

Универзитет у Београду
Биолошки факултет

Ирина А. Кандић

**Синтеза, карактеризација и биолошка активност угљеничних
материјала добијених од листова урмине палме (*Phoenix
dactylifera* L.) и плода црне јове (*Alnus glutinosa* L.)**

— докторска дисертација —

Београд, 2025

University of Belgrade
Faculty of Biology

Irina A. Kandić

**Synthesis, characterization and biological activity of carbon
materials obtained from date palm leaves (*Phoenix dactylifera* L.)
and black alder fruit (*Alnus glutinosa* L.)**

– doctoral dissertation –

Belgrade, 2025

Ментори:

проф. др Славиша Станковић, редовни професор
Биолошки факултет, Универзитет у Београду

др Марија Стојменовић, научни саветник

Институт за нуклеарне науке „Винча“, Институт од националног значаја за Републику Србију
Универзитет у Београду

Чланови комисије:

др Милан Краговић, виши научни сарадник

Институт за нуклеарне науке „Винча“, Институт од националног значаја за Републику Србију
Универзитет у Београду

др Весна Карацић, научни сарадник

Институт за јавно здравље Србије „Др Милан Јовановић Батут“

др Стефана Цветковић, доцент

Биолошки факултет, Универзитет у Београду

Датум одбране:

Захвалница

Изражавам захвалност менторки др Марији Стојменовић за несебично дељење знања, корисне савете и стрпљење током израде докторске дисертације. Њена подршка и стручне смернице били су од кључног значаја за превазилажење изазова и успешну реализацију овог рада.

Срдачно се захваљујем ментору проф. др Славиши Станковићу на указаном времену, несебичном стрпљењу и конструктивним предлозима који су допринели квалитету докторске дисертације. Његова посвећеност и спремност да подели своје знање значајно су допринели успеху овог рада.

Хвала колегама др Милану Краговићу и др Јелени Гулицовски из Института „Винча“, на корисним сугестијама и саветима који су докторску дисертацију учинили бољом. Користим прилику да се захвалим колегама, а посебно мс Радмили Лишанин, мс Андријани Васић, мс Неди Нишић, мс Миодрагу Ристовићу, мс Катарини Николић, др Милени Росић, др Владимиру Додевском, др Јелени Петровић, др Сањи Живковић и др Милошу Момчиловићу.

Дугујем захвалност др Јелени Кнежевић и др Весни Караџић из Института за јавно здравље Србије „Др Милан Јовановић Батут“ на корисним саветима, идејама и стрпљењу у току израде експерименталног дела дисертације. Такође, хвала им на помоћи и лепим тренуцима које сам провела код њих. Захваљујем се и мс Милану Миленковићу за анализе везане за израду докторске дисертације.

Велику захвалност дугујем колегиницама са Биолшког факултета, др Стефани Цветковић и др Стефани Ђукановић, на помоћи у изради експерименталног дела, анализи резултата, лепим тренуцима и подршци.

Посебно бих се захвалила др Пеђи Јанаћковићу који је инсистирао да упишем докторске студије.

Изузетну захвалност дугујем својој породици, која ме бодри током целих мојих студија. Захваљујем се тати Александру, који ме је увео у свет науке и који ми је био узор и подршка током свих ових година студирања. Мама Елизабети се захваљујем на несебичној подршци и хвала јој што је увек била ту за мене. Сестри Ани се захваљујем јер ми је учинила много лакшим цео период рада на дисертацији. Баки и деки Мирси и Владимиру се захваљујем јер су ме научили правим вредностима у животу.

Такође, посебну захвалност дугујем својим пријатељима куми Лоли, Андреи, Ани, Еми, Марку, Алекси и Ђорђу, који су ми својим разумевањем, подршком и непрестаним охрабрењем били неизмерно важан ослонац током рада на докторској дисертацији.

Желим да се захвалим свом веренику Миљану који ми није дозволио да одустанем на овом путу и који ми је дао ветар у леђа када ми је то било најпотребније.

Ову дисертацију посвећујем својој породици и пријатељима.

Сажетак

Предмет докторске дисертације је синтеза активних угљеничних материјала поузданих и проверених карактеристика, добијених из стабљике листа палме (*Phoenix dactylifera* L.; P_AC) и плода црне јове (*Alnus glutinosa* L.; A_AC), као и испитивање њихове биолошке активности. Материјали су синтетисани у контролисаним условима и детаљно окарактерисани применом XRD, FTIR, Raman, FESEM и BET метода. Ради поређења, испитиван је и комерцијални материјал добијен из кокосове љуске (*AquaSorb*). С циљем процене безбедности материјала по животну средину и здравље људи, анализирани су састав воде након третмана (ICP-OES), цитотоксичност (MTT тест) и генотоксичност (Комет тест). У циљу проналажења примене синтетисани материјали су примењивани на узорцима воде Александровачког језера за уклањање цијанобактерија и цијанотоксина. Део истраживања обухватила је детаљна анализа фитопланктона Александровачког језера 2020. и 2021. годне. Детектовано је 15 врста цијанобактерија, међу којим је била доминантна инвазивна врста *Raphidiopsis raciborskii*.

Резултати су показали да оба материјала (P_AC и A_AC) уклањају скоро 100 % цијанобактерија након 24 h третмана. Због цитотоксичног и генотоксичног потенцијала P_AC, даље истраживање је усмерено на материјал A_AC. Испитано је и формирање биофилма, где је A_AC показао високу ефикасност против *Escherichia coli* и *Enterobacter*. Материјал A_AC примењен је и за уклањање микроцистина (MC-RR, MC-LR и MC-YR) из језерске воде у високим концентрацијама. Ради бољег разумевања механизма адсорпције цијанобактерија и цијанотоксина, извршене су FTIR анализе материјала пре и након третмана.

На основу добијених резултата закључује се да је материјал A_AC адекватно решење за уклањање цијанобактерија и цијанотоксина из воде обухваћене цијанобактеријским цветањем.

Кључне речи: активни угљенични материјали, лист урмине палме, плод црне јове, цијанобактеријско „цветање“, цијанотоксини, утицај на животну средину, адсорпција

Научна област: Природно-математичке науке

Ужа научна област: Биологија микроорганизама

Abstract

The subject of this doctoral dissertation is the synthesis of activated carbon materials with reliable and verified properties, derived from the stem of the palm leaf (*Phoenix dactylifera* L.; P_AC) and the black alder cone-like flowers (*Alnus glutinosa* L.; A_AC), as well as the investigation of their biological activity. The materials were synthesized under controlled conditions and extensively characterized using XRD, FTIR, Raman, FESEM, and BET methods. For comparison, a commercial material derived from coconut shell (*AquaSorb*) was also examined.

To evaluate the safety of the materials for the environment and human health, water composition after treatment (ICP-OES), cytotoxicity (MTT assay), and genotoxicity (Comet assay) were analyzed. For potential applications, materials were tested on water samples from Aleksandrovac Lake for the removal of cyanobacteria and cyanotoxins. A detailed analysis of the lake's phytoplankton during 2020 and 2021 detected 15 cyanobacterial species, with the dominant *Raphidiopsis raciborskii*.

The results showed that both materials (P_AC and A_AC) achieved nearly 100% removal of cyanobacterial cells after 24 hours of treatment. However, due to the cytotoxic and genotoxic potential of P_AC, further research focused on A_AC. Biofilm formation was also investigated, with A_AC demonstrating high efficiency against *Escherichia coli* and *Enterobacter*. Additionally, A_AC was applied for the removal of microcystins (MC-RR, MC-LR, and MC-YR) from lake water. FTIR analyses of the material before and after treatment provided insights into the adsorption mechanism of cyanobacteria and cyanotoxins.

The results confirm A_AC's effectiveness in removing cyanobacteria and cyanotoxins from bloom-affected water.

Keywords: Activated carbon materials, date palm leaf, black alder cone-like flowers, cyanobacterial „blooms“, cyanotoxins, environmental impact, adsorption

Scientific field: Natural sciences

Scientific sub-field: Biology of microorganisms

Садржај

1. Увод.....	1
1.1. Активни угљенични материјали	3
1.1.1. Синтеза активних угљеничних материјала	5
1.1.2. Карактеристике активних угљеничних материјала	6
1.1.3. Полазни материјали као прекурсори за добијање активних угљеничних материјала	7
1.1.4. Примена активних угљеничних материјала.....	11
1.2. Биофилм	13
1.2.1. Биофилм на активним угљеничним материјалима.....	13
1.2.2. Утицај биофилма на пречишћавање воде	14
1.3. Мониторинг водних тела	15
1.4. Цијанобактерије	18
1.4.1. Цијанотоксини	20
1.4.2. „Цветање цијанобактерија”	22
1.5. Александровачко језеро	27
1.6. Уклањање цијанобактерија и цијанотоксина из воде	28
2. Циљ истраживања.....	33
3. Материјали и методе.....	34
3.1. Материјали	34
3.1.1. Полазни прекурсори	34
3.1.2. Бактеријски сојеви и ћелијске линије	34
3.1.3. Стандарди цијанотоксина	36
3.2. Методе.....	36
3.2.1. Синтеза материјала.....	36
3.2.2. Физичко - хемијска карактеризација материјала.....	38
3.2.3. Испитивање утицаја активних угљеничних материјала на људско здравље и животну средину	39
3.2.4. Испитивање ефекта активних угљеничних материјала на формирање биофилма.....	41
3.2.5. Физичко - хемијске карактеристике воде и биодиверзитет фитопланктона Александровачког језера	43
3.2.6. Одређивање присуства цијанотоксина у води Александровачког језера.....	44
3.2.7. Примена активних угљеничних материјала на узорцима воде из Александровачког језера	44
3.2.8. Статистичка анализа.....	47

4. Резултати и дискусија.....	48
4.1. Физичко - хемијска карактеризација материјала	48
4.1.1. Лигноцелулозни састав прекурсора.....	48
4.1.2. Одређивање приноса материјала након процеса карбонизације и активације	49
4.1.3. Рендгенска дифракциона анализа (XRD)	49
4.1.4. Инфрацрвена спектроскопија с Фуриеровом трансформацијом (FTIR)	51
4.1.5. Раманска спектроскопија	53
4.1.6. Испитивање специфичне површине и расподеле пора активних угљева	55
4.1.7. Скенирајућа електронска микроскопија високе резолуције (FESEM)	57
4.2. Испитивање утицаја активних угљеничних материјала на здравље људи и животну средину.....	59
4.2.1. Концентрација потенцијално токсичних елемената у води након третмана	59
4.2.2. Процена здравственог ризика од тешких метала.....	60
4.2.3. Цитотоксичност и генотоксичност материјала.....	61
4.3. Анализа антибиофилм ефекта синтетисаног материјала.....	63
4.4. Физичко-хемијске карактеристике воде и биодиверзитет фитопланктона Александровачког језера	67
4.4.1. Физичко-хемијски параметри воде из Александровачког језера.....	67
4.4.2. Квалитативна и квантитативна анализа фитопланктона Александровачког језера	68
4.5. Анализа цијанотоксина у Александровачком језеру	76
4.6. Примена активних угљеничних материјала на узорцима воде из Александровачког језера	78
4.6.1. Уклањање цијанобактерија из воде	78
4.6.2. Механизам адсорбције цијанобактерија.....	92
4.6.3. Уклањање цијанотоксина из воде.....	94
4.6.4. Механизам адсорбције микроцистина.....	98
5. Закључци.....	102
6. Литература.....	104
7. Прилози	122

Списак скраћеница

A_RS – сиров узорак, плода црне јове

A_CC - карбонизован узорак, плода црне јове

A_AC - активиран узорак, плода црне јове

C_AC - комерцијални активни угљеник

P_RS - сиров узорак, листа урмине палме

P_CC - карбонизован узорак, листа урмине палме

P_AC - активиран узорак, листа урмине палме

ATSDR - Агенција за токсичне супстанце и регистар болести (енг. Agency for toxic substances and diseases registry)

CYN - цилиндроспермопсин

FE-SEM - Скенирајућа електронска микроскопија високе резолуције (eng. Field emission scanning electron microscopy) -

FTIR - Инфрацрвена спектроскопска анализа са Фуриеровом трансформацијом (eng. Fourier transform infrared spectroscopy) -

IARC - Међународна агенција за истраживање рака (енг. International Agency for Research on Cancer)

ICP-OES - Индуктивно спрегнута плазма - оптичка емисиона спектрометрија (енг. Inductively coupled plasma - optical emission spectrometry)

IUAPC - Међународна унија за чисту и примењену хемију (енг. IUAPC - International Union of Pure and Applied Chemistry)

MC-LA – микроцистин – леуцин – аланин

MC-LR – микроцистин – леуцин – аргинин

MC-RR – микроцистин – аргинин – аргинин

MC-YR – микроцистин – тирозин – аргинин

MRC-5 - Ћелијска линија нормалних хуманих феталних фибробласта (енг. Medical Research Council cell strain 5)

MTT - 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide

PTE - Потенцијално токсични елементи (енг. Potential toxic elements)

USEPA - Агенција за заштиту животне средине Сједињених Држава (енг. United States Environmental Protection Agency)

XRD - Рендгенска дифракциона анализа (енг. X-ray powder diffraction)

МДК - Минимална детектибилна концентрација

СЗО - Светска здравствена организација (енг. WHO - World Health Organization)

1. Увод

Проблем повећаног степена загађења вода за водоснабдевање и рекреацију постао је важна тема широм света. Као последица антропогено - индукованих промена, нарочито прекомерног уплива нутријената, климатских промена, продуженог времена задржавања воде и измењеног режима вертикалне стратификације све је већи проценат водних екосистема који имају повећану примарну продукцију, односно еутрофикацију. Екосистеми према трофичком саставу могу да се сврстају од олиготрофних (присутна ниска концентрација нутријената, без пролиферације примарних продуцената) до хипереутрофних (присутна висока концентрација нутријената) (Свијан, 2013). Плитка језера и резервоари су најподложнији овом процесу, што резултира повећаном бројношћу микроорганизама и појавом „цветања воде“ (Kandić и сар. 2022). Битно је истаћи да се многобројна „цветања“ фитопланктона јављају природно, али људске активности доводе до обogaћивња многих водних тела нутријентима и последица тога је значајна продукција биомасе фитопланктона у кратком временском периоду коју најчешће следи и смањење диверзитета заједнице (Jovanović, 2020; СЗО, 2003). Истраживања која су рађена на малим језерима подигла су свест о значају биодиверзитета слатководних екосистема и њиховој осетљивости на антропогене утицаје (Milošković и сар. 2022). Најчешће врсте цијанобактерија у слатководним срединама су *Microcystis* spp., *Rhaphidiopsis raciborskii*, *Planktothrix rubescens*, *Synechococcus* spp., *Planktothrix agardhii*, *Gloeotrichia* spp., *Anabaena* spp., *Lyngbya* spp., *Aphanizomenon* spp., *Nostoc* spp., *Oscillatoria* spp., *Schizothrix* spp., и *Synechocystis* spp. (Chorus и Welker, 2021). Треба поменути и инвазивне врсте, од којих неке доминирају у регионима одакле потичу, али се не шире увек на нове екосистеме. Ипак, климатске промене и унос хранљивих материја повећавају ризик од инвазије код неколико врста цијанобактерија, чинећи их конкурентнијим у односу на аутохтоне врсте и потенцијално штетним за екосистеме. У литератури се помиње да је врста *Rhaphidiopsis raciborskii* најзначајнији инвазивни таксон у слатководним екосистемама (Jovanović, 2020). Потребно је посебно истаћи значај присуства појединих врста као потенцијалних произвођача токсина, односно цијанотоксина. Стога, проблем распрострањеног „цветања“ цијанобактерија постаје све важнија и актуелнија тема, посебно због штетног утицаја на здравље људи и животиња. Процес еутрофикације фаворизује пролиферацију цијанобактерија пре него „цветање воде“ еукариотских алги (Merel и сар. 2013). Цијанобактерије које продукују цијанотоксине као секундарне метаболите представљају значајан проблем на глобалној скали у воденим екосистемама. Ефекат изложености људи токсинима у зависности од њихове концентрације у води и времену којима су изложени може бити хепатотоксичан, неуротоксичан, или генотоксичан, а дугорочно излагање овим токсинима може бити и смртоносно (Waterbury и сар. 2006; Paerl и Huisman, 2009). Постоји значајна могућност да се токсични ефекти увећају кроз ланац исхране, процесом биомагнификације. Светска здравствена агенција је прописала нивое упозорења у вези са потенцијалним здравственим ризицима и смернице на основу бројности цијанобактерија, а у зависности од намене водног тела (вода за пиће или вода за рекреацију) (СЗО, 2003).

Проналазак метода за уклањање цијанобактерија из воде је смањио ризик од појаве цијанотоксина. У доступној литератури постоје подаци да су се активни угљенични материјали користили за примену у адсорпцији цијанотоксина (Hitzfeld и сар. 2000; Huang и сар. 2007), али не и самих цијанобактерија. Треба имати у виду да још увек нису познати еколошки фактори који утичу на ослобађање токсина у воду. Са тим у вези, присуство таксона који је потенцијални продуцент цијанотоксина треба третирати као потенцијално опасан и потенцијално токсичан (Marinović, 2021). Савремени третмани воде обезбеђују физичко уклањање ћелија, као и уклањање растворених токсина. Међутим, многи од ових третмана воде још увек нису довољно развијени. То може довести до загађења воде и наштетити додатно екосистемама и људском

здрављу. Конвенционални процеси третмана воде као што су коагулација, флокулација, седиментација, филтрација и одводњавање муља могу бити корисни (Walker, 2014). Адсорпција је погодна техника, јер не захтева додатну енергију или материјале, и може ефикасно да регенерише или уклони различите загађиваче (Vijayaraghavan и Yun, 2008, Kulkarni и Kaware 2014). Индустриска примена адсорпционе технологије показује велику разноликост и разноврсну потенцијалну примену, као и могућност развијања технологија за проширење подручја примене. Један од најзаступљенијих и најраспрострањенијих адсорбента је активни угљеник. Првобитно је био коришћен у медицинске сврхе пре него што је описана прва примена за пречишћавање воде за пиће. Велики број активних угљеничних материјала има комерцијалну примену и најчешће се као полазни материјали, односно прекурсори користе отпадне биомасе, материјали који се јављају као нуспроизводи у индустрији, из пољопривреде итд. Активни угљенични материјали, због своје велике порозности, погодни су за адсорпцију и уклањање загађивача из воде (Sweetman и сар. 2017). Осим тога, активни угљенични материјали су добри адсорбенти због своје лакоће припреме и контролисане структуре пора, високе термичке стабилности, добре хемијске отпорности, ниске енергије регенерације, ниске осетљивости на воду и ниске цене, а њихова својства хидрофобности омогућавају веома разноврсну примену (Dodevski и сар. 2020). Наиме, активни угљенични материјали су до данас били најчешће у употреби за уклањање цијанотоксина, нарочито продуката цијанобактерија као што су микроцистин и цилиндроспермопсин (Huang и сар. 2007; Но и сар. 2011). Због све веће потребе за коришћењем активних угљеничних материјала у пречишћавању воде, повећана је и потреба за проналаском најадекватнијег прекурсора за синтезу материјала. Избором прекурсора и контролом услова процеса синтезе активних угљеничних материјала (процеси карбонизације и активације) (Kandić и сар. 2022) могуће је дефинисање најважнијих карактеристика као што је специфична површина и расподела величина пора синтетисаних материјала. Прекурсори који се најчешће користе су дрво, угаљ, воћне коштице, љуска кокоса, бамбус итд. У досадашњим истраживањима у којима се испитивала примена активних угљеничних материјала као најбољи прекурсори су се показали они са влакнастом структуром, односно, високим процентом целулозе, хемицелулозе и лигнина. У овом истраживању, као потенцијални прекурсори коришћени су осушени листови урмине палме (*Phoenix dactylofera* L.) и плодови црне јове (*Alnus glutinosa* L.) (Kandić и сар. 2022; Kandić и сар. 2024). До сада су се као прекурсори користили различити делови урмине палме и постоје доступни подаци о њеним карактеристикама у литератури (Danish и сар. 2014; Abbas и сар. 2016; Alotaibi и сар. 2019). Са друге стране, плодови црне јове као прекурсори за синтезу активних угљеничних материјала до сада нису коришћени. Постоје доступни подаци о процесу карбонизације, али не и о процесу активације овог прекурсора (Mokrzycki и сар. 2020). Осим позитивних аспеката примене активних угљеничних материјала, њихова употреба има и ограничења. Током времена капацитет адсорпције се смањује и долази до засићења органском материјом. Активни угљеници се након одређеног времена у потпуности засите и тада се сматра да су „исцрпљени“ (Simpson, 2008).

