142]. Koristeći HOAc i EDTA reagense kao ekstraktante u postupku SE, joni izrazito slabe energije veze (OAc^- - i Y^{2-} - joni) su adsorbovani na mineralu povećavajući net negativno naelektrisanje površine sorbenta (kao anjonski surfaktanti). Na ovaj način, omogućena je sorpcija jona metala (katjona) i podstaknuto je formiranje površinsko-katjonskih kompleksa. Odgovarajući izbor hemijskog reagensa za proces prečišćavanja prirodnog mineralnog uzorka je dalje ispitan sa aspekta sorpcionog kapaciteta.

5.7.3 Sorpcioni kapaciteti prečišćenih uzoraka

Primenjeni postupak prečišćavanja ima dve prednosti: smanjenje sadržaja olova u nativnom uzorku i povećanje sorpcionog kapaciteta. Serija adsorpcionih eksperimenata izvedena je kako bi se uporedili sorpcioni kapaciteti prirodnih uzorka sa uzorcima podvrgnutim SE, koristeći različite ekstrakcione medijume. Promena sorpcionih kapaciteta prečišćenih materijala, primenom HOAc, EDTA i EDTA/NaOAc–HOAc reagenasa, prikazana je u Tabeli 11.

Na osnovu rezultata prikazanih u Tabeli 11, sorpcioni kapacitet uzoraka prečišćenih sa EDTA i EDTA/NaOAc–HOAc rastvorom, povećao se za 6, odnosno 12 %, respektivno. Minimalno smanjenje sorpcionog kapaciteta prečišćenog uzorka (manje od 2 %) primećeno je kod uzorka koji je tretiran sa HOAc. Redosled sorpcionog afiniteta prema pojedinačnim jonima

bio je isti za sva tri postupka prečišćavanja: $\text{Cu}^{2+} > \text{Pb}^{2+} > \text{Cd}^{2+} > \text{Cr}^{2+} \sim \text{Zn}^{2+} > \text{Ni}^{2+}$. Povećanje sorpcionog kapaciteta posledica je promena površinskih svojstava, kao i mineralne strukture materijala.

Tabela 11. Koncentracija metala u standardnom rastvoru pre i posle procesa adsorpcije i sorpcioni kapaciteti sirovih i prečišćenih uzoraka

Element	Sadržaj jona metala u standardnom rastvoru, mg/L					Sorpcioni kapacitet, mg/g			
	Posle sorpcije					Sirovi uzorak	Prečišćeni uzorak		
	Standardni rastvor	Sirovi uzorak	Prečišćeni uzorak				HOAc	EDTA	EDTA/ NaOAc– HOAc
			HOAc	EDTA	EDTA/ NaOAc– HOAc				
Cd	10,4	1,22	1,47	0,74	0,13	1,84	1,79	1,94	2,06
Cr	9,87	1,43	1,53	0,48	0,21	1,69	1,67	1,88	1,93
Cu	9,74	0,97	1,24	0,62	0,09	1,75	1,70	1,82	1,93
Ni	9,93	1,72	1,98	1,06	0,54	1,64	1,59	1,77	1,88
Pb	10,8	1,15	1,33	0,74	0,04	1,93	1,89	2,01	2,15
Zn	10,6	1,27	0,97	0,68	0,38	1,86	1,92	1,98	2,06

Promene u površinskim, a samim tim i sorpcionim svojstvima materijala, mogu se objasniti preko reakcija sa funkcionalnim grupama prisutnim u ekstraktantima. Reakcija koja se odvija na mineralnoj površini je reakcija H^+ - jona iz COOH grupa. Hidronijum joni koji su adsorbovani na površini materijala, lako se izmenjuju sa jonima metala [143]. Ako su u rastvoru prisutni joni metala (M^{2+}), odvija se proces jonske izmene prema sledećoj reakciji (4):



Modifikovani oblici sorbenata, u zavisnosti od prisustva funkcionalnih grupa, uglavnom imaju veće vrednosti sorpcionih kapaciteta. Funkcionalne grupe, poput: $-\text{OH}$, $-\text{Cl}$ i $-\text{COONa}$, uspešno inkorporirane na površini alumosilikata, utiču na povećanje efikasnosti sorpcije jona metala iz vodenih rastvora [144]. U prethodnim studijama pokazano je da se uvođenjem funkcionalnih površinskih grupa, poput: $-\text{NH}_2$, $-\text{COOH}$, $-\text{SH}$ i $-\text{CS}_2$ postiže povećanje sorpcionog kapaciteta mineralnih uzoraka [145]. Moguće objašnjenje za smanjenje sorpcionog kapaciteta kod mineralnog uzorka koji je prečišćen sa HOAc, odnosi se na degradaciju

karbonatne komponente smeše uzrokovane dejstvom acetatnih anjona. Promena strukturnog integriteta uzorka potvrđena je XRD analizom.

Acetatni anjoni mogu da formiraju unutrašnji metal kompleks (*eng.* inner-metal complex) u strukturi minerala. Ovaj mehanizam je već objašnjen u istraživanju koje su sproveli Stathi i saradnici [145]. Utiskivanjem organskih komponenti u mineralnu strukturu, povećava se prostor unutar slojeva i omogućava se lakši pristup M^{2+} - i $M(OH)^+$ - jonima do organskih komponenti. Jake energije veza $M(OH)^+$ - jona sa organskim komponentama doprinose dodatnoj adsorpciji jona metala [145] i povećanju sorpcionog kapaciteta. Takođe je istraženo da se međuslojni prostor povećava sa povećanjem broja alkil funkcionalnih grupa, odnosno povećanjem dužine alkilamin lanca [146]. Efikasnija adsorpcija jona metala kod mineralnog uzorka prečišćenog sa organskim ekstraktantima, može se tumačiti kao posledica komplekson-površinske modifikacije.

Neznatno povećanje vrednosti sorpcionog kapaciteta kod mineralnog uzorka koji je prečišćen sa EDTA (6 %) i EDTA/NaOAc–HOAc (12 %), može se objasniti veličinom EDTA molekula. Veliki Pb–EDTA kompleksi, koji se stvaraju u procesu prečišćavanja uzorka, adsorbuju se i pokrivaju mineralnu površinu, smanjuju broj aktivnih površinskih mesta i sprečavaju utiskivanje jona metala u silikatnu strukturu [128]. Na ovaj način, proces adsorpcije se odvija preko funkcionalnih grupa na mineralnoj površini, koje formiraju metal-ligand spoljašnji kompleks. Dokazano je da modifikacija mineralnih sirovina i sorpcione karakteristike materijala zavise od stepena adsorpcije surfaktanata na samoj površini minerala [32], kao i od gustine pakovanja čestica u ekstrakcionim medijumima [147].

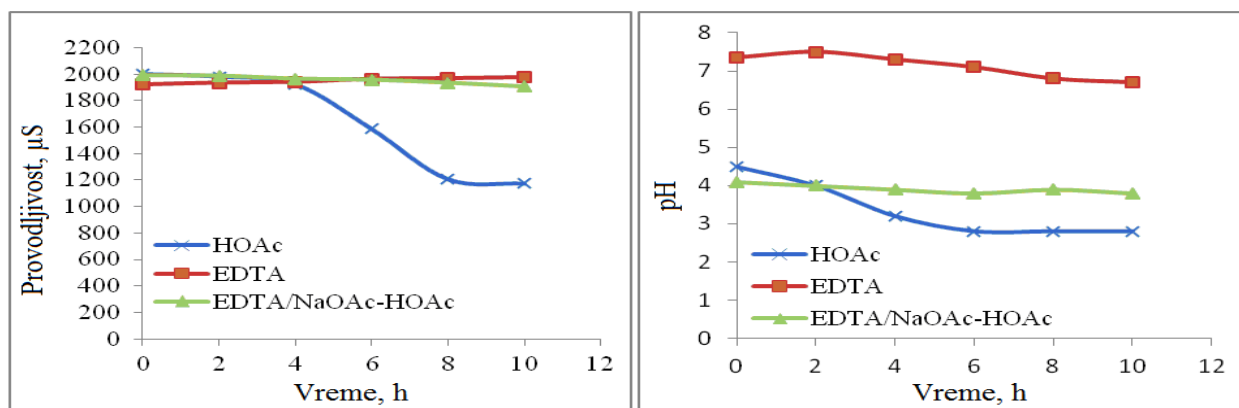
5.7.4 Mehanizam procesa ekstrakcije

U eksperimentalnom delu ovog dela istraživanja od posebne važnosti je tumačenje mehanizma otpuštanja jona metala sa površine uzorka. Uticaj kiselosti sredine i prisustva različitih jona u ekstrakcionom rastvoru ispitan je u cilju boljeg razumevanja procesa ekstrakcije. Promena pH vrednosti i provodljivosti ravnotežne suspenzije, nakon svakog pojedinačnog koraka ekstrakcije, ukazuje na dominantne reakcije kod SE, odnosno na mehanizam otpuštanja Pb^{2+} - jona sa mineralne površine.

Promena provodljivosti

Vrednost električne provodljivosti rastvora određena je prisustvom nosioca naelektrisanja (elektrona ili jona) u analiziranom medijumu. Promena provodljivosti suspenzije ukazuje na promenu jonske jačine (fizički ili hemijski adsorbovanih/desorbovanih jona sa mineralne površine), dok je relativno konstantna provodljivost odraz jonske izmene ili kombinovanog mehanizma jonske izmene i prirodne desorpcije [109].

Na Slici 39 prikazana je promena pH vrednosti i provodljivosti ravnotežne suspenzije u procesu SE za primenjene reagense: HOAc, EDTA i EDTA/NaOAc-HOAc.



Slika 39. Promena provodljivosti (a) i pH vrednosti suspenzije (b) tokom procesa SE

Kada je uzorak tretiran sa HOAc reagensom, zabeležene su značajne promene električne provodljivosti. Kada je proces jonske izmene dominantan hemizam, svaki jon iz ekstrakcionog medijuma (u ovom slučaju H^+ i OAc^- jon) je zamenjen sa jonom (iste valence i naelektrisanja) oslobođenim sa površine čvrstog uzorka i ne dolazi do promene jonske jačine. Uprkos tome, fizička adsorpcija i /ili prirodna desorpcija nije uslovljena sa nekom drugom jonskom vrstom prisutnom u vodenom rastvoru. Odigravanje ovih spontanih reakcija može da se manifestuje promenom električne provodljivosti. Mehanizam procesa SE, korišćenjem HOAc reagensa, određen je prirodnom adsorpcijom/desorpcijom jona sa površine mineralnog uzorka.

Kada se uporede promene provodljivosti za EDTA i EDTA/NaOAc-HOAc suspenzije, primetno je blago opadanje električne provodljivosti u oba slučaja. Ovo zapažanje navodi na zaključak da ne postoji značajna promena u sadržaju jonskih vrsta kod analiziranih suspenzija.

Tokom procesa kompleksiranja, deprotonovani EDTA oslobađa H⁺- jone u rastvor i pH vrednost opada (kao što je prikazano na Slici 36b). U ovoj tački, može se očekivati povećanje provodljivosti, kako su H⁺ joni nosioci naelektrisanja, ali eksperimentalni rezultati pokazuju da je provodljivost skoro konstantna. Objašnjenje ovog fenomena leži u procesu kompleksiranja. Čim se formiraju prvi M-EDTA kompleksi, smanjenje koncentracije jona metala dovodi do smanjenog efekta hidrolize i sadržaj H⁺- jona je takođe smanjen. Konstantna vrednost provodljivosti kod EDTA i EDTA/NaOAc-HOAc ekstrakcije rezultat je dva paralelna fenomena, procesa kompleksiranja i jonske izmene.

Promena pH vrednosti

Prirodni silikati imaju net negativno površinsko naelektrisanje i izraženu tendenciju da povećavaju pH vrednost rastvora u kiselim do neutralnim sredinama [148]. Ovo se manifestuje u površinskim svojstvima materijala kao posledica protonizacije površine (desorpcija OH⁻- jona i povećanje pH vrednosti). Prisustvo karbonatne frakcije u uzorku dodatno povećava pH vrednost cele mineralne smeše [149].

Tokom HOAC procesa ekstrakcije, pH vrednost suspenzije opada sa 4,5 do 2,8 usled izmene H⁺- jona tokom procesa (kao što je prikazano na Slici 39b). Smanjenje pH vrednosti je rezultat desorbovanih H⁺- jona sa površine uzorka. Moguće objašnjenje je da je proces adsorpcije/desorpcije povratan proces i da postoji ravnoteža, prikazana jednačinom (5):



gde se H_{aq}⁺- joni poreklom sa acetil karboksilne grupe adsorbuju na mineralnu površinu, uzrokujuću protonizaciju površine, dok se H_{solid}⁺- joni oslobađaju sa supstrata. Ekstrahovano olovo (u obliku Pb²⁺, Pb-EDTA ili Pb(OH)⁺) posledica je površinske protonizacije (adsorpcije H⁺- jona) pri kojoj oslobljena kristalna rešetka oslobađa metal iz mineralne strukture. Promena pH vrednosti suspenzije tokom procesa sekvencijalne ekstrakcije direktno je uslovljena sadržajem ekstrahovanog olova. Tokom prvih 3 koraka ekstrakcije, zabeležena je najznačajnija promena pH vrednosti jer se tada oslobodila najveća količina metala. Efekat hidrolize Pb²⁺- jona bi takođe mogao da utiče na smanjenje pH vrednosti, ali pri uslovima kiselosti (pH 7,0) koje nisu značajni za ovaj eksperiment.