Такође, на активним угљеничним материјалима се може формирати биофилм, а на формирање биофилма утичу својства активних угљеника као што је храпавост површине, порозност и специфична површина (Murshid и сар. 2023). Микроорганизми који су присутни у води се имобилишу и формирају биофилм на површини адсорбента, при чему његов ефекат може имати позитивно или негативно дејство. Биофилм може допринети побољшању метаболичке активности микроорганизама, омогућавајући бољу разградњу органских материја у системима за прераду вода (Yang и сар. 2020). У поређењу са слободно плутајућим микроорганизмима они који су унутар биофилма показују већу отпорност на промене у животној средини (Zhou и сар. 2022). Разумевање како микробне заједнице расту и метаболишу у филтерима са активним угљеницима може значајно побољшати ефикасност пречишћавања

вода, посебно у уклањању органских загађивача (Xiang и сар. 2013). Са друге стране, стварање биофилма није пожељно у случајевима пречишћавања воде која је намењена за пиће (Simões и Simões, 2013). Неселективност адсорпције активних угљеника омогућава да се се уз цијанобактерије уклањају и други микроорганизми из воде (Kandić и сар. 2024). Поред наведеног, треба обратити пажњу на могућност растварања потенцијално токсичних елемената (PTE - енг. Potential toxic elements) који могу бити присутни у овој врсти материјалима и који би тиме могли да наруше животну средину и здравље људи. Уколико активни угљенични материјали садрже тешке метале у својој структури, могуће је њихово ослобађање у животну средину током примене, а једном када се нађу у воденој средини, акумулирају у организмима (Milošковић и сар. 2022). Неки од ових елемената су веома токсични за људско здравље, чак и у малим концентрацијама. Дуготрајна изложеност тешким металима представља разлог за значајну забринутост, јер може имати штетне ефекте на имуни, нервни и ендокрини систем (Dong и сар. 2020). Због тога је процена потенцијалних здравствених ризика неопходна да би се утврдила безбедност употребе материјала и обухвата између осталог и испитивање цитотоксичности и генотоксичности материјала. Материјале је важно је испитати у реалним условима и одредити њихов степен адсорпције, како би се од њих направили биофилтери који ће се користити у третманима пречишћавања воде. Посебно, пре примене материјала у пречишћавању воде неопходно је урадити мониторинг водног тела. На основу параметара одређује се еколошки и хемијски статус река и језера и еколошки потенцијал за вештачка водна тела и значајно измењена водна тела (Dalmacija, 2012). Параметри који су кључни за одређивање еколошког статуса и потенцијала су: биолошки, физичко-хемијски и хидроморфолошки параметри. Детаљним праћењем квалитативног и квантитативног састава фитопланктона може се испратити водни статус акумулације, одредити диверзитет цијанобактерија, као и заступљеност појединачних врста у различитим сезонама, уз процену њене безбедности за употребу (за пиће, рекреацију, водоснабдевање). Међутим, нису све цијанобактерије истовремено и продуценти токсина (Ibelings и сар. 2014) и осим праћења бројности цијанобактерија, важно је испитати и присуство цијанотоксина.

Превазилажење изазова повезаних са присуством потенцијално токсичних цијанобактерија у воденим екосистемима представља кључну тему ове тезе, посебно у контексту третмана вода. У том циљу, синтетисани су и окарактерисани нови материјали са потенцијалном применом у уклањању цијанобактерија и цијанотоксина из Александровачког језера. Истраживање нових материјала доприноси ширем сагледавању проблема, узимајући у обзир улогу коју цијанобактерије играју у екосистемима, као и нова научна сазнања о употреби листа палме и плодова црне јове као прекурсора за синтезу активних угљеничних материјала.

1.1. Активни угљенични материјали

Активни угљенични материјали су угљенични материјали познати по великој специфичној површини, високом степену порозности, високе физичко-хемијске стабилности и одличне површинске реактивности (Shafeeyan и сар. 2010; Delgado и сар. 2012; Sevilla и Мокаја, 2014; Тап и сар. 2017). Ове карактеристике доприносе да се широко користе као функционални материјали за различите примене као адсорбент. Функционалне групе које се налазе на површини активних угљеничних материјала пружају аморфни карактер. Принцип добијања активних угљеничних материјала представља термичко разлагање материјала са високим садржајем угљеника у инертној атмосфери. Између осталог може се направити подела на основу гранулације, облика и величине. На основу те поделе постоје они који су прашкасти и гранулисани. Међутим, постоје и други облици који заправо највише зависе од примене

активних угљеника. Тако да осим ових наведених, постоје и у сферичном, влакнастом, цилиндричном облику (Слика 1).



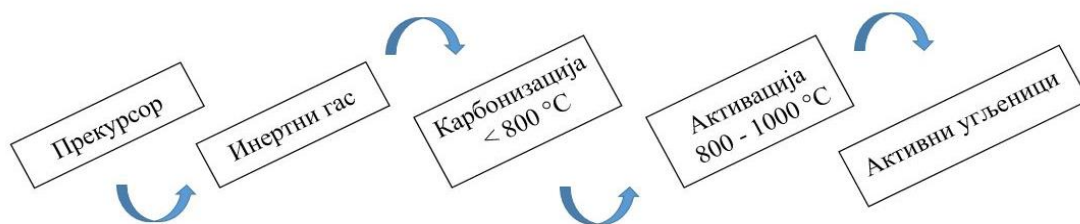
Слика 1. Облици активних угљеничних материјала: а) прашкасти, б) гранулисани, в) сферни, г) влакнасти и д) цилиндрични.

Прашкасти облик активних угљеника састоји се од финих честица које се лако могу распршити и мешати са другим супстанцама. Обично се примењује приликом пречишћавања воде и ваздуха, где је потребна велика површина за адсорпцију. Гранулисани активни угљеници се, с друге стране, одликују већом величином честица и имају релативно мању површину у поређењу са прашкастим обликом. Овај облик се често користи у системима за пречишћавање воде, гас маскама и разним индустријским процесима (Dodevski, 2018). Сферни активни угљеници произведени су на начин који му даје округли облик. Има интересантне предности због своје глатке површине, добре флуидности и високе механичке чврстоће (Ouzzine и сар. 2014). Широко се примењује у многим областима као што су пречишћавање крви, подпора катализаторима и представљају потенцијалне адсорбенте како у гасној фази, тако и у раствору (Romero-Anaya и сар. 2010).

Влакнасти активни угљеници се састоји од међусобно повезаних влакана, пружајући велику површину и одличан капацитет адсорпције. Посебне карактеристике укључују високу густину, одличан запремински капацитет, велику брзину адсорпције/десорпције и лако руковање (Lee и сар. 2014). Користе се за различите примене укључујући складиштење природног гаса, пречишћавање отпадних вода и ваздуха, одвајање гасова, пречишћавање воде, уклањање испарљивих органских једињења, адсорбовање токсичних гасова, лекове, кондензаторе, катализаторе и хлађење (Lee и сар. 2014; Hassan и сар. 2020). Цилиндрични активни угљеници имају облик цилиндара или пелета. Овај облик комбинује велику површину са добром механичком чврстоћом, што га чини погодним за примене као што су пречишћавање гаса, сорпције пара и гасова (Nikolić и Nikolić, 2010). Било да су у прашкастом, гранулисаном, сферичном, влакнастом или цилиндричном облику, активни угљеници играју кључну улогу у бројним индустријама ефикасно адсорбујући загађиваче и нечистоће.

1.1.1. Синтеза активних угљеничних материјала

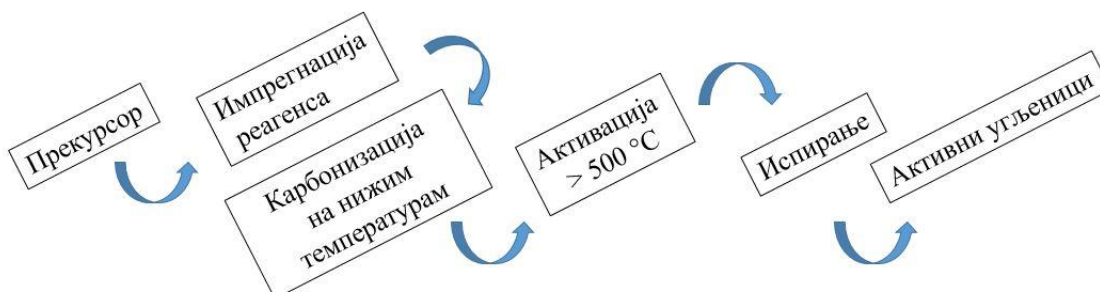
Синтеза активних угљеничних материјала укључује два процеса: карбонизацију и активацију. Веома је важно да синтетисани материјали имају поуздане карактеристике, како би се под истим условима добили материјали истих карактеристика који неће одступати. Постоје две основне методе за синтезу активних угљеничних материјала: физичка активација и хемијска активација. Физичка активација је процес који се одвија у два корака који укључује карбонизацију угљеничне супстанце на умереним температурама ($< 800\text{ }^{\circ}\text{C}$; Слика 2), а затим активације резултујућег угљеника на високим температурама ($> 800\text{ }^{\circ}\text{C}$; Слика 2).



Слика 2. Шематски приказ физичке синтезе активних угљеничних материјала.

Процесом карбонизације се за почетак постиже обогаћење садржаја угљеника у угљеничним материјалима елиминисањем неугљеничних компоненти користећи термичко разлагање. Под процесом карбонизације подразумева се термодеградација материјала у инертној атмосфери. Током процеса карбонизације, већина неугљеничних елемената као што су кисеоник, водоник и азот се елиминишу као испарљиве гасовите компоненте. На процес карбонизације утичу: температура, време задржавања и проток гаса. Од гасова се користе пара, угљен-диоксид (CO_2), азот (N_2), ваздух или комбинација ових гасова. Након процеса карбонизације следи процес активације. Процес активације има за циљ повећање запремине пора, повећање пречника пора и повећање порозности активних угљеника. Процес активације се може извршити помоћу три различите методе: физичка активација, хемијска активација и физичкохемијска активација. За процес физичке активације најчешће је у употреби CO_2 , јер је чисте природе, једноставан је за управљање и омогућава бољу контролу корака активације (Zhang и сар. 2004). Физичком модификацијом се побољшавају карактеристике активних угљеничних материјала. Заправо, сви угљенични материјали могу се претворити у активне угљенике, али карактеристике коначног производа ће бити различите у зависности од прекурсора и процеса активације.

За разлику од физичке активације, хемијска активација (Слика 3) се обично спроводи истовременим извођењем карбонизације и активације мешањем хемијских активационих агенаса као што су агенси за дехидратацију и оксидациони агенси (Gayathiri и сар. 2022). Најчешће коришћени хемијским агенси су фосфорна киселина (H_3PO_4), сумпорна киселина (H_2SO_4), азотна киселина (HNO_3), цинк хлорид (ZnCl_2), калијум хидроксид (KOH) и натријум хидроксид (NaOH) (González-García, 2018).



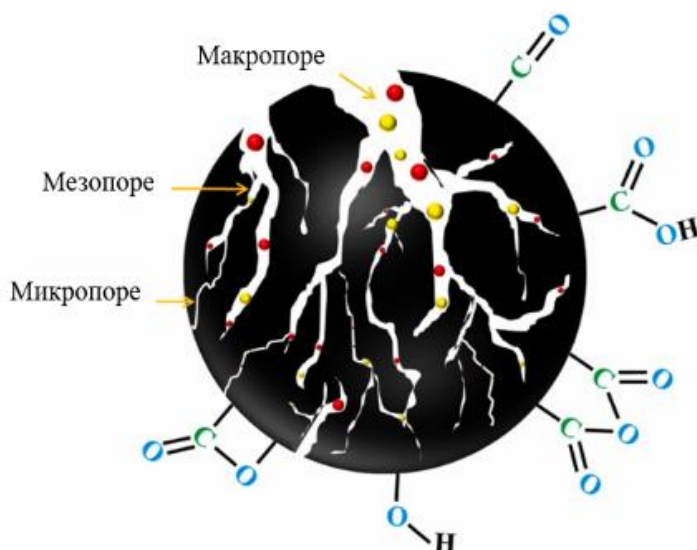
Слика 3. Шематски приказ хемијске синтезе активних угљеничних материјала.

Досадашња истраживања показала су да употребом физичке активације постижемо жељену структуру и квалитет активних угљеничних материјала. Површина, запремина пора и просечна дистрибуција величине пора активних угљеника се повећавају са временом активације и могу се контролисати променом услова синтезе (Sinha и сар. 2020). Принос након процеса карбонизације и активације је један од важних карактеристика. На принос утичу услови синтезе материјала, односно процеса активације (физичке, хемијске или комбиноване), као и састав сировог материјала (прекурсора).

1.1.2. Карактеристике активних угљеничних материјала

Карактеризација активних угљеничних материјала је кључна за разумевање његових физичких и хемијских својстава, а неколико параметара је важно за свеобухватну карактеризацију. У наставку су наведене неке од кључних карактеристика и метода које се обично користе за карактеризацију активних угљеника.

- Специфична површина: Површина активних угљеничних материјала је важан параметар који утиче на његов капацитет адсорпције. Метода која се најчешће користи за мерење површине је Brunauer-Emmett-Teller (BET) метода, која укључује адсорпцију гасног азота на ниским температурама.
- Површинска морфологија: За испитивање површинске морфологије користе се микроскопске методе, као што је Скенирајућа електронска микроскопија високе резолуције (eng. FESEM – Fieled emission microscopy).
- Дистрибуција величине пора: Активни угљенични материјали садрже различите величине пора (микропоре, мезопоре и макропоре). Расподела величине пора значајно утиче на перформансе адсорпције. Технике као што су изотерме адсорпције/десорпције азота се обично користе за одређивање расподеле величине пора. Међународна унија за чисту и примењену хемију (eng. IUAPC - International Union of Pure and Applied Chemistry) је дефинисала три класе порозних материјала: микропорозне, мезопорозне и макропорозне. Ове поделе се односе на специфичан режим величине пора присутних у структури активних угљеника, а приказане су на Слици 4. и у Табели 1.



Слика 4. Шематски приказ структуре пора и површинских функционалних група активних угљеничних материјала (Sultana и сар., 2022.)

Табела 1. Класификација пора према IUPAC (White и сар. 2009).

Тип поре	Величина	Механизам адсорпције
Микропорозност	< 2 nm	тродимензионалан
Мезопорозност	≥ 2 и ≤ 50 nm	капиларни
Макропорозност	> 50 nm	без кондензације

- Укупна запремина пора: Укупна запремина пора представља кумулативни волумен свих пора унутар активног угљеника. Одређује се применом техника адсорпције гаса, као што је ВЕТ метода или t - plot анализа.
- Хемија површине: Површинска хемија активних угљеничних материјала игра важну улогу у његовим способностима адсорпције. Технике као што су инфрацрвена спектроскопска анализа са Фуриеровом трансформацијом (FTIR) и рендгенска дифракциона анализа (XRD) могу пружити информације о функционалним групама присутним на површини активних угљеника. Утврђено је да састав активних угљеника на пример може бити 88 % C, 0.5 % H, 0.5 % N, 1.0 % S и 6 - 7 % O, са делом који представља неорганске састојке пепела (Bansal и Goyal 2005). Садржај кисеоника може да варира у зависности од врсте прекурсора, као и услова процеса активације. Различите површинске функционалне групе као што су карбоксилна, карбонилна, фенолна, кинони, лактони активних угљеничних материјала олакшавају адсорбовање загађивача из воденог раствора (Слика 4)(Sultana и сар. 2022.).
- Вредност рН и садржај пепела: Вредност рН активних угљеничних материјала представља битан параметар, јер утиче на његова својства адсорпције у одређеним применама. Садржај пепела представља неоргански садржај активних угљеника и може се одредити спаљивањем узорка и мерењем остатка.

1.1.3. Полазни материјали као прекурсор за добијање активних угљеничних материјала

Тип полазног материјала, односно прекурсора има примарну улогу у утицају на квалитет, карактеристике и својства синтетисаних активних угљеничних материјала. Генерално, постоје два главна извора производње активних угљеника, а то су пољопривредни нуспроизводи или лигноцелулозни материјали и сам угаљ (Yahya и сар. 2015). Избор одговарајућих сировина може се проценити коришћењем следећих критеријума (Rodríguez-Reinoso, 1997):

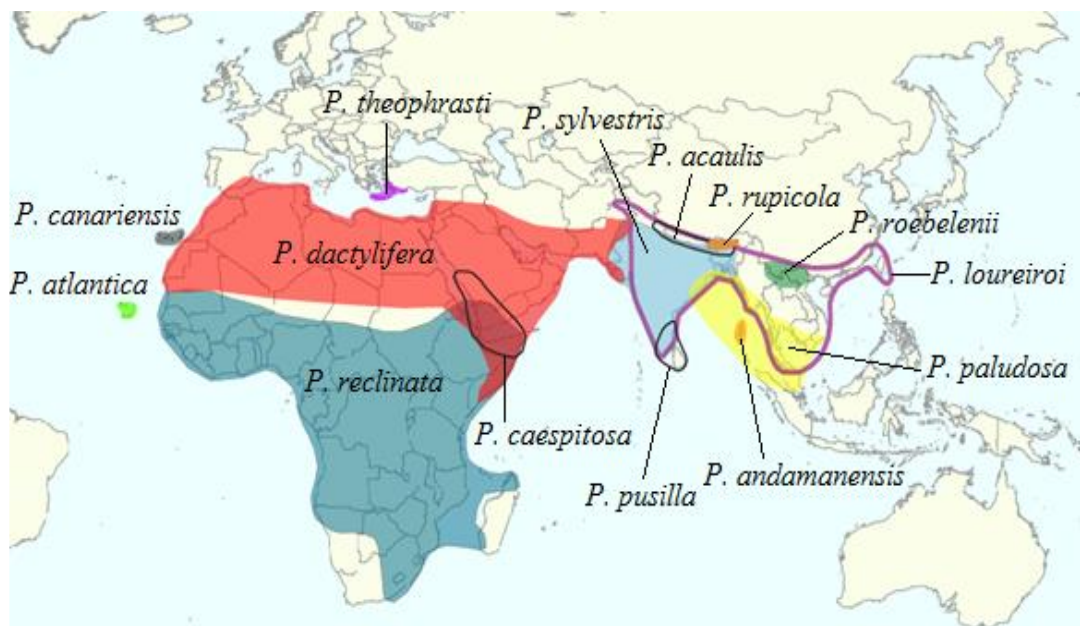
- Потенцијал за добијање висококвалитетних активних угљеничних материјала са јаким капацитетом адсорпције, великом густином и тврдоћом;
- Ограничена порозност у неорганским материјалима; за непорозне неорганске материјале, њихово присуство умањује капацитет адсорпције (Munoz-Guillena и сар. 1992);
- Доступност и цена: Као и сваки други производ, трошак сировина утиче на крајњу цену. Због тога је висока доступност сировина кључна за одржавање стабилних цена.

Активни угљенични материјали се могу припремити из готово било којег органског материјала богатог угљеником и пожељно са ниским садржајем неорганских материја (Prauchner и Rodríguez-Reinoso, 2012). Извори прекурсора су заиста разнолики, од дрвета и дрвне биомасе, преко зељастог и пољопривредног отпада, до индустријског отпада. Такође, важан аспект у производњи активних угљеника је и употреба различитих делова биљака, између осталог стабљике, љуске, коре, цветова, плодова, семена, коштица и листова (González-García, 2018). Избор прекурсора за синтезу активних угљеничних материјала зависи од њихове доступности у природи, приноса након процеса карбонизације и активације, као и ефикасности адсорпције за уклањање загађивача. Да би се пронашле обновљиве и јефтине алтернативе за производњу активних угљеника од нуспроизвода и остатака биомасе, последњих година се повећала потреба

за проналажењем одговарајућег материјала. Биоотпад постаје један од важних прекурсора. У поређењу са традиционалним активним угљеницима, једна од главних предности активних угљеничних материјала добијених од алтернативних прекурсора је њихова распрострањеност и ниска цена (Pallarés и сар. 2018). Лигноцелулозни састав доприноси коначној микроструктури и карактеристикама пора активних угљеника. Лигноцелулозна биомаса се састоји од целулозе, хемицелулозе и лигнина, при чему је лигнин препознат као примарна компонента одговорна за процес адсорпције у таквој биомаси (Nor и сар. 2013). Садржај лигноцелулозе у прекурору је важан параметар, јер умрежавање између компоненти лигноцелулозе одређује погодност материјала биомасе за добијање активних угљеничних материјала (Ukanwa и сар. 2019). Примећено је да су се прекурсор са високим садржајем лигноцелулозе показали као добри и јефтини прекурсор за производњу ове врсте материјала (Тау и сар. 2009). Процесом активације прекурсора са повећаним садржајем целулозе могу се произвести активни угљенични материјали са мешовитом величином пора, док се при активацији са повећаним садржајем лигнина стварају активни угљеници који су углавном микропорозни (Suhas и сар. 2016). Лигноцелулозни састав има важну улогу у одређивању њиховог потенцијала као прекурсора за производњу активних угљеничних материјала. Наиме, пропорције целулозе, хемицелулозе и лигнина на крају фазе карбонизације и структурно преуређење угљеника такође могу играти важну улогу у адсорпционим својствима коначне количине активних угљеника (Cagnon и сар. 2009). Развој лигноцелулозних активних угљеника би значајно унапредио корист биоотпада, пружајући одрживу и ефикасну алтернативу за његово смањење и искоришћавање обновљивих ресурса. Прекурсор који су коришћени за припрему активних угљеника материјала у овом истраживању су стабљика листа урмине палме (*Phoenix dactylifera* L.) и плодова црне јове (*Alnus glutinosa* L.) (Kandić и сар. 2022).

1.1.3.1. Урмина палма - *Phoenix dactylifera* L.

Урмина палма или датула (lat. *Phoenix dactylifera*) је типска врста која припада породици палми (fam. Агесасеае). Није познато тачно порекло палме, јер се узгаја од давних времена, али протеже се између Египта и Месопотамије. Врсте рода *Phoenix* су нативне за тропске и суботропске делове Азије и Африке (Слика 5).



Слика 5. Мапа ареала рода *Phoenix* (Gros-Balthazard, 2013).

Историјски гледано, урмина палма је била веома цењена због своје способности да расте у пустињским условима, а да при томе има јестиве плодове и доприноси одрживости заједница у овим регионима. Касније се врста проширила и на друге регије. Урмина палма се данас сматра трећом најважнијом врстом палми у глобалној пољопривредној индустрији, после кокоса и уљаних палми (Слика 6) (Akasha и сар. 2016). Сваке године неопходно је орезивати стабло, укључујући подрезивање око 10 - 30 нових листова, што доводи до значајног стварања отпада (Voutaud и сар. 2017). Дрво урмине палме годишње произведе приближно 40 kg пољопривредног остатка као биоотпада, укључујући лишће, љуске, омотаче и петељке (Sanjaу и сар. 2018). Већина отпада од урминих палми се не користи и спаљује се, што доводи до контаминације животне средине. Да би се утицај урмине палме на животну средину смањио потребно је развити технике како би се боље искористио тај биоотпад.



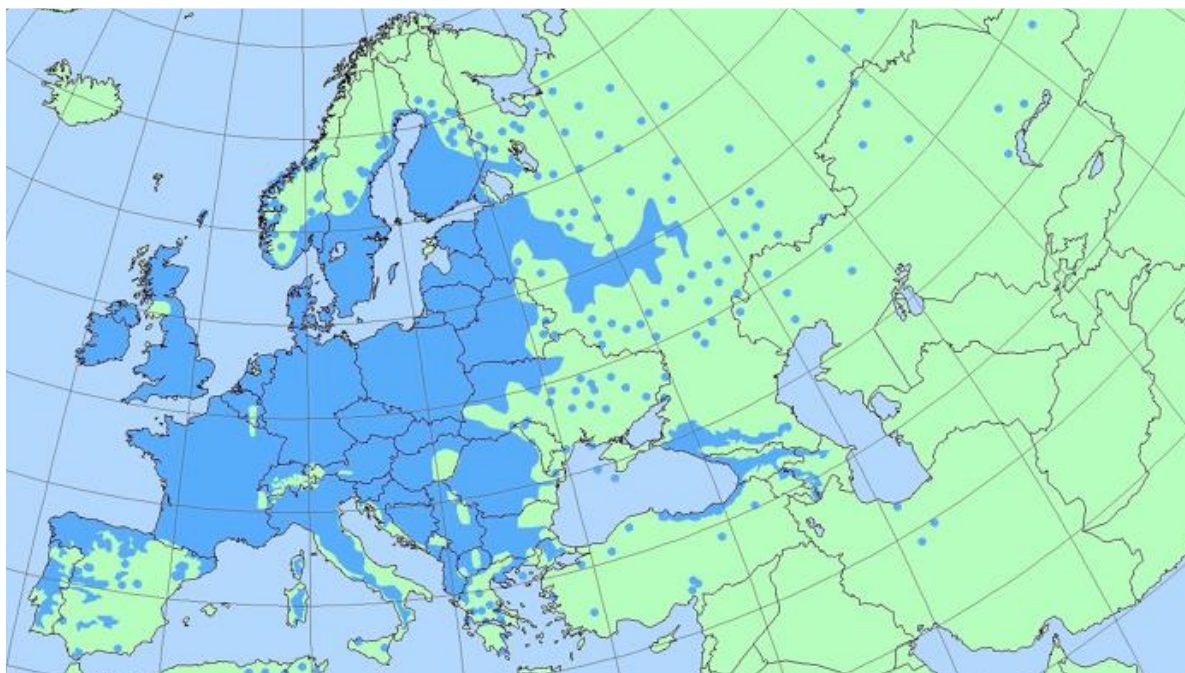
Слика 6. Урмина палма: а) *P. dactylifera*, б) стабљика палминог листа, в) попречни пресек стабла.

Потенцијал урмине палме као прекурсора за производњу активних угљеника је показан у различитим студијама (Abbas и Ahmed., 2016; Mallick и сар. 2019; Melliti и сар. 2023). Ове студије су испитивале различите методе активације, међу којима су и физичка и хемијска, и објавиле су обећавајуће резултате у погледу порозности, специфичне површине и адсорпционих својстава активних угљеника (Danish и сар. 2012; Danish и сар. 2014; Mallick и сар. 2019; Aloud и сар. 2023). У истраживањима употребе урмине палме као прекурсора за синтезу наведеног материјала најчешће је описана употреба семена (Danish и сар. 2012; Danish и сар. 2014). Осим употребе семена као прекурсора, могуће је употребити и неке друге делове, као што је лист палме, који има висок лигноцелулозни садржај (Khristova и сар. 2005; Bendahou и сар. 2007; Khiari и сар. 2010; Alotaibi и сар. 2019). Истраживања која описује лигноцелулозни састав одређених делова урмине палме представљени су у Прилогу 1.

На основу доступне наведене литературе, лист урмине палме због својих карактеристика представља погодан прекурсор за синтезу активних угљеничних материјала. Поред наведеног, избор листа урмине палме као прекурсора подржава неколико фактора међу којима су и то да је лист обновљив ресурс биомасе, као и то да се врста широко узгаја, што резултира значајним количинама биомасе доступне за коришћење. Одређен је релативно висок лигноцелулозни садржај, који је кључна компонента у производњи активних угљеника. Имајући у виду те карактеристике, различитим условима процеса активације унапређује се и његова потенцијална разноврсна примена.

1.1.3.2. Црна јова - *Alnus glutinosa* L.

Црна јова (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.) је врста листопадног дрвећа из фамилије бреза (fam. Betulaceae), распрострањена широм Европе (Слика 7. и 8), од средње Скандинавије до Медитерана, укључујући северни Мароко и Алжир (Кајба и Gracan, 2003). Такође је врста присутна у северној Турској, на Кавказу и у долинама планине Атлас (Claessens и сар. 2010).



Слика 7. Мапа ареала црне јове (Claessens и сар. 2010).

Природно станиште црне јове је на влажном тлу у близини река, бара и језера, али може расти и на сушним локацијама. Кора црне јове се користи за лечење отока, запаљења и реуматизма (Sati и сар. 2011). Плод црне јове садржи алтан за који је показано да остварује хепатопротективну активност. (Buniatian и сар. 1998). Додатно, алтан ограничава поремећај холеопоезе, има антиинфламаторни ефекат, стабилизује мембрану и обнавља физиолошки антиоксидативни систем (Buniatian и сар. 1998).



Слика 8. Црна јова, *A. glutinosa*: а) плод, б) природно станиште.

Истраживања о коришћењу црне јове као прекурсора за производњу активних угљеничних материјала су још увек у фази развоја. Тренутно постоји недостатак научне литературе која

посебно описује црну јову као прекурсор за производњу активних угљеника. Сходно томе, нема доступних радова који се директно баве овом темом. Међутим, Mokrzycki и сар. (2020) су спровели истраживања лигноцелулозног састава. У свом раду представљен је лигноцелулозни састав (Прилог 2). Такође, урађена је и карбонизација делова овог прекурсора. Карбонизација је рађена на различитим температурама (400 °C, 500 °C, 600 °C и 800 °C) при атмосфери N₂. Приказане су разлике у узорцима карбонизованог плода и стабљике плода на различитим температурама од 200 °C до 800 °C (Mokrzycki и сар. 2020). Високи проценти лигнина и целулозе чини овај прекурсор погодним за синтезу активног угљеничног материјала.

Темељно разумевање прекурсора је кључно за прилагођавање његових карактеристика, хемије површине и перформанси специфичним применама. Избор прекурсора утиче на садржај угљеника, порозност и хемију површине активних угљеника, што одређује његов капацитет адсорпције. Самим тим, добрим познавањем карактеристика прекурсора могу се синтетисати активни угљенични материјали са жељеним карактеристикама, побољшавајући њихову ефикасност у различитим применама, уз задржавање битних параметара као што су стабилност, одрживост и исплативост.

1.1.4. Примена активних угљеничних материјала

Поред поменутог састава прекурсора и процеса синтезе активних угљеничних материјала, важно је да одредимо унапред и његову потенцијалну примену да бисмо синтетисали материјал са одређеним структурним карактеристикама. Док физичке и хемијске карактеристике активних угљеника могу дати увид у потенцијално понашање материјала и његову примену, најкорисније информације се добијају из његовог испитивања на реалним узорцима.

Активни угљенични материјали су одавнина познати људима и користе се као адсорбенти различитих типова загађивача животне средине. Активним угљеницима се уклањају нежељени загађивачи из воде, али и из ваздуха. Природни загађивачи у води могу обухватати једињења настала разградњом органске материје, која углавном имају ограничен утицај на здравље људи, као и микроорганизме попут бактерија и вируса, који могу представљати озбиљан ризик по здравље (Sweetman и сар. 2017). С друге стране, вештачки загађивачи, који настају као последица људских активности, укључују токсична органска једињења (боје, пестициди, фармацеутски производи), тешке метале и нуспроизводе настале током самог процеса пречишћавања воде (Sweetman и сар. 2017).

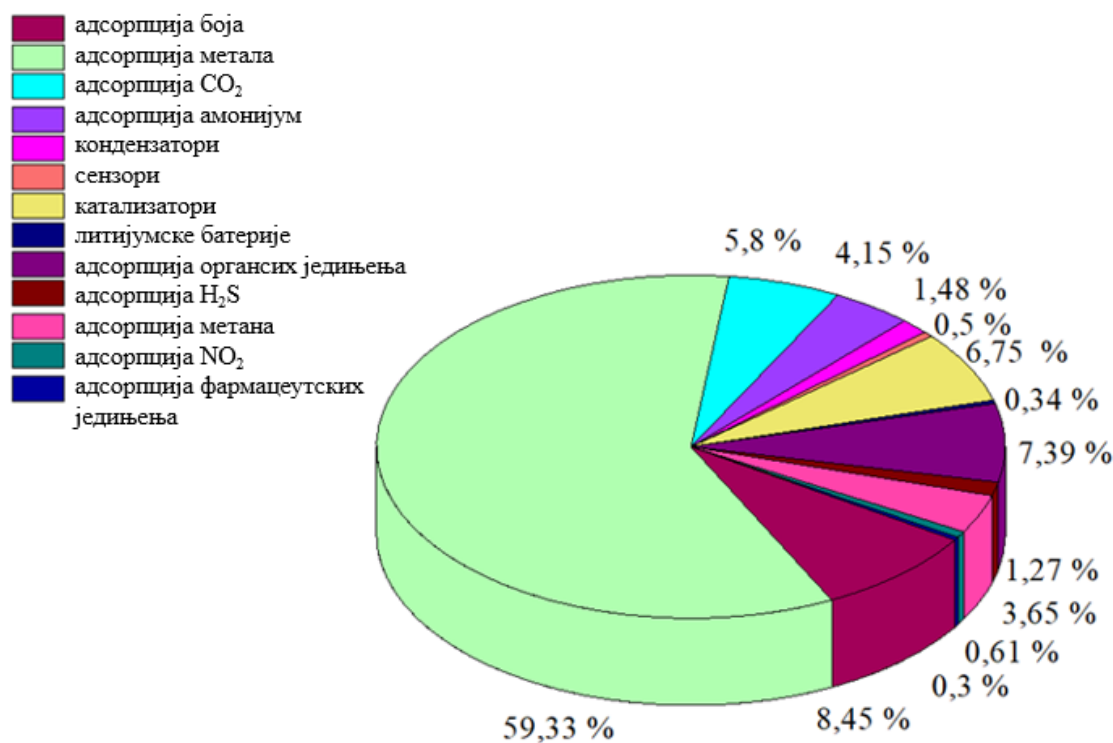
Примена углавном зависи од хемије површине и структуре пора. Најчешће се користе као носачи у току сепарације и пречишћавања воде, због своје велике површине (Danish и сар. 2012). Најранија забележена примена активних угљеничних материјала укључује њихову употребу као лека за ублажавање проблема са варењем, а чија је примена и данас настављена у уклањању превеликих доза штетних материја (Marsh и Reinoso, 2006). Јединствена структура активних угљеничних материјала пружа изузетан капацитет адсорпције и чини га корисним у широком спектру примена. У наставку су побројани неки од уобичајених начина примена активних угљеника:

- Третман воде: Активни угљеници се широко користе у процесима третмана воде за уклањање органских загађивача, пестицида, тешких метала и других нечистоћа (Erabee и Ethaib, 2018; Mariana и сар. 2021; Zieliński и сар. 2022).
- Пречишћавање ваздуха: Активни угљеници се користе у филтерима за ваздух и пречишћивачима за уклањање мириса, испарљивих органских једињења (енг. volatile organic compounds VOCs) и штетних гасова (Mobasser и сар. 2022).
- Ремедијација животне средине: Активни угљеници се користе у пројектима санације животне средине за третирање контаминираниог земљишта и подземних вода, адсорбујући

загађиваче као што су органска једињења, пестициди и индустријске хемикалије из околине (Јћа и сар. 2021; Lewoyehu, 2021).

- Примене у медицини и фармацији: Активни угљеници налазе примену у медицини и фармацеутским производима. Користе се у медицинским третманима за адсорбовање токсина у случајевима тровања или предозирања лековима. Адсорбује већину лекова, токсина и фитотоксина (нпр. амфетамини, антидепресиви, опијати, никотин, рицин, стрихнин), док уопште или слабије адсорбује алкоhole, метале, анорганске соли, киселине, базе и цијаниде (Zellner и сар. 2019). Такође, користи се у медицинским филтерима за пречишћавање ваздуха и гаса у болницама и лабораторијама.
- Складиштење енергије: Активни угљенични материјали се користи у суперкондензаторима и уређајима за складиштење енергије због своје велике површине и електричне проводљивости (Luo и сар. 2022). Може побољшати перформансе система за складиштење енергије побољшањем њихове стопе пуњења/пражњења и укупног капацитета.

Заступљености различитих примена активних угљеничних материјала су приказане на Слици 9. у периоду 1995. до 2016. године на основу Scopus базе (González-García 2018). У данашње време најзаступљенија је употреба активних угљеничних материјала у адсорпцији (нпр. тешких метала, органских једињења, боја, CO₂, амонијака, метана, фармацеутских једињења), али имају примену и као катализатори, сензори и кондензатори.



Слика 9. Најчешћа примена активних угљеничних материјала (González-García 2018).

Међутим, употреба активних угљеничних материјала наилази на потенцијалне проблеме приликом примене. У процесима адсорпције на угљеничним материјалима временом долази до зачепљења пора. То представља једно од главних ограничења активних угљеничних материјала и склоност ка засићењу органском материјом, што доводи до смањења ефикасности и пропуштања загађивача, чиме се могу угрозити квалитет воде и подстаћи поновни раст бактерија у системима дистрибуције (Simpson, 2008). Осим тога, проблем који се може јавити је

и формирање биофилма на честицама угљеничног материјала (Yu и сар. 2019). Брзина и обим формирања биофилма зависе од бројних фактора, као што су квалитет воде (нарочито концентрација супстрата који подстичу раст) и физичко хемијских карактеристика активног угљеничног материјала (Gibert и сар. 2013).

Између осталог активни угљенични материјали се користе и за уклањање токсина који се могу наћи у води. Једни од тих токсина су цијанотоксини који су продукти цијанобактерија. У литератури не постоје подаци о употреби активних угљеничних материјала за уклањање цијанобактерија, док је проблем решавања уклањања цијанотоксина помоћу активних угљеничних материјала испитиван у претходним истраживањима (НАО и сар. 2004; Walker и сар. 2014; Niamien-Ebrottie и сар. 2015; Ndlela и сар. 2018; Li и сар. 2018; Wang S. и сар. 2021).

1.2. Биофилм

Бактерије су свеприсутне у животној средини, обликују екосистеме и утичу на здравље других организама и играју критичну улогу као што је кружење хранљивих материја разлагањем органске материје и ослобађањем есенцијалних елемената (Kanikonna, 2023).

Поред планктонског облика живота, бактерије су способне да на различитим биотичким и абиотичким површинама формирају биофилм. Биофилм представља сесилну заједницу микроорганизама. Као облик сесилног живота биофилм је у природи доминантнији у односу на планктонски облик (Kalenic и сар. 2013; Fernández-Delgado и сар. 2015). У биофилму појединачне ћелије се држе заједно и урођене су у матрикс екстрацелуларне полимерне супстанце (eng. extracellular polymeric substance, EPS) који саме производе (Vraneš и Leskovar 2009; Carrel и сар. 2018). Екстрацелуларни матрикс се састоји од полисахарида, протеина, нуклеинских киселина и липида (Simpson, 2008). Ланци полисахарида су испреплетени у густу, мрежасту структуру, где хидроксилне групе на полисахаридима повећавају механичку чврстоћу међусобним интеракцијама (Sharma и сар. 2023). Биофилм може бити изграђен само од једне врсте микроорганизама или од различитих врста микроорганизама (Rotim, 2018). Иако може бити изграђен и од једне врсте, у природи се биофилм скоро увек састоји од више врсти бактерија, као и гљива, алги, протозоа и других микроорганизама, заједно са неживим остацима (Murshid и сар. 2023). Може се формирати и у разлучитим воденим срединама (језерски седименти, речна користа, морска дна, у суспендованим честицама у рекама, језерима, мору и аквафорима) и на било којој другој површини која је изложена влази (Rocha Diaz de Leon, 2021). Биофилм се са епидемиолошког и еколошког аспекта може посматрати као привремени или дугорочни резервоар и станиште за патогене (Wingender, 2011).