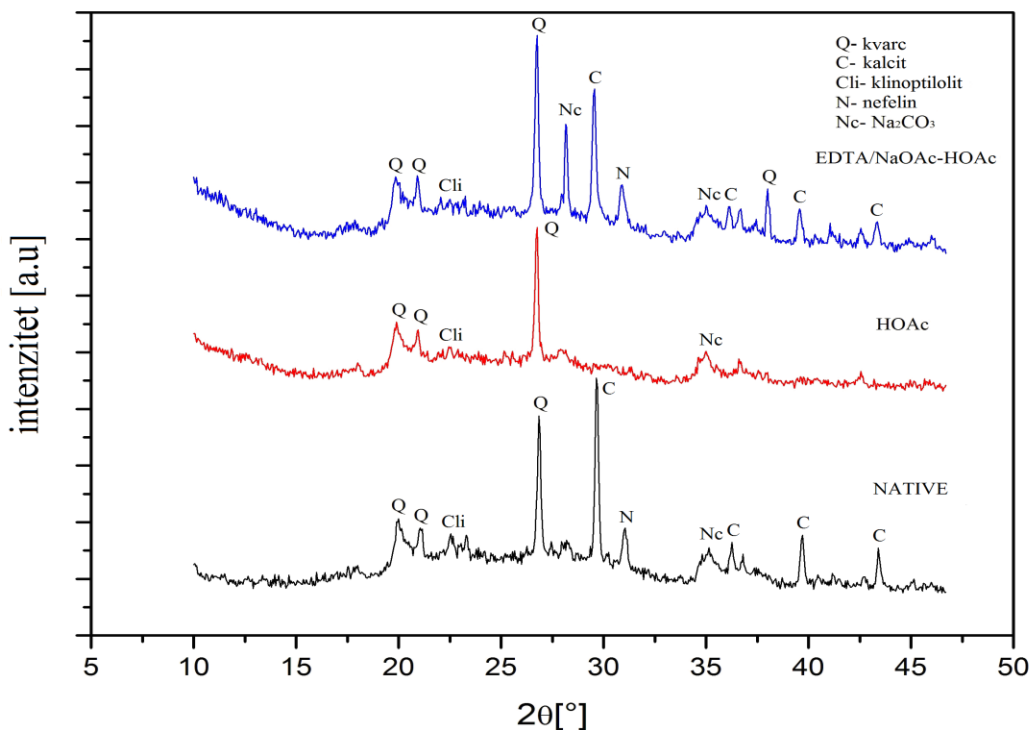
Kiselost suspenzije tokom HOAC ekstrakcije ima različit trend od promene pH vrednosti kod EDTA ekstrakcije. Tokom prvog koraka, pH vrednost suspenzije raste kao posledica površinske protonizacije i oslobađanja OH^- jona. Povećanje pH vrednosti suspenzije u uslovima kisele do neutralne sredine (inicijalna pH je bila oko 4,5) je opšta karakteristika prirodnih minerala. Tokom prvog ekstrakcionog koraka, olovo se intenzivno oslobađalo (u obliku Pb^{2+} jona) usled površinske protonizacije i pH vrednost suspenzije se povećala sa 7,3 na 7,5. Tokom druge iteracije, pH vrednost je opadala od 7,5 do 7,2 što ukazuje da je dominantna reakcija kompleksiranja, odnosno olovo je uklonjeno u obliku Pb-EDTA . Dodatno, usled smanjenja koncentracije Pb^{2+} jona, efekat hidrolize je manje izražen i pH vrednost suspenzije blago raste. Konačno, pH vrednost opada do vrednosti 7,0 pri kojoj efekat hidrolize postaje dominantan.

Prilikom EDTA/NaOAc–HOAc procesa ekstrakcije, kiselost suspenzije je približno konstanta tokom svih 5 uzastupnih iteracija. Kako je reakcija kompleksiranja osetljiva na promenu pH vrednosti rastvora, potvrđeno je da je proces ekstrakcije poželjno izvoditi u prisustvu puferske smeše (pri konstantnoj pH vrednosti).

5.7.6 Strukturna analiza prečišćenih uzoraka

Strukturna analiza mineralnog uzorka izvršena je pre i nakon procesa sekvencijalne ekstrakcije. Morfološki profili prirodnog, kao i prečišćenih uzoraka, tretiranih sa HOAc, EDTA i EDTA/NaOAc–HOAc, prikazani su na Slici 37.

XRD analiza je pokazala različit kristalitet i morfologiju prirodnog i prečišćenih uzoraka. Najveća strukturna promena, u poređenju sa prirodnim uzorkom, zabeležena je kod uzorka koji je prečišćen sa HOAc reagensom. Pod dejstvom acetatnih jona, količina kalcitne komponente smeše je smanjena, kao što je pokazano na Slici 40. Usled gubitka kalcitne formacije, sorpcioni kapacitet uzoraka prečišćenih sa HOAc je smanjen. U prethodnim ispitivanjima mineralnih uzoraka, potvrđeno je da je količina kalcitne komponente uticala na adsorpciju teških metala, kako kod kalcitnih glina [57], tako i kod uzoraka crvenog mulja [149].



Slika 40. Morfološki profili prirodnog i prečišćenih uzoraka, tretiranih sa HOAc, EDTA i EDTA/NaOAc-HOAc

Kada je uzorak tretiran sa EDTA/NaOAc–HOAc, uočava se da je došlo do promene karbonatne komponente: smanjila se formacija $(Mg_{0,06}Ca_{0,96})(CO_3)$, ali je formiran Na_2CO_3 . XRD analiza prečišćenog uzorka nije pokazala druge značajnije promene, u odnosu na nativni uzorak. Potvrđeno je da sorpcioni kapacitet zavisi od načina modifikacije i strukturnih promena materijala. Efikasnost procesa adsorpcije teških metala svakako zavisi od fizičko-hemijskih svojstava materijala.

5.7.7 Antimikrobni testovi

Prečišćeni uzorci prirodne mineralne smeše, tretirani sa HOAc, EDTA i EDTA/NaOAc-HOAc, podvrgnuti su mikrobiološkim analizama. Antimikrobni testovi rađeni su u cilju provere šire primene površinski aktiviranih sorbenata kao potencijalnih antimikrobnih materijala. Antimikrobno dejstvo HOAc, EDTA i EDTA/NaOAc-HOAc prečišćenih uzoraka, nakon 30 min kontakta sa mikrobnom kulturom, prikazano je u Tabeli 12.

Tabela 12. Antimikrobna aktivnost prečišćenih uzoraka, tretiranih sa HOAc, EDTA i EDTA/NaOAc-HOAc, nakon 30 min kontakta sa mikrobnom kulturom

Uzorak	<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>		<i>C. albicans</i>	
	CFU/mL	R (%)	CFU/mL	R (%)	CFU/mL	R (%)
Kontrolni (nativni)	$4,20 \times 10^5$		$5,80 \times 10^5$		$9,30 \times 10^5$	
Prečišćeni						
HOAc	$2,40 \times 10^4$	$42,86 \pm 0,2$	$3,70 \times 10^5$	$36,21 \pm 0,2$	$8,20 \times 10^5$	$11,83 \pm 0,1$
EDTA	$1,50 \times 10^5$	$64,29 \pm 0,1$	$3,10 \times 10^5$	$46,55 \pm 0,3$	$8,30 \times 10^5$	$10,75 \pm 0,2$
EDTA/NaOAc-HOAc	$1,20 \times 10^5$	$71,43 \pm 0,2$	$3,40 \times 10^5$	$41,38 \pm 0,3$	$7,10 \times 10^5$	$23,66 \pm 0,2$

Kada se analiziraju antimikrobni rezultati prečišćenih uzoraka, prikazanih u Tabeli 12, redukcija mikrobnih ćelija za sve testirane uzorke imala je sledeći rastući poredak: *C. albicans*, *S. aureus* i *E. coli*. Isti trend uklanjanja mikrobnih ćelija zapažen je i kod mikrobioloških testova Ag^+ -, Cu^{2+} i Zn^{2+} - aktiviranih materijala (potpoglavlje 4.5.1 i 4.5.2). Najveći stepen uklanjanja nakon 30 min kontakta sa mikroorganizmima dobijen je za EDTA/NaOAc-HOAc prečišćeni uzorak prema ćelijama *E. coli*, u vrednosti od 71,43 %. Kada se uporede EDTA i EDTA/NaOAc-HOAc prečišćeni uzorci koji su bili u kontaktu sa *S. aureus*, rezultati su pokazali umerenu inhibiciju: 46,55 i 41,38 %, respektivno. Za sve testirane mikrobne ćelije, uzorci prečišćeni sa HOAc pokazali su najmanje inhibitorno dejstvo. Najpravnomernije uklanjanje mikrobnih ćelija postignuto je za plesan *C. albicans*, sa vrednostima od 10,75 i 11,83 %, za uzorke prečišćene sa EDTA i HOAc, respektivno.

U prethodnim istraživanjima potvrđeno je inhibitorno dejstvo EDTA na *C. albicans*, kao i primena ovog reagensa u medicinske svrhe [150]. Takođe je dokazano efikasno antimikrobno dejstvo EDTA prema ćelijama *S. aureus* i *C. albicans*, u kliničkim ispitivanjima [151]. Uklanjanje ćelije *E. coli* primenom EDTA pokazalo je umerenu efikasnost, odnosno izraženo bakteriostatsko dejstvo [152]. HOAc je poznata kao dobro antimikrobno sredstvo usled niske pH vrednosti. Međutim, mnoge bakterije pokazale su se kao otporne na promenu kiselosti sredine, čak i pri veoma niskim pH vrednostima [153]. Među acido rezistentnim bakterijama, najviše je

ispitivana *E. coli* [154,155], kod koje je pokazano da na pH 2,5 manja ćelijsko naelektrisanje iz negativnog u pozitivno [156]. Ovo se smatra jednim od razloga za mehanizam preživljavanja u kiselim uslovima, tzv. odgovor kiselinskoj toleranciji (*eng.* acid tolerance response). U prethodnim istraživanjima, ispitan je uticaj dodatka soli na inhibitorno dejstvo HAOc [157]. Pokazano je dodatak NaCl značajno smanjuje antibakterisko dejstvo HOAc na ćelije *E. Coli*. U predmetnom istraživanju, EDTA reagens u kombinaciji sa acetatnim puferom (EDTA/NaOAc-HOAc) pokazao se najefikasnije antimikrobno sredstvo, u poređenju sa EDTA i HOAc.

Upotreba antimikrobnih materijala u različite praktične svrhe utiče i na vreme kontakta testiranih uzorka sa mikrobnih kulturama. Prečišćeni uzorci prirodne mineralne smeše, tretirani sa HOAc, EDTA i EDTA/NaOAc-HOAc, izloženi su mikrobiološkim analizama sa dužim kontaktnim vremenom. Antimikrobno dejstvo HOAc, EDTA i EDTA/NaOAc-HOAc prečišćenih uzoraka, nakon 24 h kontakta sa mikrobnom kulturom, prikazano je u Tabeli 13.

Tabela 13. Antimikrobna aktivnost prečišćenih uzoraka, tretiranih sa HOAc, EDTA i EDTA/NaOAc-HOAc, nakon 24 h kontakta sa mikrobnom kulturom.