Бактерије које су најчешћи продуценти биофилма су: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Streptococcus viridans*, *Staphylococcus aureus* и *Enterococcus faecalis* (Sharma и сар. 2023). С обзиром на њихову распрострањеност у различитим срединама и значај за здравље људи и животиња, наведене бактерије су изузетно погодни кандидати за испитивање формирања биофилмова.

1.2.1. Биофилм на активним угљеничним материјалима

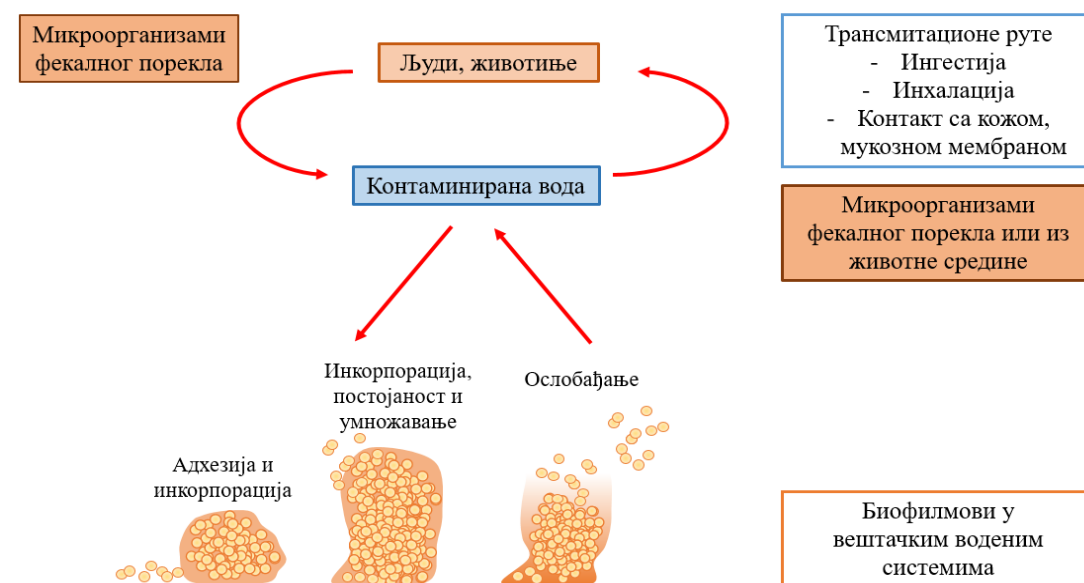
Биофилмови се развијају на практично било којој површини у природи, земљишту и воденој средини, на ткивима биљака, животиња и људи, као и у свим врстама водних система које је направио човек (Wingender, 2011). . Активни угљеници представљају добру подлогу за раст микроорганизама (Combarros и сар. 2014). Захваљујући благом електро - позитивном наелектрисању, активни угљенични материјали са великом површином могу физички да адсорбују електро - негативно наелектрисане честице, као и растворљиве органске материје (Simpson, 2008). Временом, преуређење или разбијање структура које подсећају на биофилм,

могу се изложити веће површине за адсорпцију нових ћелија. На формирање и развој биофилма утичу многобројни фактори, као што су специфични бактеријски сој, својства површине на којој се формира, еколошки параметри, попут рН вредности, количине хранљивих састојака и температуре (Cvetković, 2021). Од ових фактора, физичка/хемијска својства површине, храпавост површине, структура пора, специфична површина и типови материјала носача играју одлучујућу улогу у формирању биофилма (Murshid и сар. 2023). Особине и концентрације доступног извора угљеника могу утицати на структуру микробне заједнице у води и биофилму (Liao и сар. 2013). Угљенични материјали могу се заситити органском материјом, што временом доводи до засићења пора и до смањења капацитета адсорбције. Услед тога, након одређеног времена материјал у потпуности постаје засићен органском материјом и/или микроорганизмима (Simpson, 2008). Присуство биофилма на површинама активних угљеничних материјала може имати и позитивне и негативне ефекте на њихову ефикасност.

1.2.2. Утицај биофилма на пречишћавање воде

Иако биофилм може имати важну улогу у пречишћавању воде, омогућавајући успешнију разградњу нагомиланих органских материја у системима за пречишћавање воде, такође има и неколико негативних утицаја којима треба посветити пажњу. Формирање биофилма на површинама материјала може довести до зачепљења и повећања трошкова одржавања, као и до смањене ефикасности протока воде. Материјали изложени воденим системима се брзо колонизују и у року од неколико недеља достижу максималан број ћелија, али права равнотежа никада није постигнута пошто састав врста и густина могу да варирају у зависности од старости биофилма, материјала који служи као супстрат, доступности хранљивих материја, хидрауличких услови и температуре воде (Wingender, 2011). Улога биофилма као еколошких резервоара хигијенски релевантних микроорганизама, и као извора контаминације и инфекције у системима воде за пиће приказано је на Слици 10.

Осим тога, може да садржи патогене микроорганизме, угрожавајући безбедност воде и доприносећи ширењу бактерија отпорних на антибиотике. Међу важним начинима преношења инфекција СЗО наводи ингестију контаминиране воде, удисање аеросола који садрже патогене или инфекција контактом коже, слузокоже, очију и ушију са контаминираним водом (СЗО, 2006). Патогени, чак и присутни испод границе детекције у води, могу да се вежу за биофилмове који тада могу деловати као њихов еколошки резервоар и представљати потенцијални извор контаминације воде (Wingender и Flemming, 2011). Важни бактеријски патогени попут *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Vibrio cholerae*, *E. coli* и *Helicobacter pylori* преносе се фекално контаминираним водом, а узрокују гастроинтестиналне болести и могу формирати биофилм (Wingender, 2011). Формирање биофилма се може ограничити помоћу неких метода као што су: минимизирање концентрације органске материје која улази у систем, хемијски и биолошки стабилан материјал, спречавање стагнације воде и акумулације седимента у систему и одржавање довољног нивоа дезинфекционог средства у дистрибутивном систему (Simões и Simões, 2013). Поред наведеног, међу превентивним стратегијама је и проналазак материјала који не промовише или чак може да потисне стварање биофилма (Simões и Simões, 2013).



Слика 10. Улога биофилма у системима воде за пиће (Wingender и Flemming, 2011).

1.3. Мониторинг водних тела

Загађујуће материје доспевањем у водени екосистем могу да проузрокују разноврсне физичке, хемијске, али и биолошке промене у њему. У садашње време један од најизазовнијих еколошких проблема са којима се суочавају површинска водна тела је еутрофикација (Bhagowati и Ahamad, 2019). Еутрофикација се односи на обогаћивање нутријентима у воденим екосистемима и користи се за описивање њиховог трофичког статуса. Недостатак прилива свеже воде, као и недостатак одлива, доводи до повећања у нутритивном статусу језера. Сама језера се могу класификовати као олиготрофна (ниска количина храњивих материја, слаба продуктивност, погодна за пиће), мезотрофна (умерена количина нутријената, повећана продуктивност, први знаци проблема са квалитетом воде), еутрофна (висока количина нутријената, велика продуктивност, са погоршањем квалитета воде) или хипертрофна (прекомерне количине нутријената, при чему раст биљака зависи од физичких фактора) (Bhagowati и Ahamad, 2019).

Мониторингом су обухваћене физичко - хемијске карактеристике воде (површинске, подземне, за пиће). Закључци о квалитету воде се доносе на основу детекције физичко - хемијских карактеристика и праћења промена садржаја услед измењених природних услова, сезонских варијација и антропогених активности (Dalmacija, 2012). Ефикасан мониторинг представља основу за одлучивање да ли је вода из водног тела погодна за употребу у различите сврхе, као што је употреба за пиће, рекреацију или наводњавање пољопривредних површина. Ниво загађујућих материја је регулисан различитим директивама и прописима у зависности од њене намене. У Републици Србији постоји Правилник о параметрима еколошког и хемијског статуса површинских вода и параметрима хемијског и квантитативног статуса подземних вода (Сл. гласник РС, бр 74/2011). Према наведеном правилинику, за водна тела која нису значајно измењена одређује се еколошки статус, а за она која јесу одређује се еколошки потенцијал. Границе које је неопходно испунити се разликују у зависности од водног тела. На основу ових параметара водна тела сврставамо у пет класа.

Нутријенти у језерску воду најчешће доспевају из пољопривредног отпада богатог ђубривима која садрже азот, фосфор и калијум (NPK ђубрива), при чему је фосфор главни фактор који утиче на раст алги и еутрофикацију у језерској води (Vasistha и Ganguly, 2020). Азот може да

доспе у водену средину у различитим формама (N_2 , NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- , у облику органских једињења у раствореном облику или као честице). Порекло нитрата у води је последица пољопривредних активности, а фитопланктон касније може да усвоји нитрате из воде (Dalmacija, 2012). Нитрити воде порекло од нетретираног отпада и могу имати веома негативан утицај на здравље људи, односно, изазивају метхемоглобинемију (Katabami и сар. 2016). Амонијум (NH_4-N) је природно присутан у води у малој количини (0.2 mg/L), али у случају да је та вредност изнад 1 mg/L то указује на потенцијално присуство фекалног или индустријског загађења (Dalmacija, 2012). Ортофосфати (PO_4-P) и укупни растворени фосфор (P) су значајни за праћење еутрофикације, јер високе концентрације фосфата подстичу прекомерни раст алги, што нарушава квалитет воде. Међутим, неке врсте цијанобактерија, као *R. raciborskii* су развиле способност да расту чак и у условима ниске количине фосфора, чиме стичу предност у односу на друге врсте (Ђорђевић и Simić, 2014).

Када је реч о фитопланктону као биолошком параметру, узима се у обзир заступљеност цијанобактерија у укупној биомаси фитопланктона, абунданца фитопланктона, као и биомаса фитопланктона (Табела 2).

Табела 2. Биолошки параметри за одређивање класе еколошког потенцијала вештачког водног тела.

БИОЛОШКИ ПАРАМЕТРИ ОЦЕНЕ ЕКОЛОШКОГ ПОТЕНЦИЈАЛА				
Параметар	Јединица	Границе између класа еколошког потенцијала		
		II-III	III-IV	IV-V
Фитопланктон				
Цијанобактерије	%	5	10	20
Абунданца	ћел/mL	5 x 10³	15 x 10³	25 x 10³
Биомаса фитопланктона, хлорофил а	µg/L	50	100	250

Заступљеност цијанобактерија се прати како би се утврдио њихов удео у укупној биомаси фитопланктона, због потенцијалне продукције цијанотоксина. Абунданца фитопланктона показује укупан број фитопланктонских ћелија присутних у води. Виша абунданца указује на појачан процес еутрофикације, чиме долази до смањења квалитета воде. С друге стране, биомаса преко анализе хлорофила-а даје информације о укупној количини органске материје коју производи фитопланктон.

Према ауторима Chorus и Cavalieri (2000), стратегија мониторинга слатководних цијанобактерија је базирана на следећим смерницама:

- Одређивање капацитета екосистема за развој цијанобактерија;
- Визуелна инспекција у циљу детекције масовног развоја цијанобактерија;
- Квалитативне и квантитативне анализе биомасе као основе за процену степена здравствене угрожености;
- Квалитативне и квантитативне анализе присутних токсина.

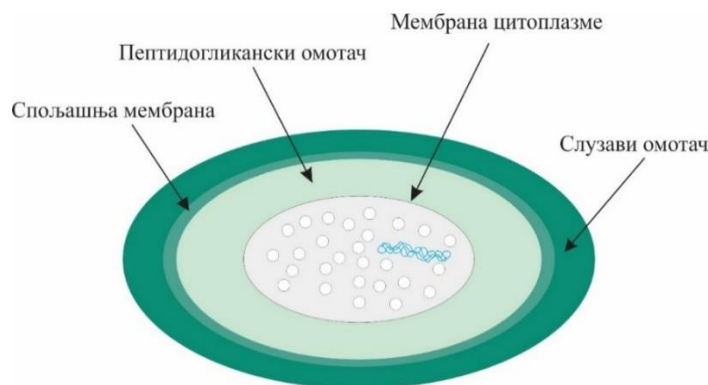
У случају повећане количине цијанобактерија, мониторингом можемо да спречимо и појаву цијанотоксина у води. Међутим, не постоји корелација између биомасе цијанобактерија и концентрације њихових токсина. У случају мониторинга токсичних цијанобактеријских цветања, неопходна је идентификација циљних врста, испитивање присуства цијанотоксина са циљем да се разуме популациона динамика, као и анализа срединских и метеоролошких промена како би могла да се направе адекватна предвиђања (Jovanović, 2020).

У води је могуће и присуство потенцијално токсичних елемената (*PTE*; енг. potential toxic elements). Један од главних разлога за бригу који су повезани са присуством *PTE* је да када се једном нађу у воденом екосистему, они се могу распршити и акумулирати у различитим компонентама водене биоте, укључујући флору и фауну (Milošковић и сар. 2022). Неки од ових елемената су веома токсични за људско здравље, чак и у малим концентрацијама. Међутим, у зависности од типа водног тела и намене воде, дозвољене концентрације тих елемената варирају. У Прилогу 3. су приказане дозвољене концентрације према „Правилнику о хигијенској исправности воде за пиће Републике Србије“, „Правилнику о дозвољеним количинама опасних и штетних материја у земљишту и води за наводњавање и начинима њиховог испитивања Републике Србије“ и правилнику СЗО. Међу *PTE* су сврстани и тешки метали који могу на различите начине доспети у животну средину, било природним путем, било антропогеним утицајем. Један од тих начина је и само пречишћавање вода, уколико материјали који се користе за пречишћавање испуштају у воду *PTE*. Људи могу бити изложени чак и малим концентрацијама *PTE* које на дужи време могу бити изузетно штетне. Најчешћи путеви изложености могу бити или путем ингестије (Kandić и сар. 2023а) или преко дермалног контакта. Важно је да се одреди процена здравственог ризика, будући да концентрација тих елемената појединачно може бити унутар дозвољених граница, али да кумулативно има негативан утицај на здравље људи (Kandić и сар. 2023а).

Када се детаљним мониторингом установи стање екосистема, укључујући физичке, хемијске и биолошке параметре, укључујући цијанобактерије, важно је изабрати адекватан третман за њихово уклањање. Мониторинг не само да открива тренд бројности цијанобактерија и концентрације токсина, већ и омогућава идентификацију кључних фактора који доприносе њиховом цветању, као што су повећане концентрације нутријената, температуре и стагнација воде. До сада је испитан велики број метода за уклањање цијанобактерија и цијанотоксина, које укључују физичке методе као што су филтрација и седиментација (Нао и сар. 2004), хемијске третмане (Wang S. и сар. 2021; Važić, 2020), као и биолошке приступе (Ndlela и сар. 2018). За високе концентрације микроцистина, адсорптивни материјали, попут активних угљеничних материјала, показују се као ефикасни, док се у случајевима мање загађености примењују превентивне мере, попут смањења уноса нутријената и побољшања циркулације воде (Wang Y. и сар. 2021). Комбинација више метода често даје најбоље резултате, уклањајући и ћелије и токсине, уз очување квалитета воде.

1.4. Цијанобактерије

Цијанобактерије се често сматрају једним од најстаријих фототрофних организми на Земљи. Имају дугу еволуциону историју (~3,5 милијарди година) која им је омогућила да развију веома различите и ефикасне екофизиолошке адаптације и стратегије у различитим животним срединама (Paerl и Paul 2012). Претпоставља се да је кисеоник који су испуштале у атмосферу у преткамбријској ери био претеча озонског омотача (Merel и сар. 2013). У данашње време оне су главни саставни чиниоци у биолошком циклусу угљеника, азота и неких минерала (Whitton и сар. 2012). Цијанобактерије су одговорне за четвртину глобалне фиксације угљеника, а могу повећати капацитет фиксације угљеника тако што усвајају и складиште CO_2 , стабилизујући или чак смањујући нивое CO_2 у атмосфери (Durall и Lindblad, 2015). Веома су широко распрострањене у воденим екосистемима међу којима су слатке, бракичне и морске воде. У воденим срединама, цијанобактерије се могу појавити у различитим стаништима: суспендоване у диспергованом облику или као агрегати у води, на површини воде, на доњем седименту или причвршћене за стене и седimente обале, као и на биљкама (Codd и сар. 2016). Цијанобактерије имају способност да складиште хранљиве материје које им омогућавају раст у неповољним условима, односно када је ограничена доступност хранљивих материја. За цијанобактерије је познато да се њихов ћелијски зид углавном састоји од протеинских молекула такозваних S - слојева и различитих структура угљених хидрата, у зависности од врсте цијанобактерија. S - слојеви су дводимензионални кристални низови формирани од једне врсте (глико)протеина који покрива целу површину ћелије (Hoiczyk и Hansel, 2000). Састав ћелијског зида је са танким слојем пептидогликана и спољашњом мембраном липополисахарида (Слика 11.).

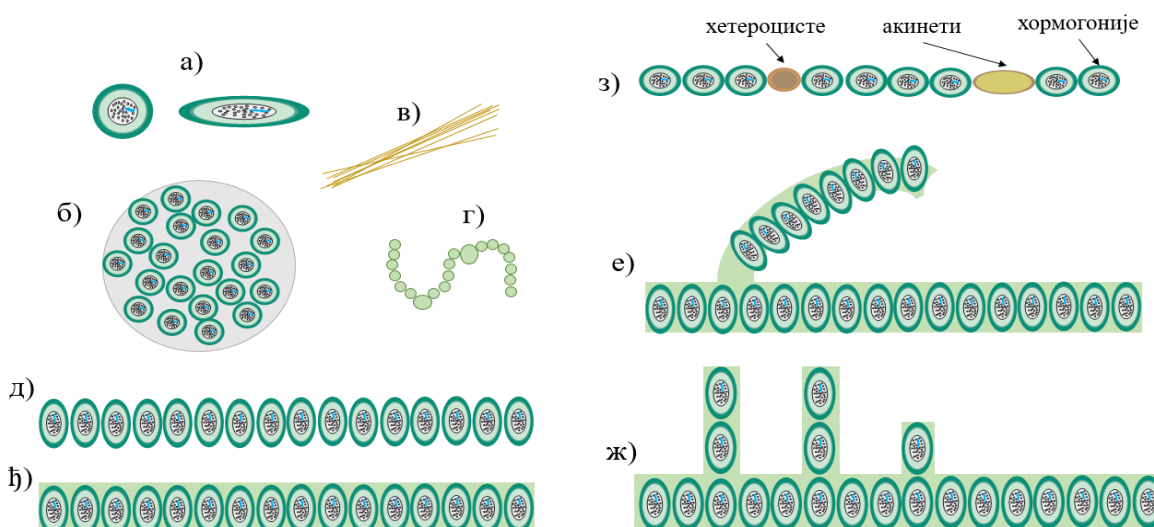


Слика 11. Пресек ћелије цијанобактерије.

Цијанобактерије су морфолошки разноврсна група, где спадају једноћелијске, колонијске и вишећелијске филаментозне форме. Једноћелијске цијанобактерије имају сферичне, елипсоидне или цилиндричне ћелије које се могу агрегирати у неправилне или правилне колоније повезане заједно слузним матриксом, који се излучује током раста колоније (Слика 12) (Mehdizadeh Allaf и Peerhossaini, 2022). Код филаментозних цијанобактерија, ћелије остају прилепљене једна за другу и формирају ланац познат као „трихом“ који може бити обавијен мукозним омотачем (Uyeda и сар. 2016, Vidal и сар. 2021). Када се трихоми сломе или фрагментирају унутар филамента, формирају се лажне гране или „псеудогране“.

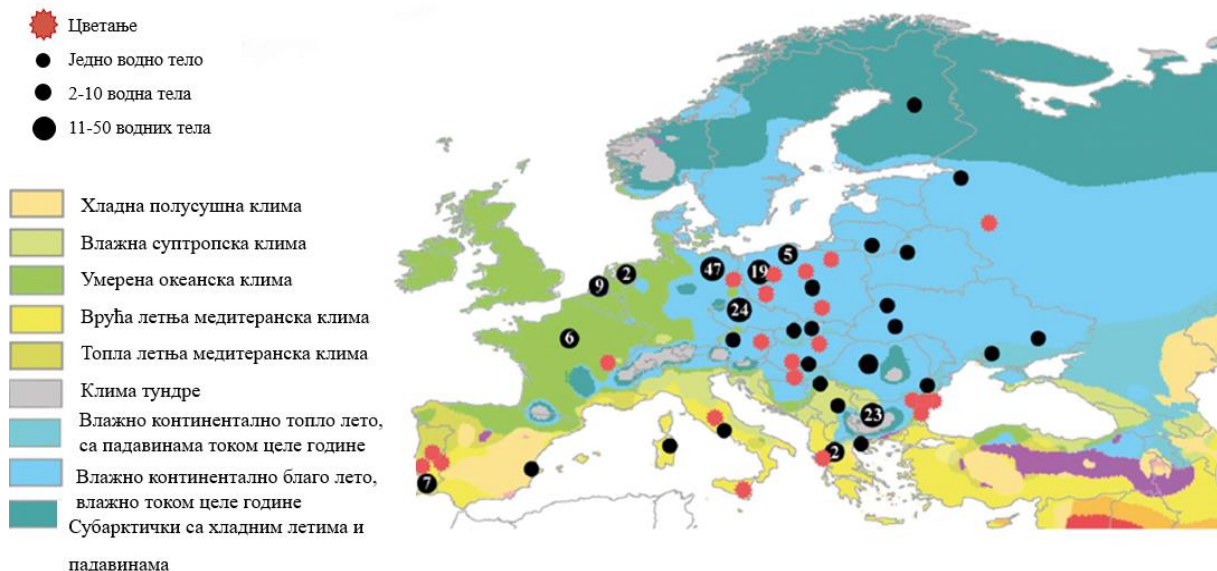
Поред вегетативних ћелија које су прокариотске, код трихалних врста постоје и специфични типови ћелија, а то су хетероцисте и акинети које настају диференцирањем вегетативних ћелија (Singh и Montgomery 2011, Cvijan, 2013, Dvořák и сар 2015.). Многобројне цијанобактерије имају способност фиксације азота, посебно врсте родова *Nostoc*, *Anabaena*, *Dolichospermum*, *Aphanizomenon* и *Raphidiopsis*. Показано је и да хетероцисте имају улогу у фиксацији азота. Појава хетероциста је најчешће повезана са недостатком азотних соли на станишту које

насељавају (Свијан, 2013). Акинети су ћелије које личе на споре и могу се формирати под неповољним условима као што су суша или ниске температуре (Кутар и сар 2010).



Слика 12. Различити облици цијанобактерија: а) сферичне и елипсоидне једноћелијске, б) колонијалне, в) филаментозна, г) спирална, д) трихом без омотача, е) трихом са омотачем, ж) лажно гранање, з) право гранање и з) различити типови ћелија филаментозних цијанобактерија (Mehdizadeh Allaf и Peerhossaini, 2022).

Показало се да еутрофикација умерених слатководних језера заједно са повећаном температуром воде на површини језера, доводи до тога да се фаворизује географско померање термофилних врста цијанобактерија са нижих на више географске ширине (Scholz и сар., 2017). *Raphidiopsis raciborskii*, *Sphaerospermopsis aphanizomenoides* и *Chrysosporum bergii*, који су некада били ограничени на своја домаћа станишта (тропске и субтропске регије), недавно су проширили своје присуство на језера умерене климе у Европи, означавајући их као алохтоне врсте (Šuikaitė и сар. 2023) (Слика 13.). И њихова дистрибуција се све више повећава. Ова промена наглашава прилагодљивост наведених цијанобактерија и наглашава потребу за сталним праћењем и стратегијама управљања како би се решио њихов утицај на локалне екосистеме.



Слика 13. Дистрибуција *Raphidiopsis raciborskii* у Европи (Šuikaitė и сар. 2023).

Цијанобактерије могу да учествују у фиксацији угљеника, а тиме и производњи органских материја претварањем CO_2 у биомасу и производњом угљених хидрата, масних киселина и алкохола као обновљивих извора биогорива (Quintana и сар. 2011). Такође, могу се користити као агенси за биоремедијацију у елиминацији токсичног отпада са контаминираних локација (Gupta и сар. 2012). Способне су да разграде или детоксикују гасовите, чврсте и течне полутанте као што су на пример тешки метали, фосфор, нитрати, итд. (Hall и сар. 1995; Flores и Herrero 1995; Ono и Cuello 2007; Roeselers и сар. 2008). Нека изолована једињења цијанобактерија имају висок потенцијал за развој лекова. Наведено је да преко 50 % цијанобактерија које се налазе у мору имају антиканцерски ефекат (Вајраи и сар. 2018). У прехранбеној, козметичкој и индустрији лекова користе се пигменти фикоцијанин и фикоеретрин, као замена за синтетичке пигменте (Cohen, 1997). У пољопривреди, цијанобактерије се користе као био - ђубриво, односно као доступни извори азота, посебно у узгоју пиринча у многим азијским земљама (Prasanna и сар. 2013; Singh и сар. 2016).

Цијанобактерије садрже многе есенцијалне хранљиве материје укључујући протеине, аминокиселине, витамине, минерале, есенцијалне масне киселине који се користе као дијететски суплементи (Henrikson, 2010). Све више родова као што су *Aphanizomenon* и *Spirulina* (потенцијално укључујући *Arthrospira*) се промовишу као додаци здравој храни, иако цијанобактерије имају потенцијал за производњу токсина (Metcalf и сар. 2021). Међутим, поред наведених повољних карактеристика, цијанобактерије могу да синтетишу и цијанотоксине који су биолошки активна једињења, као секундарне метаболите чија ће структура и утицај на здравље људи бити описани у следећем поглављу.

1.4.1. Цијанотоксини

Цијанотоксини су веома разноврсна група једињења која се синтетишу и налазе у ћелијама цијанобактерија. Ослобађање ових токсина у воду током „цветања“ се дешава углавном током ћелијске смрти и лизе. Међутим, неке врсте цијанобактерија су способне да отпуштају токсине (екстрацелуларне) у воду без лизе ћелије или смрти. Појава цијанотоксина у води зависи од тога у којој мери услови у водном телу фаворизују пролиферацију цијанобактерија (Chorus и McKeown, 2021). На производњу цијанотоксина између осталог утичу и нутријенти, температура, рН, светлост и друго. Једна од могућих улога цијанотоксина је и одбрамбени механизам цијанобактерија. Врсте које продукују токсине имају и већу шансу за опстанак у односу на оне врсте које нису продуценти. Zhan и сар. 2023 у раду су пријавили две главне поделе цијанотоксина на основу њихове улоге: еколошке и физиолошке. Еколошке улоге су сигнални молекули, учествовање у програмираној ћелијској смрти, интраспецијска конкуренција, конкуренција за фосфором и заштита од предатора. Физиолошке улоге обухватају регулацију гвожђа, одржавање равнотеже натријума, тилакоидни структурни носач, регулација фотосинтезе и метаболизам азота. Цијанотоксини се могу поделити на основу два главна критеријума: механизма њиховог деловања и њихове хемијске структуре.

Према утицају на здравље људи цијанотоксини су класификовани као хепатотоксини (микроцистини, нодуларини и цилиндроспермопсин), цитотоксини (цилиндроспермопсин), неуротоксини (анатоксин, хомоанатоксин, сакситоксин и β -метиламино-L-аланин) и дерматоксини (лингбиатоксин, аплисидијатоксин и липополисахариди – саставни део ћелијског зида цијанобактерија) (Svirčev и сар., 2019). Главни путеви изложености човека цијанотоксинима су (Drobac и сар. 2013):

- Хронично уношење контаминираних вода за пиће;
- Дермалним путем, током рекреативних активности као што су пливање, вожња кануом или купање, уз удисање или контакт путем носне слузокоже;

- Исхрана воденим организмима са акумулираним цијанотоксинима у својим ткивима;
- Уношење контаминираниог поврћа и воћа наводњаваног водом која садржи цијанотоксине;
- Конзумирање суплемената на бази цијанобактерија, без контроле нивоа цијанотоксина;
- Специфичан начин излагања - интравенозно током хемодијализе.

Цијанотоксини који претежно остају у ћелијама су микроцистин и нодуларин (Buratti и сар. 2017; Marinović и сар. 2021). Са друге стране, цилиндроспермопсин се ослобађа у спољашњу средину и та концентрација може бити већа од унутарћелијске концентрације (Buratti и сар. 2017; Marinović и сар. 2021). За анатоксин и сакситоксин се показало да се могу отпуштати у спољашњу средину (Buratti и сар. 2017; Marinović и сар. 2021). Поред наведеног, за микроцистин је установљено да је отпоран на високе температуре и да је потентан и након термичке обраде (Marinović и сар. 2021). У Табели 3 су праказани цијанотоксини, молекулском масом и дејством на људско здравље.

Табела 3. Цијанотоксини, хемијска структура, молекулска маса, дејство и таксони који их продукују.

Цијанотоксин	Хемијска структура	Молекулска маса (Abbas и сар. 2020)	Дејство (Humbert, 2009)	Таксони који их најчешће продукују (Marinović и сар. 2021)
Анатоксин	Бициклични алкалоид	165 Da	Неуротоксин	<i>Anabaena</i> , <i>Aphanizomenon</i> , <i>Arthrospira</i> , <i>Cuspidothrix</i> (syn. <i>Anabaena</i> и <i>Aphanizomenon</i>), <i>Cylindrospermum</i> , <i>Dolichospermum</i> , <i>Kamptonema</i> (syn. <i>Oscillatoria</i>), <i>Microcystis</i> , <i>Oscillatoria</i> , <i>Planktothrix</i> , <i>Raphidiopsis</i> (syn. <i>Cylindrospermopsis</i>), <i>Nostoc</i> , <i>Phormidium</i>
Цилиндроспермопсин	Трициклични гуандински алкалоид	415 Da	Хепатотоксин	<i>Aphanizomenon</i> , <i>Chrysosporum</i> , <i>Dolichospermum</i> , <i>Lyngbya</i> , <i>Microseira</i> , <i>Oscillatoria</i> , <i>Raphidiopsis</i> , <i>Umezakia</i> и <i>Hormosilla</i>
Микроцистин	Циклични пептид	995 Da	Хепатотоксин, изазивач канцера	<i>Aphanizomenon</i> , <i>Aphanocapsa</i> , <i>Cyanobium</i> , <i>Dolichospermum</i> , <i>Fischerella</i> , <i>Gloeotrichia</i> , <i>Hapalosiphon</i> , <i>Leptolyngbya</i> , <i>Limnothrix</i> , <i>Merismopedia</i> , <i>Microcystis</i> , <i>Planktothrix</i> , <i>Pseudanabaena</i> , <i>Synechocystis</i> , <i>Woronochinia</i> , <i>Kamptonema</i> , <i>Nostoc</i> , <i>Synechococcus</i> , <i>Roseofilum</i> и <i>Hapalosiphon</i>
Нодуларин	Циклични пептид	824 Da	Хепатотоксин	<i>Nodularia spumigena</i> , <i>Iningainema pulvinus</i> и <i>Nodularia sphaerocarpa</i> <i>Aphanizomenon</i> , <i>Cylindrospermum</i> , <i>Dolichospermum</i> , <i>Geiterinema</i> , <i>Microseira</i> (syn. <i>Lyngbya</i> и <i>Plectonema</i>), <i>Phormidium</i> , <i>Raphidiopsis</i> , <i>Scytonema</i> , <i>Alexandrium</i> , <i>Gymnodinium</i> , <i>Gonyaulax</i> и <i>Pyrodinium</i>
Сакситоксин	Алкалоид	299 Da	Неуротоксин	

С обзиром на штетно дејство форме микроцистина - MC-LR, Међународна агенција за истраживање рака (International Agency for Research on Cancer - IARC) је овај цијанотоксин класификовала као канцерогени токсин за људе (Група 2Б) (Sorlini и сар., 2020). Једна врста цијанобактерија може да продукује и више од једне врсте цијанотоксина, док једну врсту цијанотоксина може продуковати више врста цијанобактерија (Merel и сар. 2013). Код неких цијанобактерија није откривена продукција токсина, што може значити да те врсте не продукују цијанотоксине, или да ти токсини још увек нису регистровани. У Табели 4. су приказани таксони код којих је регистрована детекција цијанотоксина, као и њихова станишта. Највећи број таксона који продукују цијанотоксине је присутан у слатководним или у бракичним водама. Најчешће идентификовани цијанотоксини у досадашњим истраживањима су микроцистини (63 %), затим следе цилиндроспермопсин (10 %), анатоксин (9 %), сакситоксин (8 %), нодуларин (2 %) и остали који нису идентификовани (8 %) (Svirčev и сар. 2019).

Табела 4. Таксони код којих је регистрована продукција цијанотоксина и њихова станишта (Niamien-Ebrottie и сар. 2015; Blahova и сар. 2021).

Цијанотоксин	Таксон	Станиште
Анатоксин-а	<i>Anabaena, Oscillatoria, Planktothrix</i>	С, Б
	<i>Micocystis, Phormidium</i>	С
	<i>Cylindrospermum, Aphanizomenon</i>	С, Б
Сакситоксин	<i>Anabaena</i>	С
	<i>Aphanizomenon, Dolichospermum, Anabaena, Lyngbya,</i>	С
	<i>Cylindrospermopsis</i>	С, Б
Микроцистин	<i>Micocystis, Anabaena</i>	С, Б
	<i>Oscillatoria, Planktothrix, Nostoc</i>	С, Б
	<i>Anabaenopsis</i>	С
Нодуларин	<i>Hapalosiphon</i>	Т
	<i>Nodularia</i>	С, Б
Цилиндроспермопсин	Цијанобактеријски симбионт	М
	<i>Cylindrospermopsis, Raphidiopsis</i>	С
	<i>Aphanizomenon, Dolichospermum</i>	С
LPS	<i>Umezakia</i>	Б
	<i>Micocystis, Oscillatoria</i>	С
Линбиатоксин	<i>Lyngbya</i>	М
Аплисиатоксин	<i>Lyngbya, Oscillatoria</i>	М
	<i>Schizothrix</i>	М

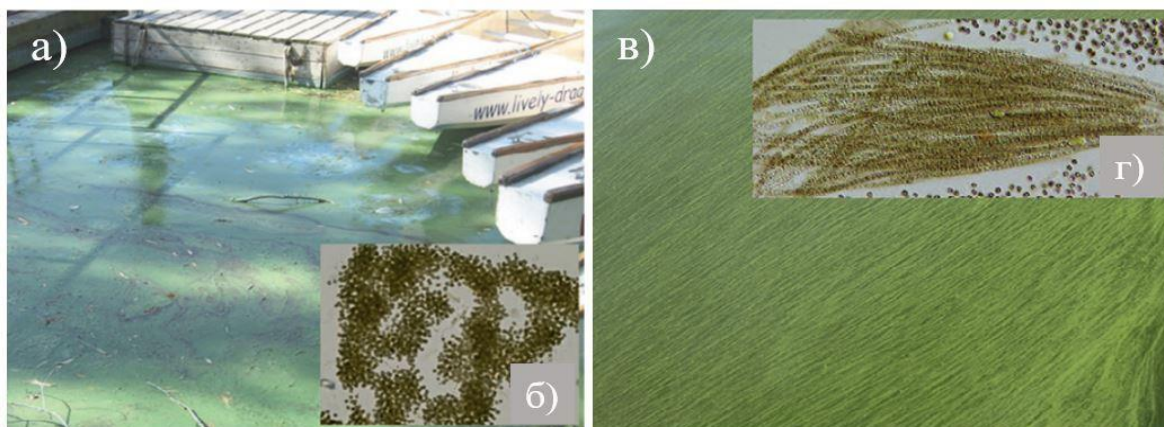
С – слатководне, Б – бракичне, М – моринске, Т – терестријалне

Успостављање међународних и националних стандарда за мониторинг већег броја познатих цијанотоксина, посебно у води за пиће, као и за праћење температуре и термалног режима испитиваних водних тела, постаје све значајније због растућег утицаја климатских промена (Blagojević Ponjavić, 2021). СЗО (2020) дала је смернице и референтне вредности најзаступљенијих цијанотоксина (Прилог 4). Дозвољене концентрације цијанотоксина зависе од типа токсина, у које сврхе се користи вода, као и времену изложености.

1.4.2. „Цветање цијанобактерија”

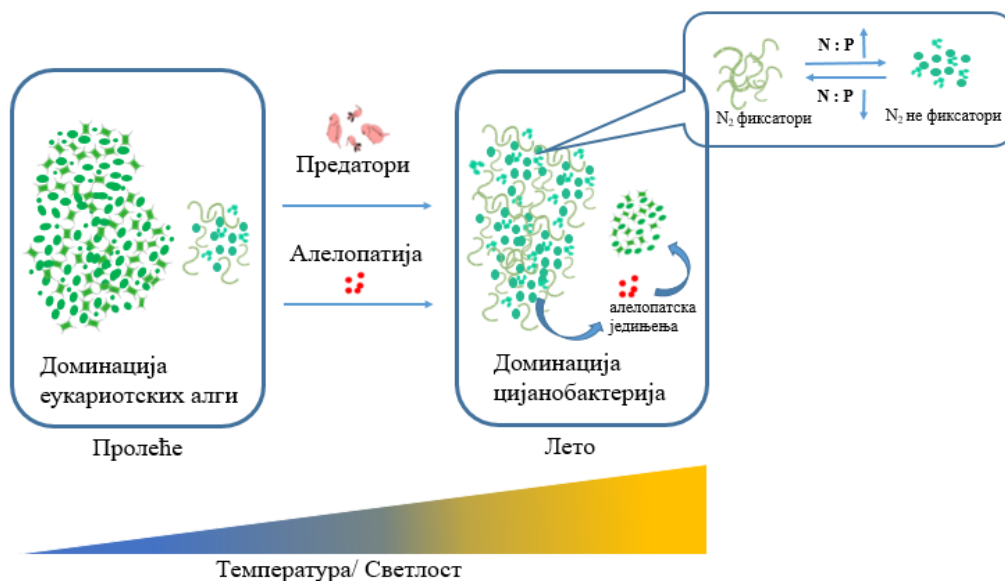
Цијанобактерије су саставни део фитопланктонске заједнице. Међутим, некада њихова бројност може значајно да се повећа у кратком временском периоду у различитим воденим екосистемима и на тај начин да изазове појаву под називом „цветање воде“ (Слика 14) (Watson и сар. 2015). Значајна продукција биомасе током временског периода често је праћена и смањењем диверзитета заједнице (Merel и сар. 2013, Watson и сар. 2015). „Цветање“ у екосистемима може имати негативан утицај, посебно у заштићеним подручјима, јер може

довести до губитка угрожених и ендемичних врста (Marinović, 2021). Код цветања се скоро готово увек дешава да је у питању доминација само једне врсте у односу на целокупан диверзитет. Осим цијанобактеријског цветања и међу припадницима раздела Dinophyta, Raphidophyta, Prymnesiophyta, Bacillariophyta и Euglenophyta су запажени примери цветања (Figueiras и сар. 2006, Zimba и сар. 2010). „Цветање“ представља природни феномен, који је подпомогнут антропогеним утицајем. Иако је „цветање“ цијанобактерија познато од античких времена тренутно стање је такво да је приметан пораст на глобалном нивоу.