Uzorak	<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>		<i>C. albicans</i>	
	CFU/mL	R (%)	CFU/mL	R (%)	CFU/mL	R (%)
Kontrolni (nativni)	$4,10 \times 10^5$		$5,50 \times 10^5$		$1,40 \times 10^5$	
Prečišćeni						
HOAc	$4,60 \times 10^4$	$88,78 \pm 0,1$	$3,00 \times 10^5$	$45,45 \pm 0,2$	$7,20 \times 10^4$	$48,57 \pm 0,2$
EDTA	$7,70 \times 10^3$	$98,12 \pm 0,1$	$2,70 \times 10^5$	$50,91 \pm 0,1$	$6,00 \times 10^4$	$57,14 \pm 0,2$
EDTA/NaOAc-HOAc	$4,20 \times 10^3$	$98,98 \pm 0,1$	$2,40 \times 10^5$	$56,36 \pm 0,2$	$1,00 \times 10^4$	$92,86 \pm 0,3$

Analizirajući rezultate mikrobioloških testova iz Tabele 13, zapaža se sledeći opadajući trend inhibicije za sve prečišćene materijale prema mikrobnim ćelijama: *E. coli*, *C. albicans* i *S. aureus*. Inaktivacija ćelija *E. coli*, pokazala se kao efikasna za sve uzorke prečišćene sa: EDTA/NaOAc-HOAc, EDTA i HOAc reagensima, sa sledećim vrednostima: 98,98, 98,12 i 88,78 %, respektivno. Umereni stepen inhibicije prema ćelijama *S. aureus*, za redosled

navedenih uzoraka, imao je sledeće vrednosti: 56,36, 50,91 45,45 %, respektivno. Najveću promenu u antimikrobnoj aktivnosti testiranih materijala sa povećanjem kontaktnog vremena sa mikrobnom kulturom, zabeležen je kod ćelija *C. albicans*. Antimikrobno dejstvo prema *C. albicans* sa kontaktom od 24 h, imalo je sledeće vrednosti: 19,1; 20,9 i 24,5 % za uzorke prečišćene sa EDTA/NaOAc-HOAc, EDTA i HOAc, respektivno. Najveći stepen redukcije mikrobnih ćelija postignut u testovima sa EDTA/NaOAc-HOAc prečišćenim uzorkom koji je prethodno potvrđen i kao najefikasniji sorpcioni materijal.

Testiranje uzoraka mineralne smeše, prečišćenih sa HOAc, EDTA i EDTA/NaOAc-HOAc reagensima, pokazalo se kao efikasno u mikrobiološkin analizama. Promena površinskih svojstava materijala, odnosno aktivacija površine sorbenta uvođenjem novim funkcionalnih grupa, uslovlila je ovakav efekat. Ovim eksperimentom je potvrđeno da se mineralne sirovine, u svom prirodnom ili prečišćenom obliku, mogu koristiti i kao sorbenti i kao antimikrobni nosači.

5.8 Efekat prečišćavanja antimikrobne mineralne smeše

Desorpcija olova iz prirodnog mineralnog uzorka (mešavine kvarca, klinoptilolita i kalcita) ispitana je sa aspekta prečišćavanja i regeneracije prirodnog sorpcionog materijala. Korišćeni su različiti ekstrakcioni medijumi: HOAc, EDTA i EDTA/NaOAc-HOAc i primenjen je postupak sekvencijalne ekstrakcije. Najefikasniji postupak prečišćavanja postignut je korišćenjem EDTA u rastvoru acetatnog pufera. Sekvencijalna ekstrakcija EDTA/NaOAc-HOAc, u pet uzastopnih koraka (u trajanju od 2 h, pojedinačno), rezultovala je smanjenjem sadržaja olova za 50 %. Takođe, koristeći trokomponentni ekstrakcioni rastvor, sorpcioni kapacitet prečišćenog uzorka se povećao za 12 %. Materijal, prečišćen sa EDTA/NaOAc-HOAc je potom antimikrobno testiran i pokazano je dobro inhibitorno dejstvo za *E. Coli*, *S. aureus* i *C.albican*, nakon 24 h kontakta sa mikrobnom kulturom.

Olovo je ekstrahovano kao Pb(II) u formi Pb-EDTA kompleks, u pH kontrolisanom rastvoru acetatnog pufera. Merenje pH vrednosti i provodljivosti nakon svakog ekstrakcionog koraka, pomogli su u razjašnjenju mehanizma procesa desorpcije. Konstanta pH vrednost, tokom 10 h eksperimenta, ukazuje na formiranje metal-ligand kompleksa, dok je neznatna promena provodljivosti potvrda da su dominantne reakcije kompleksiranja i jonske izmene. Kada je uzorak tretiran sa EDTA/NaOAc-HOAc, nisu zabeležene veće strukturne promene, izuzev u

promeni karbonatnog sastava. Na osnovu dobijenih rezultata, proces desorpcije zavisi od prirode korišćenih ekstraktanta, fizičko-hemijskih karakteristika testiranih materijala, kao i pH vrednosti suspenzije.

Cilj ovog dela istraživanja je desorpcija i određivanje uslova koji utiču na sam proces. Postupak SE pokazao se kao efikasan način za desorpciju jona metala u cilju prečišćavanja materijala i njihove dalje upotrebe kao sorbenta i/ili antimikrobnog materijala. Prečišćavanje prirodnih minerala (silikata, kvarca i kalcita) kao jeftinih i široko rasprostranjenih sorbenata potvrđuju prednost korišćenja ovog analitičkog postupka i omogućavaju primenu materijala kako u analitičke, tako i u praktične svrhe.

V ZAKLJUČAK

Voda, u zavisnosti od prirode i mesta nastajanja, sadrži različite materije. Pri izboru postupaka za uklanjanje zagađujućih materija biraju se i primenjuju postupci višestruke efikasnosti. Pored uklanjanja teških metala i organskih zagađujućih materija, impregnacija nekih adsorpcionih materijala filmom metala, jedan je od najčešće korišćenih postupaka za aktivnu filtraciju i/ili antimikrobno prečišćavanje vode. U mnogim istraživanjima koriste se prirodno dostupni i jeftini materijali koji se pre upotrebe moraju prečistiti.

U ovom radu, ispitana je površinska modifikacija materijala aktiviranih jonima metala koji se koriste u dezinfekciji vode. Kao hemijskih agensi korišćeni su metali srebra, bakra i cinka. Promena površine materijala i prisustvo različitih funkcionalnih grupa omogućava unapređenu primenu materijala. Ispitane su strukturne i površinske karakteristike prirodnih i modifikovanih materijala, određena je kinetika i mehanizam procesa sorpcije i desorpcije. Karakterizacija prirodnih i modifikovanih sorbenata izvršena je korišćenjem rendgenske difrakcione tehnike (XRD), rendgenske fotoelektronske spektroskopije (XPS) i skenirajućeg elektronskog mikroskopa (SEM). Za određivanje koncentracije jona metala korišćen je sistem indukovano spregnute plazme sa optičkom emisionom spektrometrijom (ICP-OES) i masenom spektrometrijom (ICP-MS). Pre i posle modifikacije analizirani su parametri, poput: pH vrednost, provodljivost, kontaktno vreme, efekat prisustva funkcionalnih grupa i jonskih vrsta. Pored sorpcionih karakteristika, ispitana su i antimikrobna svojstva modifikovanih materijala. Inhibitorno dejstvo metalom aktiviranih sorbenata testirani su na različitim kulturama: Gram-negativnu bakteriju *Escherichia coli* (*E. Coli*), Gram-pozitivnu bakteriju *Staphylococcus aureus* (*S. Aureus*) i plesan *Candida albicans* (*C. Albicans*). Analizirana je zavisnost aktiviranih materijala i određenih funkcionalnih grupa u odnosu na specifične mikrobne zajednice.

Cilj istraživanja bio je razjašnjenje mehanizma antimikrobnog dejstva metalom aktiviranih sorbenata kao posledice dejstva jona sa aktivne površine nosača i dejstva jona koji desorbuju u vodenu sredinu. Mehanizam antimikrobnog dejstva aktiviranih sorbenata ispitan je primenom posebnih testova: dejstva Ag^+ - jona adsorbovanih na čvrstoj površini (joni na

aktivnim površinskim mestima) i Ag^+ - jona desorbovanih sa aktivne površine sorbenta u vodenu sredinu (hidratisani joni). Kontaktno vreme aktiviranog sorbenta i mikrobne kulture, u svim testovima, bilo je ograničeno na 15 min, kako se bi se omogućio što niži stepen desorpcije. Na ovaj način, uticaj jona sa čvrste faze je dominantan u odnosu na malu koncentraciju slobodnih (desorbovanih) jona sa površine sorbenta. Najveći stepen uklanjanja mikrobnih ćelija dobijen je za Ag/Z protiv *S. aureus* i *E. coli*, 98,8 i 93,5 %, respektivno. Inaktivacija ćelija plesni bila je nezadovoljavajuća za sve Ag^+ -aktivirane sorbente. Rezultati ove studije ukazuju da proces dezinfekcije značajno zavisi od interakcija mikrobnih ćelija i Ag^+ -aktivnih mesta na površini modifikovanog sorbenta. Pored toga, priroda korišćenog materijala (kristalna struktura i morfologija materijala), u velikoj meri utiču na disperziju hemijskog agensa po površini sorbenta, a samim tim i na biodostupnost antimikrobnog agensa.

Antimikrobni testovi aktiviranih sorbenata pokazali su da je, kod slabo izražene desorpcije, uticaj kristalnih jona na aktivnoj površini dominantan na ukupno antimikrobno dejstvo. Kod Cu^{2+} - i Zn^{2+} -aktiviranih materijala, usled niskog stepena desorpcije, efekat antimikrobne aktivnosti jona desorbovanih sa površine sorbenta može se zanemariti. Najveći stepen uklanjanja mikrobnih ćelija zabeležen je kod Cu/Z i Cu/GAC za *E. coli* i iznosio je: 100,0 and 98,24 %, respektivno, nakon 15 min kontaktnog vremena. Inaktivacija ćelija *S. aureus* i plesni *C. albicans* bila je nezadovoljavajuća kod svih sorbenata aktiviranih Cu^{2+} - i Zn^{2+} - jonima.

Pojedinačni zaključci koji se mogu izdvojiti na osnovu dobijenih rezultata u istraživanju površinski Ag^+ - aktiviranih antimikrobnih materijala:

- ukupno antimikrobno dejstvo Ag^+ -aktiviranih sorbenata, posledica je istovremenog dejstva jona imobilisanih na aktivnoj površini sorbenta i jona koji desorbuju sa aktivne površine nosača;
- antimikrobno dejstvo Ag^+ -aktiviranih sorbenata zavisi od izraženosti procesa desorpcije;
- velika količina adsorbovanog hemijskog agensa na modifikovanom sorbentu nije preduslov za efikasno antimikrobno dejstvo srebrom aktiviranih sorbenata;

- uticaj Ag^+ -jona u čvrstoj fazi: antimikrobna aktivnost Ag^+ - aktiviranih sorbenata rasla je sa smanjenjem sadržaja aktivirajuće supstance (hemijskog agensa) na aktivnoj površini;
- uticaj Ag^+ -jona u vodenoj fazi: antimikrobna aktivnost Ag^+ - aktiviranih sorbenata opadala je sa smanjenjem koncentracije desorbovanih Ag^+ - jona u vodenom rastvoru;
- Ag/Z sorbent pokazao je najefikasnije inhibitorno dejstvo za sve ispitivane mikroorganizme, gde je dominantan uticaj Ag^+ - jona sa aktivne površine;
- uniformna disperzija hemijskog agensa na površini sorbenta (u slučaju Ag/Z), omogućila je bolju raspodelu jona na aktivnim mestima i efikasnije antimikrobno dejstvo srebrom aktiviranog sorbenta;
- jonizovano srebro (Ag^+) pokazalo se kao efikasniji hemijski agens u odnosu na elementarni oblik srebra (Ag^0);
- Ag^+ -joni adsorbovani su kao elementarno srebro (Ag^0) na površini Ag/GAC sorbenta; antimikrobno dejstvo Ag/GAC sorbenta posledica je dominantnog dejstva Ag^+ -jona desorbovanih sa aktivne površine;
- antimikrobno dejstvo Ag/T aktiviranog sorbenta posledica je istovremenog dejstva Ag^+ -jona imobilisanih na aktivnoj površini i jona desorbovanih sa aktivne površine;
- za sorbente koji su testirani nakon desorpcije (sa smanjenim sadržajem hemijskog agensa), utvrđeno je da je dominantan uticaj aktivnih mesta na površini sorbenta u ukupnom antimikrobnom dejstvu.

Pojedinačni zaključci koji se mogu izdvojiti na osnovu dobijenih rezultata u istraživanju površinski Cu^{2+} - i Zn^{2+} - aktiviranih materijala:

- ukupno antimikrobno dejstvo Cu^{2+} - i Zn^{2+} - aktiviranih sorbenata, sa zanemarljivo izraženom desorpcijom Cu^{2+} - i Zn^{2+} - jona, posmatra se kao aktivnost jona metala na aktivnoj površini sorbenta (jona u čvrstoj fazi);
- Cu^{2+} - joni su efikasniji antimikrobni agensi, u odnosu na Zn^{2+} - jone;
- Cu/Z aktivirani sorbent pokazao se kao najefikasniji inhibitorski materijal, gde je hemijski agens dispergovan na površini sorbenta;
- visoka vrednost sorpcionih kapaciteta za Cu^{2+} - jone nije preduslov za efikasnije antimikrobno dejstvo Cu^{2+} - aktiviranih sorbenata;
- niske vrednosti sorpcionih kapaciteta kod Zn^{2+} -aktiviranih materijala mogu rezultovati povećanjem broja mikrobnih ćelija jer je cink esencijalni element.