Слика 14. „Цветање“ цијанобактерија и микроскопска структура: а) површински цвет *Microcystis* (језеро Онтарио), б) *Microcystis aeruginosa* под микроскопом, в) површински изглед цветања *Aphanizomenon* (језеро Винипег) и г) *Aphanizomenon cf. flos-aquae* под микроскопом (Watson и сар. 2015).

Тешко је приписати појаву „цветања“ цијанобактерија на један специфичан фактор пошто постоје комбинације фактора који покрећу и одржавају раст цијанобактерија (Kim и сар. 2020). На бројност цијанобактерија највише утичу три фактора: нутријенти, температура воде и светлост (Merel и сар. 2013). И у лотичким и у лентичким воденим системима на повећану бројност и доминацију цијанобактерија утичу највише услови јаког интензитета светлости, високе температуре и повећане концентрације хранљивих материја и ниске турбуленције (Giblin и Gerrish, 2020). Многи родови цијанобактерија формирају гасне везикуле које им омогућавају да се налазе у вишим слојевима воде, и да остану у подручју еуфотичке зоне и близу површине. Такав површински цвет одржава високу стопу фотосинтезе, чак и под високим UV зрачењем, а са друге стране у исто време заклања друге врсте и спречава њихов раст (Paerl и Otten, 2013). Промене у атмосферској температури директно доводе до промене у температури воде, а самим тим и промене различитих физичко-хемијских својства, брзину реакција и биолошке активности у води (Zhou и сар. 2020). Промене температуре значајно утичу на раст и дистрибуцију водених организама. У оквиру одређеног температурног опсега брзина метаболизма цијанобактерија се убрзава и стопа раста и репродукције се повећава (Zhou и сар. 2020). На Слици 15. је приказана сукцесија и промена састава фитопланктона од пролећа до лета. Већа количина нутријената поспешује раст цијанобактерија у односу на еукариотске алге, што покреће сукцесију фитопланктона према цијанобактеријама (Huisman и сар. 2018).



Слика 15. Сукцесија фитопланктона од еукариотских алги до цијанобактерија покренута са неколико фактора животне средине, адаптација на основу Wang Z. и сар. 2021.

Количина азота и фосфора, као и њихов однос је један од кључних фактора за раст и развој цијанобактерија у језерима. Специфичан однос N:P који промовише „цветање“ цијанобактерија може да варира у зависности од врсте цијанобактерија и услова околине. На пример, неке врсте су у стању да боље искористе азот из атмосфере и већа је вероватноћа да ће формирати „цветање“ када је однос N:P релативно висок (Wang Z. и сар. 2021) (Слика 15). Порекло азота и фосфора може бити природно, али и укључити људске активности. Међутим, људске активности знатно повећавају унос азота и фосфора у слатководне екосистеме, што је довело до еутрофикације и стварања штетног „цветања“ алги. Пољопривредно отицање, канализациони ефлуент и атмосферско таложење из индустријских активности су главни извори нутријената у језерима (Smith и Schindler 2009). Смањењем уноса азота и фосфора које воде порекло од људских активности, као и увођењем одрживих пољопривредних пракси може се помоћи у ублажавању утицаја еутрофикације и штетног цветања алги у слатководним екосистемима. Цветање цијанобактерија изазива хипоксију у води, јер се оне акумулирају и након одређеног времена разграђују, што резултује присуством различитих токсичних секундарних метаболита и других штетних једињења (као што су токсини, водоник сулфид и мирисне супстанце) (Huang и Zimba 2019). Ове промене имају значајан утицај на водену флору и фауну, као и на структуру и заједницу микроорганизама. Осим тога, могу имати и веома негативан утицај на људско здравље. Светска здравствена организација (СЗО, 2003) препоручује критичне контролне тачке за смањење изложености опасностима од цијанотоксина да би се осигурала безбедност јавног здравља. Одређене су смернице за воду за пиће и рекреативна водна тела како би се обезбедила безбедност јавног здравља (Прилог 5).

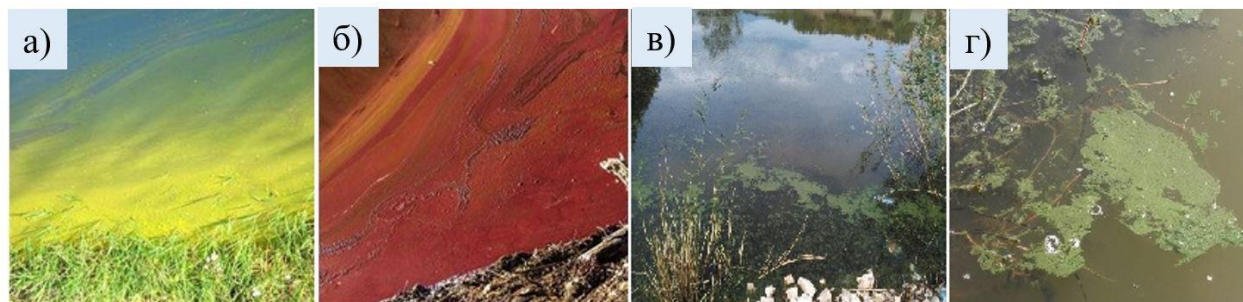
Цветање цијанобактерија постаје временом све учесталија појава у свету. Слатководна тела широм света се могу користити као резервоари воде за пиће или за рекреацију, па су самим тим и феномени цветања привукли пажњу као могуће опасности по здравље. Једно од најраније забележених цветања цијанобактерија је из 1672. године у језеру Тухомски у Пољској, (Codd и сар. 2015). Не може се са сигурношћу рећи да је оно што је било примећено и описано био токсично „цветање“, али опис је у складу са савременим разумевањем. Данас, један од начина праћења је и коришћење апликација, као што је „CyanoAlert“ (2022). Са циљем да се на време реагује и спрече неке озбиљније последице по здравље људи неопходан је редован мониторинг.

Међу познатим примерима налазе се велика језера као што су језеро Ери, Бајкалско језеро и језеро Викторија (Слика 16.; Kobanova и сар. 2016; Steffen и сар. 2014; Olokotum и сар. 2020).



Слика 16. Цијанобактеријско „цветање“ : а) Бајкалско језеро (Русија) - цветње врсте *Anabaena lemmermannii* (Kobanova и сар. 2016), б) Језеро Ери (САД) - симулирана слика цветања *Microcystis*-а у правој боји снимљено NASA сателитом (Steffen и сар. 2014), в) Језеро Викторија (Уганда) – цветање *Dolichospermum*-а spp. и *Microcystis*-а spp. (Olokotum и сар. 2020).

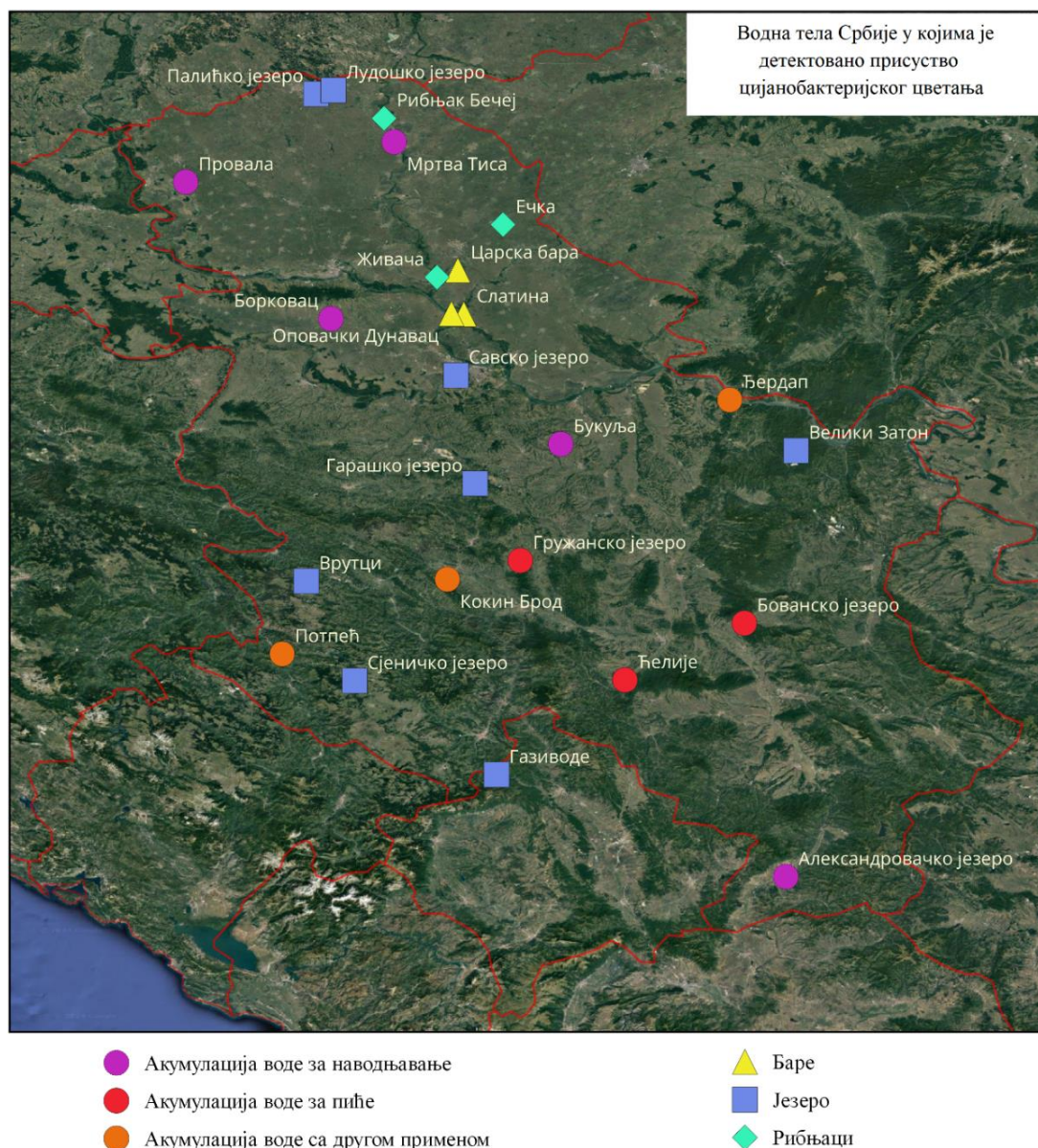
Један од озбиљнијих проблема представља Бајкалско језеро, као највеће језеро на свету са 20 % светске слатке воде, јер у хладним поднебљима није карактеристичан цијанобактеријски цвет (Belykh и сар. 2015). Од 1990-их доминатна цветања *Microcystis*-а су се годишње појављивала у западном басену језера Ери, због чега је језеро постало уобичајен проучаван модел развоја токсичног цветања и постојаности у слатководним системима (Steffen и сар. 2012). Мочварно подручје Пантанал као највеће заштићено подручје обухваћено Рамсарском конвенцијом, захваћено је цијанобактеријским цветањем (Costa и сар. 2016). Језеро Чад је један од примера где се цијанобактерије користе у исхрани, иако постоји могућност од тровања, конкретно врстом *Arthrospira fusiformis*, док је у неколицини узорака воде детектован микроцистин (Metcalf и сар. 2021). Појава таксона цијанобактерија у водним телима Србије показује тренд пораста у последње две деценије (Јовановић и сар. 2022). Једно од првих цијанобактеријских „цветања“ је забележено 1930. године у Великом Бачком каналу, код Бечеја, док присуство цијанотоксина није забележено (Protić, 1935). Истраживања у Републици Србији фокусирана су на присуство токсичних цијанобактерија у воденим екосистемима. У циљу праћења стања, формирана је база „Serbian Cyanobacterial Database“ (Svirčev и сар. 2017, Serbian Cyanobacterial Database, 2022). У раду Svirčev и сар. 2017 приказано је да је у скоро 80 % проучаваних водених екосистема примећено цијанобактеријско „цветање“. Више од 70 врста цијанобактерија је идентификовано у досадашњим истраживањима. У Прилогу 6, као и на Слици 17 издвојена су нека водна тела за изразитим „цветањем“ цијанобактерија у Србији.



Слика 17. Цветање воде у: а) рибњаку у Војводини (Drobac, 2015), б) језеру Врутци (Drobac, 2015), в) и г) Површински "цвет" цијанобактерија из рода *Oscillatoria* у Александровачком језеру, која је потенцијални произвођач цијанотоксина микроцистина.

Цијанобактеријско цветање је детектовано у барама, језерима, рибњацима и акумулацијама са различитим наменама (Слика 18). Осим у стајаћим водама, цијанобактеријска цветња могу се

појавити и у рекама као што су примери Тисе, Поњавице, Западне Мораве, Тамиша, Бегеја и Саве (Svirčev и сар. 2017). У Прилогу 6 указује се на распрострањеност доминантних врста цијанобактерија на различитим локалитетима. Цијанотоксин који је документован је микроцистин, присутан у Палићком језеру, Ћелијама, Борковцу и другим местима, што представља значајан ризик по здравље људи и екосистеме. Међутим, за многе локалитете нема података о токсинима („н.д.“), што може указивати на недостатак анализа, а не на њихово одсуство. Имајући то у виду, постоји потреба за додатним мониторингом. Присуство ових цијанобактерија указује на високу еутрофикацију, посебно у стајаћим водама, док је ризик од контаминације посебно изражен у акумулацијама за водоснабдевање.



Слика 18. Цијанобактеријско цветање у лентичким водама у Србији.

1.5. Александровачко језеро

Александровачко језеро је вештачка акумулација површине од око 120,000 m², а максимална запремина језера је 250,000 m³. Изграђено је за потребе наводњавања на реци Александровац 1964. године, која се допуњава водом из локалне реке Отуље. Језеро се налази 8 km од Враћа (42°29'22"N; 21°53'54"E), на надморској висини од 412 m (Слика 19).



Слика 19. Сателитски снимак Александровачког језера.

Александровачко језеро је првобитно коришћено за наводњавање пољопривредног земљишта низводно од бране и акумулације, на десној обали Јужне Мораве. Иригациона функција се смањивала заједно са пољопривредним активностима, а све више језеро је било коришћено за рекреацију и риболов (Prokić и сар. 2008). Процеси еутрофикације су значајно повећани током овог времена што је довело до високо еутрофних и скоро анаеробних услова. Временом је услед појачане активности и прилива хранљивих материја у сливу дошло до интензивне еутрофикације језера. Ово је првенствено због прилива хранљивих материја из слива, релативно мале дубине језера (понегде испод 2 m), због исушивања локалне реке Отуље, као и због природних фактора и климатских карактеристика. Ови параметри су били погодни за „цветање“ цијанобактерија током времена. Еутрофикација и климатске промене су два од најчешћих фактора који могу утицати на повећање обима, густине насељености и постојаност „цветања“ цијанобактерија што може довести до mortalитета риба (Svirčev и сар. 2016). Постојала су два помора риба у Александровачком језеру 2008. године, са последичним губитком од преко 3,000 kg рибе. Могући разлог mortalитета риба је промена pH вредности и ниже концентрације кисеоника, као и производња токсина цијанобактерија (Ђорђевић и Simić 2014). Брза еутрофикација језера, изнуђени напори за побољшање квалитета воде, а према Главном пројекту „Рехабилитација Александровачког језера“ (јул 2009. године) који је предложио Институт за водопривреду „Јарослав Черни“ – Београд (Одсек за бране, хидроенергетика, рудницима и путевима), језеро је испразњено до краја 2009. године, а програм реконструкције почео је у пролеће 2010 (Prokić и сар. 2008). Језеро је поново напуњено водом, а затим коришћено за туризам и рекреацију током лета 2010. Резултати диверзитета фитопланктона у језеру праћени су током 2008. године (пре

санације), као и 2011. године (након санације), и представљени су у раду. Đorđević и Simić 2014, где је потврђено присуство цијанобактерија. У језеру су током септембра 2010. године примећене врсте *Raphidiopsis raciborskii*, *Pseudoanabaena* sp. и *Anabaena bergiei* (Simić и сар. 2011). Даље, нови масовни помор риба у Александровачком језеру био је средином децембра 2012. Поред тога, неколико недеља пре инцидента, примећена је врста цијанобактерија под називом *Raphidiopsis raciborskii*, која је дала жуту/браон боју воде. Присуство *R. raciborskii* може изазвати деградацију биодиверзитета и расељавање аутохтоних врста фитопланктона као инвазивних врста. Ова врста је први пут забележена у Србији 2006. године, у Слатинској бари (Свијан и Фуџинато 2011), а прво „цветање“ забележено је у реци Поњавици 2008. године (Karadžić и сар. 2013).

На раст цијанобактерија у великој мери утичу физичко-хемијски параметри воде, а посебно преовлађују локални временски услови (Karadžić и сар. 2013, Jovanović и сар. 2017). У Прилогу 7 приказани су параметри воде Александровачког језера у периоду од 2008 до 2012. године. Анализе указују на сезонске, али и годишње варијације испитаних параметара (Đorđević и Simić, 2014; Svirčev и сар. 2016). Температура је варијала од летњих 34.4 °C до зимских 10.5 °C, а pH вредност 10.4 до 6.68. Концентрације кисеоника, нитрата и фосфата варирају, а њихове вредности могу указати на еутрофикацију, присуство органског отпада и могуће процесе загађења, нарочито у летњим месецима. Ови подаци указују на потенцијалну деградацију квалитета воде, вероватно узроковану антропогеним утицајем.

1.6. Уклањање цијанобактерија и цијанотоксина из воде

Цијанобактерије и њихови токсини представљају значајну претњу по квалитет водних ресурса, посебно у еутрофним језерима и акумулацијама. Поменуто је да присуство цијанобактерија и њихових токсина у изворима воде за пиће може довести до здравствених ризика за људе и животиње, укључујући иритацију коже, гастроинтестинални дистрес, па чак и неуролошка оштећења у тешким случајевима. Изложеност цијанобактеријским токсинима такође може имати еколошке последице, укључујући смртност риба, водених бескичмењака и других водених организама. Важно је уклонити цијанобактерије и њихове токсине из воде како би се осигурала безбедност извора воде за пиће и заштитили водени екосистеми. Цијанобактеријски токсини могу да опстану у води дуже време, а њихово уклањање је кључно за спречавање ризика од излагања људи и животиња. Литературни подаци су показали да се активни угљеници могу успешно применити за адсорбовање екстрацелуларних токсина (Abbas и сар. 2020), док за уклањање цијанобактерија и интрацелуларних токсина тренутно недостају детаљна истраживања. Штавише, важно је уклонити ћелије цијанобактерија пре него што испусте токсине у воду, јер цијанобактеријски цвет може брзо да се прошири, што може довести до ослобађања великих количина токсина у воду. Уклањање ћелија цијанобактерија у раном циклусу њиховог раста може спречити производњу и ослобађање токсина и смањити ризик од излагања токсинима.

Развијено је неколико метода за уклањање цијанобактерија из воде, са различитим степеном успеха. Једна уобичајена метода за уклањање цијанобактерија је конвенционални третман воде, који обично укључује употребу коагуланата, флокуланта и седиментације за уклањање честица из воде. Међутим, овај метод није увек ефикасан у уклањању цијанобактерија, посебно оних које су мале и веома распршене. Поред тога, конвенционалне методе третмана могу ослободити цијанотоксине у третирану воду услед лизирања ћелија, што доводи до потенцијалних ризика. Једна од наведених метода је помоћу хлора (Niamien-Ebrottie и сар. 2015), док се употребом KMnO_4 могу уклонити ћелије *Microcystis*-а без лизе ћелија и испуштања токсина у воду (Niamien-Ebrottie и сар. 2015).

За решавање проблема уклањања цијанобактерија користе се различите методе:

- Физичко уклањање: Ова метода укључује физичко уклањање цијанобактерија из воде. То се може урадити помоћу опреме као што су системи за филтрирање, сита или мреже. Овај метод је ефикасан за мале примене и може помоћи у смањењу тренутне повећане бројности цијанобактерија. Употребом ултразвука могу се уништити гасне везикуле чиме се ћелије цветајућих цијанобактерија таложе на дно језера (Нао и сар. 2004).
- Хемијски третмани: Могу користити за контролу раста цијанобактерија и њихово уклањање из воде. Алгициди, као што су CuSO_4 , KMnO_4 , и Cl_2 , се обично користе за убијање цијанобактерија (Wang S. и сар. 2021). Метода која се између осталог испитује је и употреба водоник - пероксида на регулацију убрзане еутрофикације и смањења броја цијанобактерија (Važić, 2020). Међутим, треба бити обазрив, како би се спречили штетни ефекти на друге организме и животну средину.
- Биолошка контрола: Биолошке методе укључују коришћење других организама за контролу популација цијанобактерија. На пример, увођење одређених врста зоопланктона или риба које се хране цијанобактеријама може помоћи у смањењу њихове популације. Такође, један од метода су алгицидни изолати, са бактеријама као главном компонентом (*Proteobacteria*, *Bacteroidetes* и *Firmicutes*) (Ndlela и сар. 2018). Међутим, успех метода биолошке контроле може варирати у зависности од специфичног екосистема и укључених врста.
- Прозрачивање и мешање: Цијанобактерије успевају у стајаћој води, тако да поспешивање кретања воде и оксигенације може помоћи у контроли њиховог раста. Уређаји за аерацију, могу се користити за повећање нивоа раствореног кисеоника и „разбијања“ колонија цијанобактерија као што су колоније *Microcystis*-а (Wang Y. и сар. 2021).
- Управљање нутријентима: Раст цијанобактерија често је подстакнут прекомерним нивоима хранљивих материја, посебно фосфора и азота (Li и сар. 2018). Примена одговарајућих стратегија управљања хранљивим материјама, као што је смањење отицања хранљивих материја из пољопривреде или постројења за пречишћавање отпадних вода, може помоћи у ограничавању доступности ових хранљивих материја и инхибирању раста цијанобактерија.

У досадашњим испитивањима примењивани су третмани које можемо сврстати у следеће групе (Walker и сар. 2014): коагулација, флокулација, седиментација, флоатација раствореног ваздуха, филтрација, адсорпција активним угљеничним материјалима и хемијска дезинфекција. Осим ових третмана познати су и напреднији третмани (Walker и сар. 2014) попут реверзне осмозе – RO (енг. reverse osmosis) и нанофилтрација – NF (енг. nanofiltration), ултрафилтрација и микрофилтрација, ултрафилтрација – PAC и оксидативни процеси (озонизација, калијум пермаганат, фотолиза и UV/водоник - пероксид, UV/титан-диоксид (TiO_2), сулфатни радикали, ултразвук, фентова реакција и ферати).

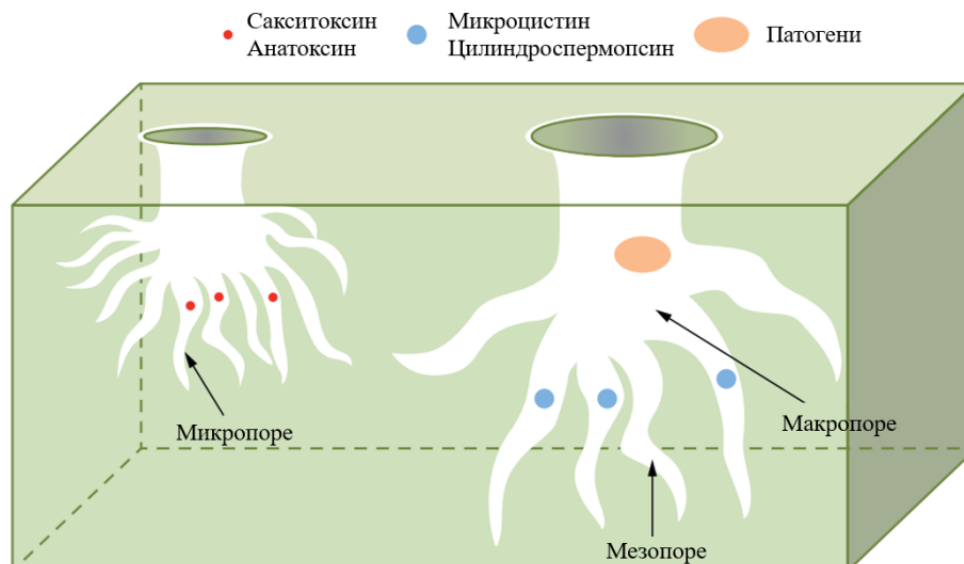
Последњих година и природни материјали су почели да имају све већу примену за уклањање цијанобактерија из воде. Међу тим материјалима су се нашли и минерали глине и биоугља. Показало се да ови материјали ефикасно уклањају цијанобактерије из воде адсорпцијом, и имају потенцијал да буду јефтине и еколошки прихватљиви. У доступној литератури постоје примери уклањања цијанобактерија различитим методама. Досадашња истраживања су приказана у Табели 5. У раду Мусси и сар. 2020. говоре о употреби хитозана као коагуланта за уклањање цијанобактерија. Студија је открила да, иако је хитозан био ефикасан у уклањању цијанобактерија, такође је изазвао ослобађање микроцистина у воду. Такође, истиче се важност разматрања потенцијалних нежељених последица коришћења коагуланата као што је хитозан у процесима пречишћавања воде, посебно када се ради о цветању цијанобактерија.

Табела 5. Литературни преглед метода уклањања цијанобактерија из воде.

Метода	Материјал	Ефикасност уклањања	Литература
Адсорпција	PEI* - модификовано композитно влакно отпадне биомасе хитозана	89.0 – 91.8 %	Park и сар. 2022 а
	PEI* - поливинилхлоридна композитна влакна	80-90 %	Park и сар. 2022 б
Коагулација	Хитозан	/	Mucci и сар. 2020
	Калијум ферат	~ 90 %	Mališová и сар. 2020
	Хитозан	93.6 %	Habtemariam и сар. 2021

* - полиетиленимин

Ефикасност метода уклањања цијанобактерија може варирати у зависности од специфичних карактеристика ћелија цијанобактерија и извора воде који се третира. Потребна су даља истраживања како би се утврдиле најефикасније и одрживе методе за уклањање цијанобактерија, као и њихове практичне примене за третман воде. Годинама уназад спроводе се бројне превентивне мере у циљу заштите водених екосистема од штетног утицаја цијанобактеријског цветања (Paerl и сар. 2011; Paerl и сар. 2016; Wang Y. и сар. 2021). Међутим, ако се токсини испусте у воду, неопходно је уклонити их. У новијим истраживањима велики број радова био је више усмерен на уклањање токсина. Методе које су развијене укључују физичке, хемијске и биолошке технике, као што су адсорпција, коагулација, оксидација и мембранска филтрација. Осетљиве ћелије цијанобактерија се лако могу оштетити коришћењем неких метода (нпр. коагулација, флокулација и седиментација) (Antoniou и сар. 2005). Међу овим методама, адсорпција је једна од најефикаснијих и широко коришћених техника за уклањање цијанотоксина из воде. Због своје велике површине и великог броја активних места активни угљеници су ефикасни адсорбенти цијанотоксина. Активни угљеници се могу успешно применити за адсорбовање екстрацелуларних цијанотоксина (Merel и сар. 2013). Поред своје ефикасности имају неколико предности у односу на друге методе: једноставни су за употребу, релативно јефтини и не производе штетне нуспроизводе. На Слици 20. је приказана адсорпција цијанотоксина у зависности од величина пора на угљеничном материјалу (Teixeira и сар. 2020).



Слика 20. Структура пора активних угљеничних материјала (Teixeira и сар. 2020).

Сакситоксин и анатоксин се адсорбују у микропорама, микроцистин и цилиндроспермопсин у мезопорама. До сада је највећа пажња усмерена на адсорпцију микроцистина, посебно форме MC-LR. Генерално, активни угљеници најефикасније уклањају растворене MC из воде, са приносима уклањања до 99 % (Teixeira и сар. 2020). Варијанте микроцистина могу имати различиту ефикасност адсорпције. У неким студијама је приказано да су прашкасти активни угљеници ефикасни само у већим дозама, док постоје и оне студије у којима се наводи да је 20–30 mg/L довољно за уклањање > 90 % цијанотоксина који су присутни у ниским концентрацијама (Chorus и Bartram, 1999, Keijola и сар. 1988, Falconer и сар. 1989, Donati и сар. 1993). У Табели 6. приказани су неки од резултата истраживања о употреби активних угљеничних материјала у уклањању цијанотоксина из воде.

Табела 6. Преглед употребе активних угљеничних материјала у адсорпцији цијанотоксина.

Материјал (прекурсор)	Цијанотоксин	Ефикасност уклањања [%]	Капацитет адсорпције [µg/mg]	Литература
Дрво	MC-LR	~ 100	/	Drikas и сар. 1994
Кокосова љуска	MC-LR	/	200	Pendleton и сар. 2001
Дрво	MC-LR	39.1-99.5	/	Pyo и Moon, 2005
Активна угљенична влакна	MC-RR	42.3-99.5	/	
Кокосова љуска	MC-LR	37 - ~100	/	Huang и сар. 2007
Битумен	MC-LR	99.27	/	
Дрво	MC-LR	98.73	4.11 - 12.82	Albuquerque и сар. 2008
Борово дрво	MC-LR	62.31		
Шећерна трска	MC-LR			
Кокосова љуска	MC-LR			
Прашкасти активни угљеник	Цилиндроспермопсин Микроцистин	~ 100	/	Ho и сар. 2011
На минералној бази	MC-LR	80-85	/	Sorlini и Collivignarelli, 2011
На биљној бази	MC-LR			
Прашкасти активни угљеник	MC-LR			Park и сар. 2017
Комерцијални грануларни активни угљеник	MC-LR	98 – 100	/	Villars и сар., 2020
Пиринчана слама	MC-LR	/	0.01096	Wei и Lu, 2021
Битуменски угљеник и дрвени угљеник	Цилиндроспермопсин	94-98	/	Antonietti и Ginoris, 2022
Кокосова љуска	MC-LR	50		Moore и сар. 2023

Villars и сар. 2020 су открили да су активни угљеници били веома ефикасни у уклањању микроцистина (MC-LR) из воде, са стопом уклањања у распону од 98 % до 100 % у зависности од количине материјала и времена контакта. Као прекурсор у овом истраживању коришћени су

лигнит, дрво и битумен. Студија је такође открила да на ефикасност уклањања утичу фактори као што су рН и присуство других органских једињења у води. Поред тога, аутори су приказали да третман активним угљеницима није резултирао стварањем штетних нуспроизвода, што указује да би то могао бити сигуран и ефикасан метод за уклањање MC-LR из воде за пиће. У случају материјала описаних у раду Antonietti и Ginoris, 2022, показано је уклањање цилиндроспермопсина веће од 80 % у првом сату контакта и достигнута је равнотежа адсорпције у року од 12 h од контакта. Исто тако, количина активних угљеничних материјала (10 – 70 mg/L) утиче на проценат уклањања токсина у зависности од врсте прекурсора (Табела 6). Конкретно, за активне угљенике добијене од прекурсора као што су дрвени, проценат уклањања токсина износи 37 - 98 %, док је за битуменски 23 - 94 % (Huang и сар. 2007).

На основу наведених примера, види се да је употреба активних угљеничних материјала у адсорпцији цијанотоксина из воде обећавајућа техника за уклањање ових штетних супстанци.. Активни угљеници су се показали ефикасним у уклањању различитих цијанотоксина из воде и поседују неколико предности у односу на друге методе за уклањање ових токсина. Како би се оптимизовала употреба активних угљеника за уклањање цијанотоксина из воде и истражио потенцијал нових адсорбујућих материјала потребна су даља истраживања.

2. Циљ истраживања

Главни циљеви докторске дисертације у складу са горе наведеним су:

1. Синтеза материјала пореклом од стабљике листа палме (*Phoenix dactylifera* L.) и плода црне јове (*Alnus glutinosa* L.) поузданих и проверених карактеристика процесом карбонизације и активације, као и одређивање карактеристика материјала. Из овог циља произашли су специфични циљеви:

- Одређивање структуре материјала,
- Одређивање вредности специфичне површине материјала и расподеле и величине пора,
- Одређивање садржаја макро- и микроелемената,
- Испитивање морфолошких и микроструктурних својстава.

2. Испитивање цитотоксичног и генотоксичног потенцијала синтетисаних материјала пореклом од листа урмине палме и плодова црне јове на нормалној ћелијској линији,.

3. Испитивање ефекта синтетисаних материјала пореклом од плодова црне јове на формирања биофилма одабраних бактеријских сојева.

4. Анализа цијанобактерија у узорцима воде из вештачке акумулације са изразитим степеном еутрофикације која ће обухватити квалитативну и квантитативну анализу састава цијанобактерија, као и анализу продукције цијанотоксина.

5. Потенцијална примена синтетисаних материјала као филтера за пречишћавање воде са изразитим степеном еутрофикације. Ови материјали испитаће се на узорцима из вештачке акумулације чија је првобитна намена била за водоснабдевање и рекреацију.

3. Материјали и методе

3.1. Материјали

3.1.1. Полазни прекурсори

Полазни прекурсори за синтезу активних угљеничних материјала били су стабљика листа палме (P_RS) и плода црне јове (A_RS). Стабљике листа палме су сакупљени из места Неа Каликтратиа, Грчка. Плодови црне јове су сакупљени у Бијелом Пољу, Црна Гора. Одабрани прекурсори представљају отпадне биомасе, палма (краakterистична врста за медитеранску климу), и црна јова (караakterистична за умерену континенталну климу) (Слика 21).



Слика 21. Сирови узорци: а) листови урмине палме, б) плодови црне јове.

3.1.2. Бактеријски сојеви и ћелијске линије

У овом истраживању коришћени су следећи бактеријски сојеви: *Escherichia coli* ATCC 35218, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Enterobacter cloacae* ATCC 49141, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium ATCC 14028, *Proteus mirabilis* ATCC 29906, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13885, *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606 и *Enterococcus faecalis* ATCC 29219. Сојеви бактерија су из колекције Катедре за микробиологију Биолошког факултета, Универзитета у Београду.

У овом раду коришћена је једна хумана ћелијска линија: нормални фетални фибробласти плућа (MRC-5, ECACC 84101801).

3.1.2.1. Хранљиве подлоге и раствори за рад са бактеријским културама

LB-(Luria Bertani бујон)

Триптон	10 g
Екстракт квасца	5 g
NaCl	5 g
dH ₂ O	1000 mL

MHB-(Mueller-Hinton бујон)

MHB прах	21 g
dH ₂ O	1000 mL

TSB – (Trypton Soja бујон)

TSB прах	30 g
dH ₂ O	1000 mL

Сви медијуми су након припреме стерилисани у аутоклаву (20 минута, на 121 °C).

Стрептомицин

Примарни сток 20 mg mL⁻¹, растворен у dH₂O

Радни сток - 1 mg mL⁻¹

Резазурин

Примарни сток 0,675 mg mL⁻¹, растворен у dH₂O.

Кристал виолет (0,1%)

Кристал виолет прах	0,1 g
dH ₂ O	100 mL

3.1.2.2. Хранљиве подлоге и раствори за рад са хуманим ћелијским линијама:

За гајење **MRC-5 ћелија коришћен је DMEM** медијум (eng. *Dulbecco's modified eagle's medium*) са 2 mM L-glutaminom, додатком феталног гвожђевог серума (FBS, eng. *Fetal bovine serum*) и раствора смеше антибиотика пеницилина (100 U mL⁻¹) и стрептомицина (100 µg mL⁻¹).

DMEM радни медијум (запремина 50 mL)

DMEM медијум	44,5 mL
FBS	5 mL
Пеницилин/стрептомицин	0,5 mL

1xPBS (eng. *Dulbecco's phosphate-buffered saline*)

10xPBS	5 mL
dH ₂ O	45 mL

Трипсин (0,1%)

Трипсин	1 g
EDTA	0,1 g
NaCl	8 g
KCl	
Глукозо монохидрат	0,4 g
	1 g
NaHCO ₃	0,84 g
dH ₂ O	1000 mL

MTT (3-(4,5-dimetil(tiazol-2-il)-3,5-difenil-tetrazolijum-bromid)

примарна концентрација 5 mg/mL растворена је у 1 x PBS-у. Раствор је профилтриран (филтер 0,22 µm) и чуван на 4 °C.

Трипан плаво (0.4 %)

Трипан плаво прах	0,4 g
dH ₂ O	100 mL

Раствор за лизу ћелија (pH 10)

NaCl	146,6 g
EDTA	37,2 g
Tris	1,21 g
dH ₂ O	1000 mL

Након подешавања рН раствора, коришћењем 10М NaOH, додат је **1% Triton X-100**.

Раствор за денатурацију и електрофорезу (рН 13)

10 М NaOH	40,5 mL
0,2 М EDTA	6,75 mL
dH ₂ O	1302,75 mL

Раствор за неутрализацију (рН 7,5)

Tris	48,44 g
dH ₂ O	1000 mL

рН вредност раствора за неутрализацију је подешена додавањем HCl.

Раствори за лизу, денатурацију, електрофорезу и неутрализацију се праве на дан експеримента и до употребе се чувају на 4 °C.

NMP (eng. *Normal melting point*) агароза (0,5%)

NMP	0,5 g
dH ₂ O	99,5 mL

NMP агароза (1%)

NMP	1 g
1 x PBS	99 mL

LMP (eng. *Low melting point*) агароза (1%)

LMP	1,4 g
1xPBS	99 mL

3.1.3. Стандарди цијанотоксина

Стандарди микроцистина (MC-LR, MC-RR и MC-YR) и цилиндроспермопсина (CYN) обезбеђени су од стране ENZO life Science (Lausen, Швајцарска). Сви стандарди су били > 95 % чистоће, што је потврђено применом течне хроматографије високих перформанси (High-performance liquid chromatography; HPLC). Метанол (MeOH) MS квалитета (99.99 %) и дихлорометан (DCM) аналитичког реагенсног квалитета (99.9 %) набављени су од Fisher Scientific (Leics, УК), а ацетонитрил MS квалитета (99.99 %) од Carlo Erba (Val de Reuil Cedex, Француска). Вода високог степена чистоће произведена је на лицу места коришћењем Barnstead GenPure (Thermo Scientific, USA). Натријум - хидроксид (NaOH) 2 М коришћен за подешавање рН узорка припремљен је од пелета (чистоће 98 %) набављених од Sigma Aldrich (Steinheim, Немачка). Мравља киселина (FA) (99.9 %) је припремљена од Carlo Erba (Val de Reuil Cedex, Француска).

3.2. Методе

3.2.1. Синтеза материјала

Прва фаза у синтези активних угљеничних материјала била је механичко чишћење како би се уклониле све нечистоће које могу утицати на квалитет финалног производа. Процес чишћења укључује уклањање прљавштине или остатака из сировина помоћу четке. Када су прекурсори очишћени, сушили су се у сушници како би се уклонила заостала влага која може бити присутна. Након сушења, прекурсори се подвргавају карбонизацији, што подразумева њихово загревање у окружењу без кисеоника. Друга фаза процеса је процес активације. У овој фази,

карбонизовани материјали се активирају да би се додатно повећала њихова порозност и својства адсорпције. Када се процес активације завршио, активни угљенични материјали као финални производи су затим уситњени у авану.

3.2.1.1. Карбонизација

Први корак представља процес карбонизације који је изведен у хоризонталној цевној пећи од нерђајућег челика са програматором (производња Бања Ковиљача). Процес карбонизације је изведен у инертној атмосфери азота (N_2). Температура пећи је повећавана од собне температуре до жељене оперативне температуре од $750\text{ }^{\circ}\text{C}$ (радна температура). Брзина загревања пећи је била константна $4\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$. Након достизања жељене температуре узорак је задржаван 1 h. У току хлађења гасни проток N_2 је одржаван до собне температуре. Добијени карбонизовани узорци палме (P_CC) и плода црне јове (A_CC) су након тога активирани.