Opšti zaključci, nakon svih eksperimentalnih podataka i analiziranih rezultata, koji su i potvrda postavljenih hipoteza ovog naučno-istraživačkog rada, su:

- mehanizam antimikrobnog dejstva metalom aktiviranih sorbenata može da zavisi ili od dejstva jona sa aktivne površine sorbenta ili od dejstva jona desorbovanih u vodenom rastvoru ili od njihovog istovremenog dejstva;
- ukupno antimikrobno dejstvo metalom aktiviranih sorbenata, posledica je istovremeno dejstva jona imobilisanih na aktivnoj površini i jona koji desorbuju sa aktivne površine;
- visoke vrednosti sorpcionih kapaciteta nisu preduslov za efikasno antimikrobno dejstvo metalom aktiviranih sorbenata;
- antimikrobno dejstvo metalom aktiviranih sorbenata zavisi od hemijskog oblika aktivirajućeg agensa;
- priroda materijala i površinske karakteristike materijala direktno utiču na raspodelu i dostupnost aktivirajućeg agensa, odnosno na ukupno antimikrobno dejstvo metalom aktiviranih sorbenata.

Dalja istraživanja površinski aktiviranih sorbenata modifikovanih jonima metala srebra, bakra i cinka, obuhvatila bi:

1. testiranje realnih uzoraka mikrobiološki kontaminirane vode (u šaržnom sistemu);
2. testiranje realnih uzoraka mikrobiološki aktivne vode u protočnim sistemima-provera modifikovanih sorbenata kao filtracionih ispuna;
3. ispitivanje drugih materijala (na primer: kvarcni pesak, manganizirani pesak, cement, kreč, itd.) u kombinaciji sa aktiviranim sorbentima u cilju poboljšanja karakteristika materijala u filtracionim ispunama (kombinovane kolone);
4. mogućnost tabletiranja, odnosno „pakovanja” aktiviranih sorbenata za lokalno antimikrobno dejstvo (pogodno za stajaće rekreacione vode).

Istraživanjem u okviru ove disertacije pokazano je da optimalan izbor materijala i hemijskih agenasa za mikrobiološko prečišćavanje vode zavisi od više kriterijuma. Neophodno je sagledati i ispitati sve aspekte efikasne aktivacije sorbenata. Unapređenje postupaka impregnacije materijala i razumevanje mehanizma antimikrobnog delovanja na površini sorbenta veoma je važno za primenu aktivne filtracije. Višefunkcionalna upotreba površinski aktiviranih sorbenata modifikovanih jonima metala predstavlja perspektivu u savremenim postupcima hemijskog i mikrobiološkog prečišćavanja voda.

VI LITERATURA

- [1] Lj. Rajaković, Ispitivanje hemisorpcije zagađivača na kompleksnim sorpcionim filtrima, Doktorska disertacija, Tehnološko-metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu, 1986.
- [2] Z. Naunović, Nenad Jaćimović, Dušan Kostić, Marko Ivetić, Osnove ekološkog inženjerstva, Građevinski fakultet, Univerzitet u Beogradu, 2014. ISBN: 978-86-7518-164-4.
- [3] J.S. Markovski, K.D. Hristovski, V.N. Rajaković-Ognjanović, A.D. Marinković, Building a Sustainable Water Management System in the Republic of Serbia: Challenges and Issues: Chapter 13 in Water Challenges and Solutions on a Global Scale; Loganathan et al.; ACS Symposium Series; American Chemical Society: Washington, DC, 2015.
- [4] The Water Project Inc. (US), Facts about Water, Statistics of the Water Crisis, https://thewaterproject.org/water-scarcity/water_stats (poslednji pristup: 31.08.2016.)
- [5] D. Povrenović, M. Knežević, Osnove tehnologije prečišćavanja otpadnih voda, Tehnološko-metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu, 2013. ISBN: 978-86.7401-302-1.
- [6] Međunarodna agencija za zaštitu životne sredine, Smernice za razvoj lokalnih uprava za upravljanje otpadnim vodama, http://www.epa.gov/npdes/pubs/final_local_limits_guidance.pdf (poslednji pristup: 17.08.2016.)
- [7] A. Naeem, M.T. Saddique, S. Mustafa, Y. Kim, B. Dilara, Cation exchange removal of Pb from aqueous solution by sorption onto NiO, *J. Hazard. Mater.* 168 (2009) 364–368.
- [8] M. Vukašinović-Sekulić, Mikrobiologija, Tehnološko-metalurški fakultet, Beograd, 2013. ISBN: 978-86-7401-311-3.
- [9] M. Stojanović, Tretman pijaće vode, Izdavač Građevinska knjiga, Beograd, 2009. ISBN: 978-86-395-0598-1.
- [10] Unites States Environmental Protection Agency, EPA, 2011 Edition of the Drinking Water Standards and Health Advisors, EPA 820-R-11-002, Office of Water U.S. Environmental Protection Agency Washington, DC
- [11] Directive 2006/7/EC of the European Parliament and of the Council of 15 February 2006 concerning the management of bathing water quality and repealing Directive 76/160/EEC, Official Journal of the European Union, L64/37.
- [12] World Health Organization (WHO), Guidelines for Drinking Water Quality, Third Edition, Volume 1, Recommendations, Geneva, 2004.
- [13] Quality of water intended for human consumption, EU Directive 98/93/EC.

-
- [14] Pravilnik o higijenskoj ispravnosti vode za piće, Sl. list SRJ, 42/1998, 44/1999.
- [15] Evropska saradnja u nauci i tehnologiji, Nereus COST Akcija ES1403, Otvaranje novih izazova i mogućnosti za ponovnu upotrebu otpadnih voda, www.nireas-iwrc.org
- [16] G. Ferro, F. Guarino, S. Castiglione, L. Rizzo. Antibiotic resistance spread potential in urban wastewater effluents disinfected by UV/H₂O₂ process, *Sci. Total Environ.* 560–561(2016) 29–35.
- [17] I. Michael-Kordatou, R. Andreou, M. Iacovou, Z. Frontistis, E. Hapeshi, C. Michael, D. Fatta-Kassinos, On the capacity of ozonation to remove antimicrobial compounds, resistant bacteria and toxicity from urban wastewater effluents, *J. Hazard. Mater.* 2016, doi:[10.1016/j.jhazmat.2016.02.023](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.02.023)
- [18] B. Pejović Grujić, Uticaj jona srebra na dezinfekciju vode u protočnom sistemu, Magistarski rad, Tehnološko-metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu, 1984.
- [19] Kalpesh Zunjarrao, Bacterial Morphology & Anatomy, Slide Share, 2014. <http://www.slideshare.net/bajuar/bacteriamorphologyanatomy-131001004402phpapp02> (poslednji pristup: 31.08.2016. godine).
- [20] Suzana Dimitrijević-Branković, Mikrobiološka analitika, Praktikum, Tehnološko-metalurški fakultet, Beograd, 2011. ISBN: 978-86-7401-277-2.
- [21] I. Sondi, B. Salopek-Sondi, Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on E. Coli as a model for Gram-positive bacteria, *J. Colloid Interface Sci.* 275 (2004) 177-182.
- [22] D. Ljubisavljević, A. Đukić, B. Babić, Prečišćavanje otpadnih voda, Građevinski fakultet Univerziteta u Beogradu, Beograd, 2004. ISBN: 86-7518-039-X.
- [23] G. Aschermann, A. Jeihanipour, J. Shen, G. Mkongo, L. Dramas, J.P. Croue, A. Schafer, Seasonal variation of organic matter concentration and characteristics in the Maji ya Chai River (Tanzania): Impact on treatability by ultrafiltration, *Wat. Res.* 101 (2016) 370-381.
- [24] E. Fu, Q. Wang, Removal of heavy metal ions from wastewaters: A review, *J. Environ. Manage.* 92 (2011) 407-418.
- [25] H. Guo, F. You, S. Yu, L. Li, D. Zhao, Mechanisms of chemical cleaning of ion exchange membranes: A case study of plant-scale electro dialysis for oily wastewater treatment, *J. Membr. Sci.* 496(2015)310–317.
- [26] F. Di Natale, A. Erto, A. Lancia, D. Musmarra, Equilibrium and dynamic study on hexavalent chromium adsorption onto activated carbon, *J. Hazard. Material.* 281 (2015) 47-55.
- [27] A. Erto, F. Di Natale, D. Musmarra, A. Lancia, Modeling of single and competitive adsorption of cadmium and zinc onto activated carbon, *Adsorption* 21 (2015) 611-621.

-
- [28] A. Djukić, B. Lekić, V. N. Rajaković-Ognjanović, Dj. Veljović, T. Vulić, M. Djolić, Z. Naunovic, J. Despotović, D. Prodanović, Further Insight into the Mechanism of Heavy Metals Partitioning in Stormwater Runoff, *J. Environ. Manage.* 168 (2016) 104-110.
- [29] E. Mariussen, M. Ljønes, A. E. Strømseng, Use of sorbents for purification of lead, copper and antimony in runoff water from small arms shooting ranges, *J. Hazard. Mater.* 243 (2012) 95–104.
- [30] B.M. Jovanović, V.I. Vukašinović-Pešić, Đ.N. Veljović, L.J.V. Rajaković, Arsenic removal from water using low-cost adsorbents – a comparative study, *J. Serb. Chem. Soc.* 76 (10) (2011) 1437–1452.
- [31] S. De Gisi, G. Lofrano, M. Grassi, M. Notarnicola, Characteristics and adsorption capacities of low-cost sorbents for wastewater treatment: A review, *Sustainable Mater. Technol.* 9 (2016) 10–40.
- [32] S. Wang, Y. Peng, Natural zeolites as effective adsorbents in water and wastewater treatment, *Chem. Eng. J.* 156 (2010) 11-24.
- [33] Y. Li, A. Deletić, D.T. McCarthy, Removal of E. Coli from urban water stormwater using antimicrobial-modified filter media, *J. Hazard. Mater.* 271 (2014) 73-81.
- [34] M. Rivera Garza, M.T. Olguin, I. Garcia-Sosa, D. Alcantara, G. Rodriguez-Fuentes, Silver Supported on natural mexican zeolite as an antibacterial material, *Microporous Mesoporous Mater.* 39 (2000) 431-444.
- [35] Y. Matsumura, K. Yoshikata, S. Kunisaki, T. Tsuchido, Mode of bactericidal action of silver zeolite and its comparison with that of the silver nitrate, *Appl. Environ. Microbiol.* 69 (2003) 4278-4281.
- [36] S.M. Magana, P. Quintana, D.H. Aguilar, J.A. Toledo, C. Angeles-Chavez, M.A. Cortes, L. Leon, Y. Freile-Pelegrin, T. Lopez, R.M. Torres Sanchez, Antibacterial activity of montmorillonites doped with silver, *J. Mol. Catal. A: Chem.* 281 (2008) 192-199.
- [37] Y. Innoue, M. Kogure, K. Matsumoto, H. Hamashima, M. Tsukada, K. Endo, T. Tanaka, Light Irradiation Is a Factor in the Bactericidal Activity of Silver-Loaded Zeolite, *Chem. Pharm. Bull.* 56 (2008) 692-694.
- [38] J. Hrenovic, J. Milenkovic, T. Ivankovic, N. Rajic, Antibacterial activity of heavy metal-loaded natural zeolite, *J. Hazard. Mater.* 201-202 (2012) 260-264.
- [39] Z. Milan, C. de las Pozas, M. Crus, R. Borja, E. Sanchez, K. Ilangovan, Y. Espinosa, B. Luna, The removal of bacteria by modified natural zeolites, *J. Environ. Sci. Health Pt. A: Toxic Hazard. Subst. Environ. Eng.* 36 (2001) 1073-1087.

-
- [40] A. Top, S. Ulku, Silver, zink, and copper exchange in a Na-clinoptilolite and resulting effect on antimicrobial activity, *Appl. Clay Sci.* 27 (2004) 13-19.
- [41] C. Kwakye-Awuah, M. Williams, A. Kenward, I. Radecka, Antimicrobial action and efficiency of silver-loaded zeolite X, *J. Appl. Microbiol.* 104 (2008) 1516-1524.
- [42] K. Malachova, P. Praus, Z. Rybkova, O. Kozak, Antibacterial and antifungal activities of silver, copper and zinc montmorillonites, *Appl. Clay Sci.* 53 (2011) 642–645.
- [43] S.H. Sohrabnezhad, M.J. Mehdipour Moghaddam, T. Salavatiyan, Synthesis and characterization of CuO–montmorillonite nanocomposite by thermal decomposition method and antibacterial activity of nanocomposite, *Spectrochim Acta, Part A* 125 (2014) 73–78.
- [44] Dj. Stojakovic, J. Hrenovic, M. Mazaj, N. Rajic, On the zink sorption by the Serbian natural clinoptilolite and the disinfecting ability and phosphate affinity of the exhausted sorbent, *J. Hazard. Mater.* 185 (2011) 408-415.
- [45] A. Esteban-Cubillo, C. Pecharroman, E. Aguilar, J. Santaren, J.S. Moya, Antibacterial activity of copper monodispersed nanoparticles onto sepiolite, *J. Mater. Sci.* 41 (2006) 5208-5212.
- [46] T.Q. Tuan, N.V. Son, H.T.K. Dung, N.H. Luong, B.T. Thuyb, N.T.V. Anhb, N.D. Hoac, N.H. Haia, Preparation and properties of silver nanoparticles loaded in activated carbon for biological and environmental applications, *J. Hazard. Mater.* 192 (2011) 1321-1329.
- [47] I.D. Vukoje, T.D. Tomasevic-Ilic, A.R. Zarubica, S. Dimitrijevic, M.D. Budimir, M.R.Vranjes, Z.V. Saponja, J.M. Nedeljkovic, Silver film on nanocrystalline TiO₂ support: Photocatalytic and antimicrobial ability, *Mater. Res. Bull.* 60 (2014) 824-829.
- [48] L. Korosi, S. Papp, J. Menesi, E. Illes, V. Zollmer, A. Richardt, I. Dekary, Photocatalytic activity of silver-modified titanium-dioxide at solid-liquid and solid-gas interferences, *Colloids Surf. A* 319 (2008) 136-142.
- [49] E.A. Al-Arfaj, Structure and photocatalysis activity of silver doped titanium oxide nanotubes array for degradation of pollutants, *Superlattices Microstruct.* 62 (2013) 285-291.
- [50] A. Garcia, L. Delgado, J.A. Tora, E. Casals, E. Gonzalez, V. Puntès, X. Font, J. Carrera, A. Sanchez, Effect of cerium dioxide, titanium dioxide, silver, and gold nanoparticles on the activity of microbial intended in wastewater treatment, *J. Hazard. Mater.* 199-200 (2012) 64-72.
- [51] M.V. Liga, E.L. Bryant, V.L. Colvin, Q. Li, Virus inactivation by silver doped titanium dioxide nanoparticles for drinking water treatment, *Water Res.* 45 (2011) 535-544.
- [52] B. Lin, Y. Luo, Z. Teng, B. Zhang, B. Zhou, Q. Wang, Development of silver/titanium dioxide/chitosan adipate nanocomposite as an antibacterial coating for fruit storage, *LWT--Food Sci. Technol.* 63 (2015) 1206-1213.

-
- [53] Radovanović Ž, Jokić B, Veljović Đ, Dimitrijević S, Kojić V, Petrović R and Janačković Đ. Antimicrobial activity and biocompatibility of Ag⁺- and Cu²⁺-doped biphasic hydroxyapatite/ α -tricalcium phosphate obtained from hydrothermally synthesized Ag⁺- and Cu²⁺-doped hydroxyapatite. *Appl. Surf. Sci.* 307 (2014) 513–519.
- [54] C.E. Harland, *Ion exchange, Theory and Practice*, Second Edition, Royal Society of Chemistry, Thomas Graham House, The Science Park, Cambridge, UK, 1994. ISBN: 0-85186-484-8.
- [55] V.J. Inglezakis, S.G Pouloupoulos, *Adsorption, ion exchange and catalysis, Design of Operations and Environmental Applications*, Elsevier, 2006. ISBN: 9780080463667.
- [56] M.B. Đolić, V.N. Rajaković-Ognjanović, J.P. Marković, Lj.J. Janković-Mandić, M.N. Mitrić, A.E. Onjia, Lj.V. Rajaković, The effect of different extractants on lead desorption from natural minerals, *Appl. Surf. Sci.* 324 (2015) 221-231.
- [57] A. Sdiri, T. Higashi, T. Hatta, F. Jamoussi, N. Tase, Evaluation the adsorptive capacity of montmorillonitic and calcareous clays on the removal of several heavy metals in aqueous systems, *Chem. Eng. J.* 172 (2011) 37–46.
- [58] K. Gedic, I. Imamoglu, Removal of cadmium from aqueous solutions using clinoptilolite: influence of pretreatment and regeneration, *J. Hazard. Mater.* 155 (2008) 385–392.
- [59] M. Kara, H. Yuzer, E. Sabah, M.S. Celik, Adsorption of cobalt from aqueous solutions onto sepiolite, *Water Res.* 37 (2003) 224–232.
- [60] K.G. Bhattacharyya, S.S. Gupta, Pb(II) uptake by kaolinite and montmorillonite in aqueous medium: Influence of acid activation of the clays, *Colloid. Surface. A* 227 (2006) 191–200.
- [61] M. Eloussaief, M. Benzina, Efficiency of natural and acid activated clays in the removal of Pb(II) from aqueous solutions, *J. Hazard. Mater.* 178 (2010) 753–757.
- [62] M. Turan, U. Mart, B. Yuksel, M.S. Celik, Lead removal in fixed-bed columns by zeolite and sepiolite, *Chemosphere* 60 (2005) 1487–1492.
- [63] N.V. Medvidović, J. Perić, M. Trgo, Column performance in lead removal from aqueous solutions by fixed bed of natural zeolite–clinoptilolite, *Sep. Purif. Technol.* 49 (2006) 237–244.
- [64] M.E. Argun, Use of clinoptilolite for the removal of nickel ions from water: Kinetics and thermodynamics, *J. Hazard. Mater.* 150 (2008) 587–595.
- [65] E. Katsou, S. Malamis, Regeneration of natural zeolite polluted by lead and zinc in wastewater treatment system, *J. Hazard. Mater.* 189 (2011) 773–786.

[66] M.B. Đolić, V.N. Rajaković-Ognjanović, S.B. Štrbac, Z.Lj. Rakočević, Đ.N. Veljović, S.I. Dimitrijević, Lj.V. Rajaković, The antimicrobial efficiency of silver activated sorbents, *Appl. Surf. Sci.* 357(2015) 819–831.

[67] Y. Deng, Y. Wang, The kinetics of cellulose dissolution in sodium hydroxide solution at low temperatures. *Biotechnol. Bioeng.* 102(5) (2009)1398–1405.

[68] R.C. Bansal, M. Goyal, Activated carbon adsorption, Taylor & Francis Group, LLC, Florida, USA, 2005. ISBN: 13-978-1-4200-2881-2.

[69] C.E. Housecroft, A.G. Sharpe, Inorganic chemistry (3rd ed), Pearson Education Limited, England, 2008. ISBN: 0130-39913-2.

[70] Miloš B. Rajković, Hemija elemenata, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Beogradu, 2002. ISBN: 86- 80733-21-0.

[71] J.R. Morones-Ramirez, J.A. Winkler, C.S. Spina, J.J. Collins, Silver Enhances Antibiotic Activity Against Gram-Negative Bacteria, *Sci. Transl. Med.* 5 (190) 2013, doi: 10.1126/scitranslmed.3006276.

[72] C.E. Santo, N. Taudte, D.H. Nies, G. Grass, Contribution of Copper Ion Resistance to Survival of *Escherichia coli* on Metallic Copper Surfaces, *Appl. Environ. Microbiol.* 74 (4) (2008) 977–986.

[73] Uredba o graničnim vrednostima emisije zagađujućih materija u vodi i rokovima za njihovo dostizanje, *Sl. glasnik RS*, 62/2011, 48/2012.

[74] P.S Shrivastava, A. Singh, L. Shrivastava, Fly ash disposal and diseases in nearby villages (A Survey), *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.* 4 (2015) 939-946.

[75] Lj.V. Rajaković, Ž.N. Todorović, V.N. Rajaković-Ognjanović, A.E. Onjia, Analytical methods for arsenic speciation analysis (Review), *J. Serb. Chem. Soc.* 78 (10) (2013) 1461-1479.

[76] Lj.V. Rajaković, D.D. Marković, V.N. Rajaković-Ognjanović, D.Z. Antanasijević, Review: The approaches for estimation of limit of detection for ICP-MS trace analysis of arsenic, *Talanta* 102 (2012) 79-87.

[77] B. Stalović, S. Đorđević, Optička emisiona spektroskopija sa induktivno kuplovanom plazmom (ICP/OES) kao analitička tehnika za detekciju teških metala u biološkom materijalu, *Med. Data Rev.* 5(1) (2013) 053-057.

[78] K.E. Jarvis, A.L. Gray, R.S. Houk, Handbook of Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry, Blackie, Glasgow, 1992.

-
- [79] New Mexico State Institute, College of Arts and Sciences, ICP Backgroud, https://web.nmsu.edu/~kburke/Instrumentation/NMSU_Optima2100.html (poslednji pristup: 31.08.2016.)
- [80] R. Thomas, Practical Guide to ICP-MS, Scientific Solutions Gaithersburg, Maryland, U.S.A. Marcel Dekker INC, New York, U.S.A, 2004. ISBN: 0-8247-5319-4.
- [81] D. Izvonar, Instrumentalne metode u keramici, Viša tehnološka škola za nemetale, Arandjelovac, 2000.
- [82] M. Dragojević, M. Popović, S. Stević, V. Šćepanović, Opšta hemija, prvi deo, Tehnološko-metalurški fakultet, Beograd, 1994.
- [83] D. Brandon, W.Kaplan, Microstructural Characterization of Materials, 2nd ed, Wiley, New York, 2008.
- [84] Y. Leng, Materials Characterization Itroudction to Microscopic and Spectroscopic Methods, Hong Kong University of Science and Technology, JohnWiley & Sons (Asia) Pte Ltd, Singapore, 2008. ISBN 978-0-470-82298-2.
- [85] V. Jokanović, Instrumentalne metode ključ razumevanja nanotehnologije i nanomedicine, Inženjerska komora Srbije i Institut za nuklearne nauke „Vinča”, 2014, Editor: dr Branko Nikolić, redovni profesor, ISBN: 978-86-7306-123-8.
- [86] Wikipedia, X-ray photoelectron spectroscopy, https://en.wikipedia.org/wiki/X-ray_photoelectron_spectroscopy (poslednji pristup: 31.08.2016.)
- [87] S. Jovanović, K.Jeremić, Karakterisanje polimera, Tehnološko-metalurški fakultet, Beograd, 2007.
- [88] M. Ulmanu, I. Anger, E. Gament, G. Olanescu, C. Predescu, M Sohaciu, Effect of a romanian zeolite on heavy metals transfer from polluted soil to corn, mustard and oat, U.P.B. Sci. Bull.,Series B 68 (3) (2006) 67-78.
- [89] V. Tomašić, I. Brnardić, H. Jenei, V. Kosar, S. Zrnačević, Combustion of Active Carbon as a Model Carbon Material: Comparison of Non-catalytic and Catalytic Oxidation, Chem. Biochem. Eng. Q. 25 (3) (2011) 283-287.
- [90] D.D. Milenković, Lj.V. Rajaković, S. Stoiljković, The sorption of cyanides from the water onto activated carbon, Facta Univ. Ser.: Work. Living Environ. Prot. 2(4) (2004) 251-258.
- [91] ADSORBSIA AS600, Titanium Based Adsorbent Material Safety Data Sheet, The Dow Chemical Company http://www.dowwaterandprocess.com/en/Products/A/ADSORBSIA_AS600 (last access 17.08.2016)

[92] E.S. Gould, Inorganic reactions and structure, Revised Edition, Stanford Research Institute, Holt, Rinehart and Winston – New York, 1962.

[93] G. Cik, H. Bujdakova, F. Sersen, Study of fungicidal and antibacterial effect of the Cu(II)-complexes of thiophene oligomers synthesized in ZSM-5 zeolite channels, *Chemosphere* 44 (2011) 313–319.

[94] D.Ž. Jaćimović, Impregnacija aktivnih ugljeničnih materijala solima srebra, Diplomski rad, Tehnološko-metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu, 2000.

[95] S.M. Svetozar, Određivanje sadržaja srebra adsorbovanog na aktivnim ugljeničnim materijalima metodom atomske apsorpcijone spektrometrije, Diplomski rad, Tehnološko-metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu, 2000.

[96] D. Zhao, D. Zhou, N. Liu, Preparation and characterization of Mingguang palygorskite supported with silver and copper for antibacterial behavior, *Appl. Clay Sci.* 33 (2006) 161–170.

[97] P. Lalueza, M. Monzon, M. Arruebo, J. Santamaria, Bactericidal effects of different silver-containing materials, *Mat. Res. Bul.* 46 (2011) 2070-2076.

[98] A. Ferreira, M. Fonseca, G. Botelho, C. Almeida-Aguiar, I.C. Neves, Antimicrobial activity of faujasite doped with silver, *Microporous Mesoporous Mater.* 160 (2012) 126-132

[99] L.J. Kennedy, A.G. Kumar, B. Ravindran, G. Sekaran, Copper impregnated mesoporous activated as a high efficient catalyst for the complete destruction of pathogens in water, *Environ. Prog.* 27 (2008) 40–50.

[100] J. Hrenović, J. Milenković, N. Daneu, R. Matonickin Kepcija, N. Rajić, Antimicrobial activity of metal oxide nanoparticles supported onto natural clinoptilolite, Antimicrobial activity of metal oxide nanoparticles supported onto natural clinoptilolite, *Chemosphere* 88 (2012) 1103–1107.

[101] P. Gajjar, B. Pettee, D.V. Britt, W. Huang, W.P. Johnson, A.J. Anderson, Antimicrobial activities of commercial nanoparticles against an environmental soil microbe, *Pseudomonas putida* KT2440. *J. Biol. Eng.* 3 (2009) 1–13.

[102] S. Pal, J. Joardar, J.M. Song, Removal of *E. coli* from Water Using Surface-Modified Activated Carbon Filter Media and Its Performance over an Extended Use, *Environ. Sci. Technol.* 40 (2006) 6091–6097.

[103] V. Aruoja, H.C. Dubourguier, K. Kasemets, A. Kahru, Toxicity of nanoparticles of CuO, ZnO and TiO₂ to microalgae *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Sci. Total Environ.* 407 (2009) 1461–1468.

[104] J.L. Clement, P.S. Jarrett, Antibacterial Silver, *Met.-Based Drugs*, 1 (1994) 467-482.

-
- [105] D.W. Brett, A discussion of silver as an antimicrobial agent: alleviating the confusion, *Ostomy/Wound Man.* 52 (2006) 34-41.
- [106] C.H. Hu, M.S. Xia, Adsorption and antibacterial effect of copper-exchanged montmorillonite on *Escherichia coli* K88, *Appl. Clay Sci.* 31 (2006):180–184.
- [107] Y. Inoue, H. Hamashima, Electrochemical Analysis of the Redox State of Silver Contained in Antibacterial Material, *J. Biomater. Nanobiotechnol.* 3 (2012) 136-139.
- [108] X. Peng, S. Palma, N.S. Fisher, S.S. Wong, Effect of morphology of ZnO nanostructures on their toxicity to marine algae, *Aquat. Toxicol.* 102 (2011) 186–196.
- [109] M.A. Stylianou, M.P. Hadjiconstantinou, V.J. Inglezakis, K.G. Moustakas, M.D. Loizidou, Use of natural clinoptilolite for the removal of lead, copper and zinc in fixed bed column, *J. Hazard. Mater.* 143 (2007) 575-581.
- [110] United States Patent Office, Naphthalene alkylation process, Application number PCT/US1991/002337, Publication number WO19911015443 A1, 1991.
- [111] S. Đorđević, Fizička hemija, II deo, Tehnološko-metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu, 1978.
- [112] M.C. Edmundson, M. Capeness, L. Horsfall, Exploring the potential of metallic nanoparticles within synthetic biology, *New Biotechnol.* 31 (2014) 572–578.
- [113] Z. Huang, X. Zheng, D. Yan, G. Yin, X. Liao, Y. Kang, Y. Yao, D. Huang, B. Hao, Toxicological Effect of ZnO Nanoparticles Based on Bacteria, *Langmuir* 24 (2008) 4140–4144.
- [114] M. Mansoor Ahammed, V. Meera, Metal oxide/hydroxide-coated dual-media filter for simultaneous removal of bacteria and heavy metals from natural waters. *J. Hazard. Mater.* 181 (2010) 788–793.
- [115] H. Ortiz-Ibarra, N. Casillas, V. Soto, M. Barcena-Soto, R. Torres-Vitela, W. de la Cruz, S. Gómez-Salazar, Surface characterization of electrodeposited silver on activated carbon for bactericidal purposes, *J. Colloid Interface Sci.* 314 (2007) 562-571.
- [116] Y. Zhao, Z. Wang, X. Zhao, W. Li, S. Liu, Antibacterial action of silver-doped activated carbon prepared by vacuum Impregnation, *Appl. Surf. Sci.* 266 (2013) 67-72.
- [117] L. Jiang, F. Wang, F. Han, W. Prinyawiwatkul, H.K. No, B. Ge, Evaluation of diffusion and dilution methods to determine the antimicrobial activity of water-soluble chitosan derivatives, *J. Appl. Microbiol.* 114 (3) (2013) 956-963.
- [118] A. Sari, M. Tuzen, Adsorption of silver from aqueous solution to onto raw vermiculite and manganese oxide-modified vermiculite, *Microporous Mesoporous Mater.* 170 (2013) 155-163.

-
- [119] Y.F. Jia, C.J. Steele, I.P. Hayward, K.M. Thomas, Mechanism of adsorption of gold and silver species on activated carbons, *Carbon* 36 (1998) 1299–1308.
- [120] Feng Hong-Liang, Gao Xiao-Yong, Zhang Zeng-Yuan, Ma Jiao-Min, Study on the Crystalline Structure and the Thermal Stability of Silver-oxide Films Deposited by Using Direct-current Reactive Magnetron Sputtering Methods, *J. Korean Phys. Soc.* 54 (4) (2010) 1176-1179.
- [121] N.N. Greenwood, A.Earnshaw, *Chemistry of the Elements*, Second Edition, Butterworth-Heinemann. ISBN 0080379419, 1997.
- [122] C.E.B. Linares, D. Briebeler, D. Cargnelutti, S.H. Alves, V.M. Morsch, M.R.C.Schetinger, Catalase activity in *Candida albicans* exposed to antineoplastic drugs, *J. Med. Microbiol.* 55 (2006) 259-262.
- [123] R.J. Bird, P. Swift, Energy calibration in electron spectroscopy and the re-determination of some reference electron binding energies, *J. Electron Spectrosc. Relat. Phenom.* 21 (1980) 227-240.
- [124] J.A. Jiménez, H. Liu, E. Fachini, X-ray photoelectron spectroscopy of silver nanoparticles in phosphate glass, *Mater. Lett.* 64 (2010) 2046-2048.
- [125] L. Korosi, Sz. Papp, I. Bertoti, I. Dekany, Surface and bulk composition, structure, and photocatalytic activity of phosphate-modified TiO₂, *Chem. Mater.* 19 (2007) 4811-4819.
- [126] V.I. Inglezakis, M.D. Loizidou, H.P. Grigoropoulou, Ion exchange of Pb²⁺, Cu²⁺, Fe³⁺, and Cr³⁺ on natural clinoptilolite: selectivity determination and influence of acidity on metal uptake, *J. Colloid Interface Sci.* 261 (2003) 49-54.
- [127] S. Kocaoba, Y. Orhan, T. Akyus, Kinetics and equilibrium studies of heavy metal ions removal by use of natural zeolite, *Desalination* 214 (2007) 01-10.
- [128] O. Abollino, M. Aceto, M. Malandrino, C. Sarzanini, E. Mentasti, Adsorption of heavy metals on Na-montmorillonite. Effect of pH and organic substances, *Water Res.* 37 (2003) 1619–1627.
- [129] J.J. Lingane, *Analytical Chemistry of Selected Metallic Elements*, Harvard University, Reinhold Publishing Corporation, Chapman & Hall LTD, London, 1966.
- [130] J. Wang, F. Zhao, Y. Hu, R. Zhao, R. Liu, Modification of Activated Carbon by Loading Metals and Their Performance on SO₂ Removal, *Chinese J. Chem. Eng.* 14 (2006) 478-485.
- [131] R.S. Razavi, M.R. Longman-Estarki, Synthesis and characterization of copper oxide nanoparticles within zeolite Y, *J. Cluster Sci.* 23 (2012) 1097-1106.
- [132] O. Kozak, P. Praus, V. Machovic, Z. Klika, Adsorption of zinc and copper ions of natural and ethylenediamine modified montmorillonite, *Ceram-Silik* 54 (2010) 78-84.

-
- [133] M.C. Biesinger, L.W.M. Lau, A.R. Gersonb, R.S.C. Smartb. Resolving surface chemical states in XPS analysis of first row transition metals, oxides and hydroxides: Sc, Ti, V, Cu and Zn. *Appl. Surf. Sci.* 257 (2010) 887–898.
- [134] Q. Yuan, L. Chen, M. Xiong, J. He, S.L. Luo, C.T. Au, S.F. Yin, Cu₂O/BiVO₄ heterostructures: synthesis and application in simultaneous photocatalytic oxidation of organic dyes and reduction of Cr(VI) under visible light, *Chem. Eng. J.* 255 (2014) 394–402.
- [135] G. Zhang, H. Zhang, X. Zhang, W. Zeng, Q. Su, G. Du, H. Duan, Solid-solution-like ZnO/C composites as excellent anode materials for lithium ion batteries, *Electrochim. Acta* 186 (2015) 165–173.
- [136] X. Zou, J. Shi, H. Zhang, Coexistence of silver and titanium dioxide nanoparticles: Enhancing or reducing environmental risk? *Aquat. Toxicol.* 154 (2014) 168–175.
- [137] K. Broos, M.S.J. Warne, D.A. Heemsbergen, D. Stevens, M.B. Barnes, R.L. Correll, M.J. McLaughlin, Soil factors controlling the toxicity of copper and zinc to microbial processes in Australian soils, *Environ. Toxicol. Chem.* 26 (2007) 583–590.
- [138] L.Y. Li, M. Chen, J.R. Grace, K. Tazaki, K. Shiraki, R. Asada, H. Watanabe, Remediation of acid rock drainage regenerable natural clinoptililite, *Water Air Soil Pollut.* 180 (2007) 11–27.
- [139] J. Bjerrum, G. Schwarzenbach, L.G. Gilhen (compilers), *Stability Constants of Metal Ion Complex, Part I*, Chemical Society, London, Spec. Publ. 6, 1957.
- [140] O. Vitorović, R. Šarep, *Analitička hemija, teorijske osnove*, Tehnološko-metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu, 1989. ISBN: 86-7401-042-3.
- [141] C. del Hoyo, C. Dorado, M.S. Rodriguez-Cruz, M.J. Sanchez-Martin, Physico-chemical study of selected surfactant–clay mineral systems, *J. Therm. Anal. Cal.* 94 (1) (2008), 227–234.
- [142] V. Marjanović, S. Lazarević, I. Janković-Častvan, B. Jokić, Dj. Janačković, R. Petrović, Adsorption of chromium (VI) from solutions onto amine-functionalized natural and acid-activated sepiolites, *Appl. Clay Sci.* 80–81 (2013) 202–210.
- [143] E. Fu, Q. Wang, Removal of heavy metal ions from wastewaters: A review, *J. Environ. Manage.* 92 (2011) 407–418.
- [144] M. Panayotova, Kinetics and thermodynamics of removal of nickel ions from wastewater by use of natural and modified zeolite, *Fresen. Environ. Bull.* 10 (2001) 267–272.
- [145] P. Stathi, K. Litina, D. Gournis, T.S. Gianoupoulos, Y. Deligiannakis, Physicochemical study of novel organoclays as heavy metal ion adsorbents for environmental remediation, *J. Colloid Interf. Sci.* 316 (2007) 298–309.

-
- [146] S.M. Lee, D. Tiwari, Organo and inorgano–organo modified clays in the remediation of aqueous solutions: An overview, *Appl. Clay Sci.* 59–60 (2012) 84–102.
- [147] R. Zhu, L. Zhu, J. Zhu, L. Xu, Structure of surfactant–clay complexes and their sorptive characteristics towards HOCs, *Sep. Purif. Technol.* 63 (2008) 158–162.
- [148] M. Doula, A. Ioannou, A. Dimirkou, Copper Adsorption and Si, Al, Ca, Mg and Na Release from Clinoptilolite, *J. Colloid Interf. Sci.* 245 (2002) 237–250.
- [149] I. Smičiklas, S. Smiljanić, A. Perić-Grujić, M. Šljivić-Ivanović, M. Mitrić, D. Antonović, Effect of acid treatment on red mud properties with implications of Ni(II) sorption and stability, *Chem. Eng. J.* 242 (2014) 27–35.
- [150] I. I. Raad, R. Y. Hachem, H. A. Hanna, X. Fang, Y. Jiang, T. Dvorak, R. J. Sherertz, D. P. Kontoyiannis, Role of ethylene diamine tetra-acetic acid (EDTA) in catheter lock solutions: EDTA enhances the antifungal activity of amphotericin B lipid complex against *Candida* embedded in biofilm, *Int. J. Antimicrob. Agents* 32 (2008) 515–518
- [151] W. Huang, Q. Duan, F. Li, J. Shao, H. Cheng, D. Wu, Sodium houthuyfonate and EDTA- Na_2 in combination effectively inhibits *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* in vitro and in vivo, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 25 (2015) 142–147.
- [152] R. Hamoud, S. Zimmermann, J. Reichling, M. Wink, Synergistic interactions in two-drug and three-drug combinations (thymol, EDTA and vancomycin) against multi drug resistant bacteria including *E. coli*, *Phytomedicine* 21 (2014) 443–447.
- [153] C. Baker-Austin, M. Dopson, Life in acid: pH homeostasis in acidophiles, *Trends Microbiol.* 15 (2007) 165–171.
- [154] P.D. Cutter, C. Hill, Surviving the acid test: responses of gram-positive bacteria to low pH. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 67 (2003) 429–453.
- [155] J.W. Foster, The acid tolerance response of *Salmonella typhimurium* involves transient synthesis of key acid shock proteins, *J. Bacteriol.* 175 (1993) 1981–1987.
- [156] H. Richard, J.W. Foster, *Escherichia coli* glutamate- and arginine-dependent acid resistance systems increase internal pH and reverse transmembrane potential, *J. Bacteriol.* 186 (2004) 6032–6041.
- [157] S.Y. Lee, D.H. Kang, Survival mechanism of *Escherichia coli* O157:H7 against combined treatment with acetic acid and sodium chloride, *Food Microbiol.* 55 (2016) 95–104.

VII PRILOZI

7.1 Biografija

Maja Đolić rođena 15. juna 1983. god. u Beogradu, Republika Srbija. Završila je X Beogradsku gimnaziju i 2002. god. upisala je Tehnološko-metalurški fakultet, Univerziteta u Beogradu. Diplomirala je 2009. godine sa prosečnom ocenom 9,15 na Katedri za inženjerstvo zaštite životne sredine. Oktobra 2010. upisala je doktorske studije na Tehnološko-metalurškom fakultetu, Univerziteta u Beogradu, na odseku za Inženjerstvo zaštite životne sredine. Položila je 12 studijskim programom predviđenih ispita (sa prosečnom ocenom 9,50) i odbranila završni rad sa ocenom 10,0 kao dokaz o naučnoj osposobljenosti kandidata da pristupi izradi doktorske disertacije. Od januara 2011. godine do danas, zaposlena je u Institutu za nuklerane nauke Vinča i angažovana na projektu Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja, Republike Srbije, evidencioni broj III43009, pod nazivom: „Nove tehnologije za monitoring i zaštitu životnog okruženja od štetnih hemijskih supstanci i radijacionog opterećenja”.

Naučno-istraživačka aktivnost Maje B. Đolić pripada oblasti analitičkih metoda u inženjerstvu zaštite životne sredine. Objekat istraživanja stručnog rada obuhvata modifikaciju i analizu materijala – mogućnost aktivacije sorbenata u cilju uklanjanja jona teških metala iz vodene sredine, kao i impregnaciju materijala u cilju antimikrobnog delovanja. Maja B. Đolić je autor i koautor: jednog poglavlja u knjizi M11 (M13), tri rada u vrhunskim međunarodnim časopisima (M21), jednog rada u istaknutom međunarodnom časopisu (M22), dva rada u časopisu međunarodnog značaja (M23), dvadeset naučnih saopštenja u zbornicima radova sa međunarodnih skupova (M33 i M34) i deset radova u vodećem časopisu nacionalnog značaja (M51). Maja Đolić je do sada bila angažovana na pet (5) međunarodnih projekata i član je Evropske federacije biotehnologije – biotehnologije životne sredine (*ehz*. European Federation of Biotechnology – Environmental Biotechnology (EFB-EB)).

7.2 Radovi proistekli iz doktorske disertacije

Radovi u međunarodnim časopisima izuzetnih vrednosti (M21a)

1. **Maja Đolić**, Vladana Rajaković-Ognjanović, Svetlana Štrbac, Zlatko Rakočević, Đorđe Veljović, Suzana Dimitrijević, Ljubinka Rajaković, The antimicrobial efficiency of silver activated sorbents, Applied Surface Science, Vol. 357, Part A, 2015, pp. 819-831, IF (2015) =3,150. ISSN: 0169-4332.
2. **Maja Đolić**, Vladana Rajaković-Ognjanović, Jelena Marković, Ljiljana Janković-Mandić, Miodrag Mitrić, Antonije Onjia, Ljubinka Rajaković, The effect of different extractants on lead desorption from a natural mineral, Applied Surface Science, Vol. 324, 2015, pp. 221-231, IF(2015)=3,150. ISSN: 0169-4332.

Radovi saopšteni na skupovima međunarodnog značaja, štampani u knjigama radova u obliku kratkog izvoda (M34)

1. **Maja Đolić**, Vladana Rajaković-Ognjanović, Antonije Onjia, Ljubinka Rajaković, Natural sorbents modified by divalent Zn^{2+} -ions and their antimicrobial activity, Abstracts of the conference of COST Action TD1304 - ZincNet "Dietary supplements vs food biofortification and the gut microbiome: human and animal health outcomes", Abstract of posters, Session 3 – P17, Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria, 22–23 of March 2016.
2. **Maja Đolić**, Vladana Rajaković-Ognjanović, Branislava Lekic, Antonije Onjia, Ljubinka Rajaković, Cu^{2+} and Zn^{2+} activated natural sorbents and their antimicrobial activity, Environmental engineering and management, Conferință internațională (8;2015;Iasi, Romania), Proceedings of the 8th International Conference Environmental Engineering and Management, 9–12 of September 2015, Iasi, Romania, 2015. Conference Abstracts Book, pages: 289-291. ISSN 2457-7057 ISSN-L 2457-7049.
3. **Maja Đolić**, Vladana Rajaković-Ognjanović, Ljiljana Janković-Mandić, Ljubinka Rajaković, Efficiency of the lead desorption from raw mineral materials with different extractants, 7th Symposium Chemistry and Environmental Protection, Palić, Serbia, 9 –12

of Jun 2015. The Serbian Chemical Society, Book of abstracts, pp. 113-114. ISBN 978-86-7132-058-0.

4. **Maja Đolić**, Vladana Rajaković-Ognjanović, Branislava Lekić, Ljiljana Janković-Mandić, Ljubinka Rajaković, Uklanjanje štetnih supstanci iz vode primenom modifikovanih sorbenata, Međunarodna naučna konferencija Životna sredina i adaptacija privrede na klimatske promene, Beograd, Srbija, 22–24. april 2015. godine, Knjiga izvoda, str. 191, ISBN 978-86-89061-07-9.

Radovi u vodećem časopisu nacionalnog značaja (M51)

1. Alen Guša, **Maja Đolić**, Branislava Lekić, Vladana Rajaković-Ognjanović, Komparativna sorpcija jona teških metala na različitim tipovima sorbenata, Vodoprivreda 47 (2015), broj 273-275, str. 67-77, Izdavač Srpsko društvo za odvodnjavanje i navodnjavanje. ISSN: 0350-0519, UDK: 626/627.
2. **Maja Đolić**, Branislava Lekić, Vladana Rajaković-Ognjanović, Ljiljana Janković-Mandić, Mihajlo Jović, Antonije Onjia, Ljubinka Rajaković, Mogućnosti primene sorbenata aktiviranih jonima metala za mikrobiološko precišćavanje vode, Ecologica 21 (2014) broj 76, str. 791-795, Izdavač: Naučno stručno društvo za zaštitu životne sredine „Ecologica”, Beograd, Srbija. ISSN: 0354-3285.

7.3 Verifikacija svih naučnih i stručnih rezultata kandidata Maje B. Đolić

Poglavlje u knjizi M11 (M13)

1. Ljiljana Janković-Mandić, **Maja Đolić**, Jelena Petrović, Mirjana Čujić, Snežana Dragović, Mosses As Biomonitors of Atmospheric Pollution: Review of Methodologies, Advances in Environmental Research. J.A. Daniels (Ed.), 27 (2015) 159-177. New York, USA, ISBN 978-1-63463-631-5.

Radovi u međunarodnim časopisima izuzetnih vrednosti (M21a)

3. **Maja Đolić**, Vladana Rajaković-Ognjanović, Svetlana Štrbac, Zlatko Rakočević, Đorđe Veljović, Suzana Dimitrijević, Ljubinka Rajaković, The antimicrobial efficiency of silver activated sorbents, Applied Surface Science, Vol. 357, Part A, 2015, pp. 819-831, IF (2015)=3,150. ISSN: 0169-4332.
4. **Maja Đolić**, Vladana Rajaković-Ognjanović, Jelena Marković, Ljiljana Janković-Mandić, Miodrag Mitrić, Antonije Onjia, Ljubinka Rajaković, The effect of different extractants on lead desorption from a natural mineral, Applied Surface Science, Vol. 324, 2015, pp. 221-231, IF(2015)=3,150. ISSN: 0169-4332.

Radovi u vrhunskim međunarodnim časopisima (M21)

1. Aleksandar Đukić, Branislava Lekić, Vladana Rajaković-Ognjanović, Đorđe Veljović, Tatjana Vulić, **Maja Đolić**, Zorana Naunović, Jovan Despotović, Dušan Prodanović, Further Insight into the Mechanism of Heavy Metals Partitioning in Stormwater Runoff, Journal of Environmental Management 168 (2016) 104-110. JEMA-D-15-00977R2, doi:10.1016/j.jenvman.2015.11.035. IF(2015)= 3,131. ISSN: 0301-4797.

Radovi u istaknutim međunarodnim časopisima (M22)

1. Ljiljana Janković-Mandić, **Maja Đolić**, Dana Marković, Dragana Todorović, Antonije Onjia, Snežana Dragović, Natural radionuclides in cigarette tobacco from serbian market and effective dose estimate from smoke inhalation, Radiation Protection Dosimetry. doi: 10.1093/rpd/ncv010, IF(2014)=0,913. ISSN: 0144-8420.

Radovi u međunarodnim časopisima (M23)

1. Ljiljana Janković-Mandić, Ranko Dragović, Milan Đorđević, **Maja Đolić**, Antonije Onjia, Snežana Dragović, Goran Bačić, Spatial variability of 137Cs in the soil of Belgrade region (Serbia), Hem. Ind., Vol. 68, No.4, 2014, pp. 448–455, IF(2014)=0,314. ISSN: 0367-598X.
2. Danijela Maksin, Slađana Kljajević, **Đolić Maja.**, Jelena Marković, Bojana Ekmešćić, Antonije Onjia, Aleksandra Nastasović, Kinetic modeling of heavy metal sorption by vinyl pyridine based copolymer, Hem. Ind., Vol. 66, No. 6, 2012, pp. 795–804, IF(2014)=0,314. ISSN: 0367-598X.

Zbornici međunarodnih naučnih skupova (M30)

Radovi saopšteni na skupovima međunarodnog značaja, štampani u celini (M33)

1. Milica Karanac, **Maja Đolić**, Vladana Rajaković-Ognjanović, Jovan Despotović, Stefan Mandić-Rajčević, Dragan Povrenović: „Uklanjanje teških metala iz vodenih rastvora primenom modifikovanih oblika pepela i šljake iz termoelektrana“, 29. Međunarodni kongres o procesnoj industriji Processing '16, 2. i 3. jun 2016. godine, Beograd, Srbija, str. 227-234, ISBN 978-86-81505-81-6.
2. Milica Karanac, Dragan Povrenović, **Maja Đolić**, Jovan Despotović, Vladana Rajaković-Ognjanović, Primena pepela i šljake iz termoelektrane za uklanjanje teških metala, Konferencija Otpadne vode, komunalni čvrst otpad i opasan otpad, Udruženje za tehnologiju vode i sanitarno inženjerstvo, 12–15. april 2016. godine, Vršac, Srbija, Zbornik radova, str. 82-86, ISBN: 978-86-82931-77-5.
3. Milica Karanac, **Maja Đolić**, Jovan Despotović, Vladana Rajaković-Ognjanović, Potencijalna primena pepela i šljake iz termoelektrana, Konferencija Otpadne vode, komunalni čvrst otpad i opasan otpad, Udruženje za tehnologiju vode i sanitarno inženjerstvo, 12–15. april 2016 godine, Vršac, Srbija, Zbornik radova, str. 226-230, ISBN: 978-86-82931-77-5.
4. Ljiljana Janković-Mandić, Vesna Protić-Đokić, **Maja Đolić**, Radijaciono-higijenska kontrola hrane za životinje, Sedmi međunarodni kongres „Ekologija, zdravlje, rad, sport“,

-
- Banja Luka, Republika Srpska, 21–23. maj 2015. godine, Zbornik radova, str. 302-305, ISBN: 978-99955-619-5-6.
5. Slađana Meseldžija, Ljiljana Janković-Mandić, Jelena Marković, **Maja Đolić**, Đuro Čokesa, Uticaj brzine vetra na koncentraciju suspendovanih čestica PM₁₀ u ambijentalnom vazduhu, 7. međunarodni kongres „Ekologija, zdravlje, rad, sport“, Banja Luka, Republika Srpska, 21–23. maj 2015. godine, Zbornik radova, 459-461, ISBN: 978-99955-619-5-6.
 6. Sonja Pisanjuk, **Maja Đolić**, Ljiljana Janković-Mandić, Natural radioactivity in the soil samples of Subotica, Serbia, 12th International Conference on Fundamental and Applied Aspects of Physical Chemistry, Belgrade, Serbia, 22-26 of September, 2014, Proceedings, pp. 941-944, ISBN 978-86-82371-66-3.
 7. **Maja Đolić**, Ljiljana Janković-Mandić, Antonije Onjia, Toksičnost dioksina kao ekoloških polutanata (Dioxins Toxicity as Environmental pollutants) Šesti međunarodni kongres: „Ekologija, zdravlje, rad, sport“, Banja Luka, Republika Srpska, 6–8. septembar 2013. godine, Zbornik radova, str. 374–378, ISBN 987-99955-789-3-6.
 8. Ljiljana Janković-Mandić, Snežana Dragović, **Maja Đolić**, Faktori radijacionog rizika od terestrijalnog izlaganja u Beogradu (Radioation Risk Factors Due To Terrestrial Exposure in Belgrade) Šesti međunarodni kongres: „Ekologija, zdravlje, rad, sport“, Banja Luka, Republika Srpska, 6–8. septembar 2013. godine, Zbornik radova, str. 491–494, ISBN 987-99955-789-3-6.
 9. Ljiljana Janković-Mandić, Slađana Meseldžija, **Maja Đolić**, Dragana Trajković borove iglice kao bioindikator ¹³⁷Cs u vazduhu (Pine Needles As Bioindicators ¹³⁷Cs in the Air) Šesti međunarodni kongres: „Ekologija, zdravlje, rad, sport“, Banja Luka, Republika Srpska, 6–8. septembar 2013. godine, Zbornik radova, str. 495–498, ISBN 987-99955-789-3-6 .
 10. **Maja Đolić**, Tatjana Vasiljević, Ljiljana Janković-Mandić, Tatjana Mraović, Antonije Onjia, Uticaj dioksina na životnu sredinu i zdravlje ljudi, Prvi međunarodni kongres higijene i preventivne medicine, Beograd, Srbija, 22–24. maj 2013. godine, Zbornik radova, str. 353–359, ISBN 987- 86-6061-034-0.

-
11. Ljiljana Janković-Mandić, Ranko Dragović, Milan Đorđević, **Maja Đolić**, Antonije Onjia, Snežana Dragović, Spatial variability of ^{137}Cs activities in the soil of Belgrade region (Serbia), 11th International Conference on Fundamental and Applied Aspects of Physical Chemistry, Belgrade, Serbia, 24–28 of September, 2012, Proceedings, pp. 621–623, ISBN 978-86-82475-28-6.
 12. Ljiljana Janković-Mandić, Ranko Dragović, **Maja Đolić**, Antonije Onjia, Snežana Dragović, Population doses from terrestrial gamma exposure in Belgrade (Serbia) and their relation to geological setting, The First International Conference on Radiation and Dosimetry in Various Fields of Research RAD2012, Niš, Serbia, 25–27 of April, 2012, Proceedings, pp. 295–298, ISBN 978-86-6125-063-7.

Radovi saopšteni na skupovima međunarodnog značaja, štampani u obliku kratkog izvoda (M34)

1. **Maja Đolić**, Vladana Rajaković-Ognjanović, Antonije Onjia, Ljubinka Rajaković, Natural sorbents modified by divalent Zn^{2+} -ions and their antimicrobial activity, Abstracts of the conference of COST Action TD1304 - ZincNet “Dietary supplements vs food biofortification and the gut microbiome: human and animal health outcomes”, Abstract of posters, Session 3 – P17, Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria, 22–23 of March 2016.
2. **Maja Đolić**, Vladana Rajaković-Ognjanović, Branislava Lekic, Antonije Onjia, Ljubinka Rajaković, Cu^{2+} and Zn^{2+} activated natural sorbents and their antimicrobial activity, Environmental engineering and management, Conferință internațională (8;2015;Iasi, Romania), Proceedings of the 8th International Conference Environmental Engineering and Management, 9–12 of September 2015, Iasi, Romania, 2015. Conference Abstracts Book, pages: 289-291. ISSN 2457-7057 ISSN-L 2457-7049.
3. Sonja Pisanjuk, Ljiljana Janković Mandić, Ranko Dragović, Snežana Dragović, **Maja Đolić**, Distribucija radionuklida u neobrađivom zemljištu Subotice, 7. Simpozijum Hemija i zaštita životne sredine, sa međunarodnim učešćem, Palić, Srbija, 9–12. jun 2015. godine, Srpsko hemijsko društvo, Knjiga izvoda, str. 320-321, ISBN 978-86-7132-058-0320-321.

-
4. **Maja Đolić**, Vladana Rajaković-Ognjanović, Ljiljana Janković-Mandić, Ljubinka Rajaković, Efficiency of the lead desorption from raw mineral materials with different extractants, 7th Symposium Chemistry and Environmental Protection, Palić, Serbia, 9 –12 of Jun 2015. The Serbian Chemical Society, Book of abstracts, pp. 113-114. ISBN 978-86-7132-058-0.
 5. Ljiljana Janković Mandić, **Maja Đolić**, Vesna Protić Đokić, Slađana Meseldžija Određivanje i praćenje zagađenja vazduha u urbanim sredinama, Međunarodna naučna konferencija Životna sredina i adaptacija privrede na klimatske promene, Beograd, Srbija, 22–24. april 2015. godine, Knjiga izvoda, str 154, ISBN 978-86-89061-07-9.
 6. **Maja Đolić**, Vladana Rajaković-Ognjanović, Branislava Lekić, Ljiljana Janković-Mandić, Ljubinka Rajaković, Uklanjanje štetnih supstanci iz vode primenom modifikovanih sorbenata, Međunarodna naučna konferencija Životna sredina i adaptacija privrede na klimatske promene, Beograd, Srbija, 22–24. april 2015. godine, Knjiga izvoda, str. 191, ISBN 978-86-89061-07-9.
 7. Ljiljana Janković-Mandić, Ranko Dragović, **Maja Đolić**, Antonije Onjia, Snežana Dragović, Masene koncentracije kalijuma, torijuma i uranijuma u zemljištu Beograda (Mass concentrations of potassium, thorium and uranium in soil Belgrade), 6. Simpozijum Hemija i zaštita životne sredine, konferencija sa međunarodnim učešćem, Vršac, Srbija, 21–24. maj 2013. godine, Knjiga izvoda, str. 352-353, ISBN 978-86-7132-052-8.
 8. **Maja Đolić**, Ljiljana Janković-Mandić, Tatjana Mraović, Antonije Onjia, Dioksini u hrani, 12. Kongres o ishrani sa međunarodnim učešćem Beograd, Srbija, 31.10. – 3.11.2012. godine, Knjiga izvoda, str. 409–410. ISBN 978-86-909633-2-4.

Radovi u vodećem časopisu nacionalnog značaja (M51)

1. Alen Guša, **Maja Đolić**, Branislava Lekić, Vladana Rajaković-Ognjanović, Komparativna sorpcija jona teških metala na različitim tipovima sorbenata, Vodoprivreda 47 (2015), broj 273-275, str. 67-77, Izdavač Srpsko društvo za odvodnjavanje i navodnjavanje. ISSN: 0350-0519, UDK: 626/627.

-
2. Slađana Meseldžija, Ljiljana Janković-Mandić, Jelena Marković, **Maja Đolić**, Antonije Onjia, *Praćenje stanja kvaliteta ambijentalnog vazduha tokom zimskog perioda u Vinči*, *Ecologica* 22 (2015) broj 79, str. 456-460, Izdavač: Naučno stručno društvo za zaštitu životne sredine „Ecologica”, Beograd, Srbija. ISSN: 0354-3285.
 3. Ljiljana Janković-Mandić, **Maja Đolić**, Vesna Đokić Protić, Slađana Meseldžija,, *Određivanje i praćenje zagađenja vazduha u urbanim sredinama*, *Ecologica* 22 (2015), broj 79, str. 456-460, Izdavač: Naučno stručno društvo za zaštitu životne sredine „Ecologica”, Beograd, Srbija. ISSN: 0354-3285.
 4. Mihajlo Jović, Jelena Marković, **Maja Đolić**, Ljiljana Janković-Mandić, Antonije Onjia, Slavka Stanković, *Mogući rizik po zdravlje ljudi zbog konzumiranja dagnji *Mytilus galloprovincialis* iz Bokokotorskog zaliva*, *Ecologica* 21 (2014) broj 74, str. 283-287, Izdavač: Naučno stručno društvo za zaštitu životne sredine „Ecologica”, Beograd, Srbija. ISSN: 0354-3285.
 5. Ranko Dragović, Milan Đorđević, Miodrag Đorđević, Boško Gajić, **Maja Đolić**, Ljiljana Janković-Mandić, Snežana Dragović, Nevena Mihailović, *Regresiona i geostatistička analiza uticaja geografskih faktorana prostornu distribuciju teških metala u zemljištu industrijske zone Smederevo*, *Ecologica* 21 (2014) broj 74, str. 326-331, Izdavač: Naučno stručno društvo za zaštitu životne sredine „Ecologica”, Beograd, Srbija. ISSN: 0354-3285.
 6. Slađana Meseldžija, **Maja Đolić**, Ljiljana Janković-Mandić, Mihajlo Jović, Jelena Marković, Antonije Onjia, *Bioakumulacija ¹³⁷Cs u borovim iglicama*, *Ecologica* 21 (2014) broj 75, str. 407-410, Izdavač: Naučno stručno društvo za zaštitu životne sredine „Ecologica”, Beograd, Srbija ISSN: 0354-3285.
 7. **Maja Đolić**, Branislava Lekić, Vladana Rajaković-Ognjanović, Ljiljana Janković-Mandić, Mihajlo Jović, Antonije Onjia, Ljubinka Rajaković, *Mogućnosti primene sorbenata aktiviranih jonima metala za mikrobiološko precišćavanje vode*, *Ecologica* 21 (2014) broj 76, str. 791-795, Izdavač: Naučno stručno društvo za zaštitu životne sredine „Ecologica”, Beograd, Srbija. ISSN: 0354-3285.

-
8. **Maja Đolić**, Tatjana Vasiljević, Ljiljana Janković-Mandić, Antonije Onjia, Dioksini u zemljištu – izvori zagađenja i raspodela (Dioxins in Soil - Sources of Pollution and Distribution), *Ecologica* 20 (2013) broj 70, str. 271-274, Izdavač: Naučno stručno društvo za zaštitu životne sredine „Ecologica”, Beograd, Srbija. ISSN: 0354-3285.
 9. Ljiljana Janković-Mandić, Ranko Dragović, **Maja Đolić**, Antonije Onjia, Snežana Dragović, Distribucija litogenih radionuklida u površinskim zemljištima Beograda (Distribution of Lithogenic Radionuclides in Surface Soils from Belgrade), *Ecologica* 20 (2013) broj 70, str. 280-284, Izdavač: Naučno stručno društvo za zaštitu životne sredine „Ecologica”, Beograd, Srbija. ISSN: 0354-3285.
 10. **Maja Đolić**, Ljiljana Janković-Mandić, Antonije Onjia, Upotreba prirodnog gasa kao ekološkog goriva – gasna industrija u Srbiji (Energetic perspective of natural gas usage as ecological fuel – gas industry in Serbia), *Ecologica* 20 (2013), broj 72 (2013), str. 741-745, Izdavač: Naučno stručno društvo za zaštitu životne sredine „Ecologica”, Beograd, Srbija. ISSN: 0354-3285.

7.4 Изјава о ауторству

Потписана Маја Ђолић

Број индекса: 4008/2010

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

„Антимикробно дејство површински активираних сорбената модификованих јонима метала”

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

У Београду, 30. август 2016. године

Потпис докторанда

7.5 Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора: Маја Ђолић

Број индекса: 4008/2010

Студијски програм: Инжењерство заштите животне средине

Наслов рада: Антимикробно дејство површински активираних сорбената модификованих јонима метала

Ментор: др Љубинка Рајаковић, редовни професор Технолошко-металуршког факултета, Универзитета у Београду.

Потписана Маја Ђолић

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

У Београду, 30. август 2016. године

Потпис докторанда

7.6 Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

Антимикробно дејство површински активираних сорбената модификованих јонима метала

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство
2. Ауторство - некомерцијално
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима
5. Ауторство – без прераде
6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

У Београду, 30. август 2016. године

Потпис докторанда

-
1. **Ауторство.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.
 2. **Ауторство – некомерцијално.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.
 3. **Ауторство – некомерцијално – без прерада.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.
 4. **Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.
 5. **Ауторство – без прерада.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.
 6. **Ауторство – делити под истим условима.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.