3.2.1.2. Активација

Други корак представља процес активације карбонизованих узорака у хоризонталној пећи (ручно израђена). Температура пећи је повећавана од собне температуре до жељене оперативне температуре од $750\text{ }^{\circ}\text{C}$ (радна температура) у атмосфери N_2 . Након достизања жељене температуре узорци су задржавани 1 h у атмосфери CO_2 . Процес хлађења је одржаван у атмосфери N_2 до собне температуре. Након овог процеса добијени су активни угљенични материјали листа палме (P_AC; Слика 22а) и плода црне јове (A_AC; Слика 22б).

У циљу поређења синтетисаних активних угљеничних материјала окарактерисан је и комерцијални активни угљеник AquaSorb® HSL (8x30 MESH) добијен од кокосове љуске. На Слици 22в приказан је комерцијални активни угљеник (C_AC).



Слика 22. Узорци активних угљеничних материјала након процеса активације од: а) стабљике листа палме (P_AC), б) плода црне јове (A_AC), и в) комерцијалног угљеника (C_AC).

Принос активираних угљеничних материјала је одређен према формули (1):

$$P = \frac{m}{m_0} \times 100, \quad (1)$$

где је: P - принос активiranог угљеничног материјала, m - тренутна маса узорка, m_0 - почетна маса узорка који је искоришћен у процесу активације.

3.2.2. Физичко - хемијска карактеризација материјала

3.2.2.1. Анализа хемијског састава прекурсора

У складу са ТАРПИ стандардном методом Т 257 cm-12:201, механички уситњени прекурсор самлевени су на лабораторијском микро-млину са чекићима. После просејавања, за анализе хемијског састава узете су честице димензија 0,4 - 1 mm. Садржај воде испитиваних узорка прекурсора одређен је гравиметријски, према стандардној ТАРПИ методи Т 264 cm-97:2002; садржај целулозе у узорцима одређен је *Kurschner-Hoffer* - овом методом (Browning, B.L., 1967); садржај лигнина после екстракције (толуол-етанол) одређен је *Klason*-овом методом (Т 222 cm-11). За одређивање садржаја екстрактива растворљивих у органским растварачима, према стандардној ТАРПИ методи Т 264 cm-97, коришћена је смеша толуола и етанола у запреминском односу 2:1 ($C_6H_5CH_3/C_2H_5OH = 2/1$, v/v). Садржај екстрактивних материја растворљивих у врелој води одређен је према ТАРПИ методи Т 207 cm-99 (такође и ASTM D1110-84), а садржај минералних материја преко пепела, према стандардној Т 413 cm-93 методи на 900 °C. Садржај хемицелулоза одређен је као допуна садржаја одређиваних компоненти до 100 %. Резултати су изражени у односу на апсолутно суву масу материјала прекурсора (wt.%, сувог) и приказани као средње вредности (аритметичка средина) три понављања.

3.2.2.2. Рендгенска дифракциона анализа (XRD)

Сирови прекурсор, карбонизовани и активирани угљенични узорци анализирани су рендгенском дифракцијом праха (XRD) која је урађена на Rigaku (Rigaku International Corporation, Tokyo, Japan) Ultima IV уређају користећи Ni-филтер Cu K α зрачење и режим (2θ - опсег; 5° - 90° у непрекидном кораку са ширином режима скенирања од 0.02° брзином од 5° min⁻¹). Коришћен је софтверски пакет Powder Cell (Kraus и Noltze 1996; Powdercell, 2021), да се идентификују фазе присутне у узорцима. TCH pseudo-Voigt функција профила је најбоље одговарала експерименталним рендгенским подацима. Сви модели структуре за прецизирање, односно ciff фајлови су преузети из American Mineralogist Crystal Data Structure Base (AMCDSB) и Cambridge Crystallographic Data Centre CCDC.

3.2.2.3. Инфрацрвена спектроскопска анализа са Фууриеровом трансформацијом (FTIR)

Сирови прекурсор, карбонизовани и активирани угљенични узорци су анализирани инфрацрвеном спектроскопском анализом са Фууриеровом трансформацијом (FTIR) која је изведена на инструменту Thermo Scientific Nicolet iS50. Спектри су снимљени интервалу од 4,000 - 450 cm⁻¹. Резолуција и број скенирања били су 2 cm⁻¹ и 64, редом. Две корекције - аутоматска корекција основне линије и атмосферска корекција коришћене су након снимања спектра.

3.2.2.4. Раманска спектроскопија

Рамански спектри активних угљеничних материјала снимљени су DXR Raman microscope (Thermo Scientific). За истраживање су коришћени оптички микроскоп и CCD детектор. За сва мерења коришћена је таласна дужина побуде од 532 nm. Расејана светлост је анализирана дифракционом решетком од 900 линија mm. Снага ласера је била 2,0 mW. Време акумулације за један спектар било је 10 s и 10 акумулација је прикупљено за једно мерење на свакој површини узорка. Спектри су затим усредњени за три различита подручја узорка. Аутоматска корекција флуоресценције је извршена коришћењем софтвера OMNIC.

3.2.2.5. Испитивање специфичне површине и расподеле пора активних угљева

Текстурне карактеристике активних угљеничних материјала одређене су физисорпцијом азота на $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ користећи Sorptomatic 1990 Thermo Finnigan. Узорци су пре мерења дегазирани за 4 h на собној температури и 18 h на $350\text{ }^{\circ}\text{C}$ под вакуумом. Добијене изотерме N_2 су анализиране помоћу софтвера ADP Version 5.17 CE Instruments. Специфична површина (S_{BET}) је израчуната коришћењем BET (Brunauer, Emmet, Teller) једначине према препорукама за угљеничне материјале (Thommes и сар. 2015). Микропорозност је израчуната применом неколико метода, међу којима су и Dubinin - Radushkevich (Dubinin, 1975) и Horváth и Kawazoe (1983). Стандардна изотерма коју су предложили Kruk и сар. (1997) је примењена за α_s -plot методу. Површина мезопора је процењена S_{meso} , запремина мезопора $V_{\text{meso-BJH}}$ и дистрибуција величине мезопора процењени методом Barrett, Joyner and Halenda (BJH) (Lecloux и сар. 1979).

3.2.2.6. Скенирајућа електронска микроскопија високе резолуције (FESEM)

За испитивање површинске морфологије свих анализираних узорака коришћена је скенирајућа електронска микроскопија (FE-SEM) и инструмент TESCAN Mira3XMU на 20 kV (Tescan, Brno–Kohoutovice, CzechRepublic). Микрографија узорака пре и након активације урађена је на различитим увећањима. Пре него што су спроведене анализе, узорци су обложени распршивањем Au/Pd легуре, коришћењем уређаја за наношење распршивањем Polaron SC503 Fision Instrument (Quorum Technologies Ltd., Lewes, UK).

3.2.3. Испитивање утицаја активних угљеничних материјала на људско здравље и животну средину

Активни угљенични материјали који имају потенцијалну употребу у пречишћавању вода од загађивача важно је не поседују неки негативан ефекат ни по здравље људи, и ни по животну средину. Због тога је важно одредити да ли су они безбедни за употребу. Да би се то проценило урађена је анализа потенцијално токсичних елемената у води након третмана активним угљеничним материјалима P_AC, A_AC и C_AC, уз испитивање цитотоксичности и генотоксичности примењених материјала.

3.2.3.1. Концентрација потенцијално токсичних елемената у води након третмана

Концентрација елемента анализирана је из воденог раствора методом оптичке емисионе спектроскопије са индуктивно спрегнутом плазмом (ICP-OES). За ICP-OES мерења, узорци активираних материјала растворени су у дејонизованој води. За припрему калибрационих стандарда за ICP-OES анализу коришћени су једноелементни калибрациони стандард живе (Hg) компаније J.T. Baker и Multi-element standard ICP IV компаније AccuStandard. Приближно 0.5 g узорака стављено је у 5 mL током 24 h на трескалицу. Након тога ови раствори су чувани у полиетиленским боцама до извршења анализе. Сви припремљени узорци су анализирани коришћењем Thermo Scientific™ iCAP™ 7400 ICP-OES анализатора.

3.2.3.2. Процена ризика по здравље људи

Процена здравственог ризика хроничног дневног уноса (CDI) процењује се на основу ингестије и дермалне адсорпције, које укупно утичу на коефицијент опасности (HQ). У Прилогу 8. и 9. приказани су параметри CDI и HQ укључени у једначине (2)- (5).

Вредности параметара CDI и HQ се израчунавају према следећим једначинама:

$$CDI_{ing} = \frac{(C_w \cdot IR \cdot EF \cdot ED)}{(BW \cdot AT)} \quad (2)$$

$$CDI_{derm} = \frac{(C_w \cdot SA \cdot K_p \cdot CF \cdot ET \cdot EF \cdot ED)}{(BW \cdot AT)} \quad (3)$$

$$HQ = \frac{CDI}{RfD} \quad (4)$$

Потпуни утицај на здравље представља сума коефицијента опасности путем ингестије и дермалне адсорпције дефинисан кроз следећу једначину:

$$HI = \sum HQ_{ing} + \sum HQ_{derm} \quad (5)$$

Ако је вредност HI мања од 1 нема ризика по здравље, а ако је вредност једнака или већа од 1 може постојати забринутост за негативне ефекте на здравље људи.

3.2.3.3. Чување и гајење ћелијских линија

Ћелијска линија коришћена у овом истраживању се чува у криотубама у течном азоту на -196°C . За потребе експеримента, садржај из криотуба се отопи и пребаци у епрувете за центрифугирање са додатком 3 mL одговарајућег медијума и центрифугира на 1000 rpm, 10 минута. Затим се супернатанат уклони, талог ресуспендује и ћелије се пребаце у флашкове за гајење површине 25 cm^2 . Након формирања монослоја и достизања конфлуентности од 80 %, ћелије се трипсинизују и пребацају на већи флаш површине 75 cm^2 или користе за експеримент. Трипсинизација подразумева уклањање медијума из флашкова и испирање ћелија 1xPBS-ом. Након тога додаје се 0,1% трипсин, флашкови се лагано лупкају како би се ћелије одлепиле. Реакција трипсинизације се зауставља додавањем дупло веће запремине медијума. Затим се сав садржај пребацује у епрувете и центрифугира на 1000 rpm, 10 минута. Добијени талог се ресуспендује, а затим се одређује број ћелија бојањем трипан плавим уколико се ћелије преипремају за експеримент. За бројање ћелија се користи хемоцитометар (Bürker комора). Ћелије се помешају са 0,4% воденим раствором трипан плавог, боја која не пролази кроз живе ћелије, тако да под микроскопом остају необојене. Коришћени хемоцитометар се састоји из две коморе, подељене на 9 квадрата, а сваки од њих је подељен на 16 мањих квадратића. Број ћелија се одређује мешањем 10 μL ћелијске суспензије и 20 μL трипан плавог и рачуна се према формули (6):

$$\text{Број ћел./mL} = \text{број ћелија у 4 видна поља} \times 4 \times 3 \times 10^4 \quad (6)$$

3.2.3.4. Припрема активних угљеничних материјала за тестирање цитотоксичности и генотоксичности

Почетни сток материјала је направљен додавањем 100 mg материјала у 2 mL DMEM медијума, затим је остављен на инкубацију у току ноћи на 37°C , центрифугиран на 1000 rpm, 10 минута, а добијени супернатанат је профильтриран филтриран и коришћен као 100% елуат за даље тестирање.

3.2.3.5. Испитивање цитотоксичног потенцијала активних угљеничних материјала

Цитотоксичност активних угљеничних материјала P_AC, A_AC и C_AC испитана је МТТ тестом на нормалној ћелијском линији MRC-5. МТТ (3,(4,5-dimethylthiazol-2-yl)2, 5-diphenyltetrazolium bromide) је тетразолијум боја која бива редукована до нерастворљивих љубичастих кристала формаана у метаболички активним ћелијама дејством оксидо-редуктаза. У плочама са 96 бунара, засејано је 2×10^6 ћелија по бунару како би се у року од 24 ч формирао монослој. Након тога ћелије су изложене одговарајућим концентрацијама тест супстанци и

инкубиране још 24 ч. По истеку инкубације, додат је раствор МТТ боје (20 μL МТТ у 200 μL медијума) и ћелије су додатно инкубиране 3 сата. Затим је пажљиво извучен медијум и формирани кристали су растворени додавањем DMSO-а. Материјали су тестирани у концентрацијама од 25%, 50% и 100%. Резултати су очитани спектрофотометријски (Multiscan FC, Thermo Scientific) на таласној дужини од 570 nm, а проценат преживљавања ћелија је израчунат према следећој формули:

$$\text{Преживљавање (\%)} = 100 * (A_{570} \text{ тест супстанце}) / (A_{570} \text{ нетретиране контроле})$$

3.2.3.6. Испитивање генотоксичног потенцијала активних угљеничних материјала

Генотокичност материјала P_AC, A_AC и C_AC је испитана применом алкалног комет теста у складу са препорукама предложеним у студији Møller и сар, 2020. Овај тест се заснива на способности негативно наелектрисаних делова ДНК да путују кроз агарозни гел, при чему оштећена једра формирају „комете“, док неоштећена ДНК задржава компактну форму и остаје у глави комете. За потребе теста, MRC-5 ћелије су засејане у плоче са 12 бунара у финалној концентрацији 3×10^5 ћелија по бунару. Након формирања монослоја, ћелије су третиране одабраним концентрацијама тест супстанци 24 ч. На основу резултата МТТ теста изабране су концентрације од 3,125 %, 6,25 % и 12,5 %, за P_AC; 25 %, 50 % и 100 % за A_AC и C_AC. Као позитивна контрола коришћен је H_2O_2 у концентрацији од 75 μM . Након третмана, медијум је извучен и ћелије су трипсинизоване додавањем 0,1% трипсина. Реакција трипсинизације је прекинута додавањем медијума и читав садржај из бунара је пребачен у епендрофице, центрифугиран на 1000 rpm, 10 минута, након чега је супернатант отклоњен, а талог ресуспендован. На микроскопске плочице, претходно обложене првим слојем 0,5% NMP, нането је по 80 μL 1% NMP у дупликату, а затим је прекривено покровним стакалцима, како би се формирали гелови. Након тога, 30 μL суспензије ћелија је помешано са 70 μL 1% LMP и нането на претходно формиране гелове. Тако припремљене ћелије су подвргнуте лизи у одговарајућем пуферу (pH 10), у мраку на 4 °C, током сат времена. Следећи корак је подразумевао денатурацију (20 минута) и електрофорезу у алкалном пуферу (pH 13), при чему се електрофореза одвијала у мраку, 20 минута на 4 °C при волтажи од 25V и струји од 300mA. Затим је уследила неутрализација у пуферу pH 7,5, 15 минута у мраку. За визуелизацију комета, гелови су обојени актидин оранджом (2 $\mu\text{g/mL}$). По 100 насумичних комета је анализирано помоћу флуоресцентног микроскопа (ексцитациони филтер 510-560 nm, емисиони филтер 590 nm, увећање 400x, Leica, DMLS, Аустрија) и софтвера Comet Assay IV software (Perceptive Instruments, УК). Ниво оштећења ДНК је праћен преко параметра интензитет репа (Tail intensity, TI), који представља проценат ДНК у репу комете.

3.2.4. Испитивање ефекта активних угљеничних материјала на формирање биофилма

3.2.4.1. Гајење и одржавање бактеријских сојева

Сојеви коришћени у овом истраживању су чувани у LB медијуму са додаком 20% глицерола на -20°C. Чисте културе су одржаване на петри шољама, са којих су у одговарајућим временским интервалима пресејаване како би се спречила потенцијална контаминација и исушивање хранљиве подлоге. За потребе експеримената, прављене су преконоћне културе сојева, инкубиране 24 ч на 37°C.

3.2.4.2. Припрема активних угљеничних материјала за тестирање ефекта на формирање биофилма

У овој фази истраживања, испитан је ефекат А_АС материјала на формирање биофилма одабраних бактеријских сојева. Материјал је припремљен на следећи начин: 200 mg материјала је помешано са 2 mL дестиловане воде, и тако припремљена смеша је инкубирана 24 ч на 37°C. Након инкубације, смеша је центрифугурана на 4000 rpm, 10 минута, добијени супернатант је профилитриран и коришћен у тестовима као 100% елуат.

3.2.4.3. Одређивање минималних инхибиторних концентрација – МИК тест

Са циљем одређивања инхибиторних концентрација активног угљеника А_АС, спроведен је МИК тест, као што је претходно описан у раду Svetković и сар. 2023. Преконоћне културе бактерија су разблажене 20x у одговарајућем медијуму (МНВ) и инкубиране уз аерацију на 37°C до достизања жељене оптичке густине (OD_{600}) која одговара броју ћелија $\sim 1 - 2 \times 10^8$. Након достизања жељене оптичке густине, бактеријске суспензије су центрифугиране на 4000 rpm, 10 минута и разблажене са 0.01M $MgSO_4$ како би се достигла финална концентрација ћелија од 10^6 ћелија по mL. Направљена су двострука разблажења испитиваних супстанци у плочама са 96 бунарића. А_АС је тестиран у концентрацијама у распону од 0,39 % до 50 %, а стрептомицин је коришћен као позитивна контрола у концентрацијама у распону од 0.78 до 100 $\mu g/mL$. Након што је направљен градијент, у сваки бунарић додат је бактеријски инокулуми (10^5 CFU/mL), а затим и индикатор раста ресазурин (67.5 $\mu g/mL$). Плоче су умотане парафилмом и инкубиране 24 сата на 37 °C. Резултати су анализирани праћењем промене плаве боје ресазурина, који се под дејством оксидо-редуктаза живих ћелија редукују до розе обојеног резорфина. Најмања концентрација на којој није дошло до промене боје ресазурина се дефинише као минимална инхибиторна концентрација.

3.2.4.4. Испитивање утицаја А_АС на формирање биофилма

Ефекат активног угљеничног материјала добијеног од плода црне јове (А_АС) на спречавање процеса формирања биофилма је одређен квантификацијом укупне биомасе биофилма, бојењем кристал виолетом на основу методе Степановић и сар. (2000). Метода је рађена у микротитар плочама (96 бунарића). Материјал је тестиран у одговарајућим концентрацијама од 6,25 %, 12,5 %, 25 % и 50 %. Осим ових колона са екстрактима на плочи су се налазиле и колоне за контролу стерилности и контролу формирања биофилма. У бунариће је додато по 50 μL бактеријске суспензије (10^6 CFU/mL), а након тога је додато по 50 μL тест супстанци одговарајуће концентрације доприносећи укупној запремини од 100 μL . Бактеријске суспензије су припремљене у одговарајућим медијумима са додатком 0.5 % глукозе. За сојеве *E. coli*, *P. aeruginosa*, *E. cloacae*, *K. pneumoniae* и *S. Typhimurium* био је употребљен МНВ медијум. Док је за *E. faecalis* употребљен LB медијум, а за *A. baumannii* је TSB медијум. Плоче су инкубиране током ноћи на температури од 37 °C. Медијуми су уклоњени из бунарића наредног дана, а преостали садржај је испран водом два пута. Након сушења плоче додато је по 100 μL 0.1 % воденог раствора кристал виолета у сваки бунарић и плоча је остављена на собној температури на инкубацију од 20 минута.

Након завршеног периода инкубације плоча је испрана водом и након њеног сушења додаван је апсолутни етанол да би се растворио кристал виолет који се везао за масу биофилма. За мерење укупне масе биофилма коришћен је Multiscan FC, Thermo Scientific. Вредност је добијена на основу мерења интензитета боје кристал виолет на таласној дужини од 570 nm.

Проценат инхибиције формирања биофилма у односу на нетретирану контролу израчунат је према формули (7):

$$\text{Инхибиција формирања биофилма (\%)} = 1 - \frac{A_t}{A_k} * 100, \quad (7)$$

где A_t – представља средњу вредност апсорбанце третмана, док је A_k средња вредност апсорбанце нетретиране контроле.

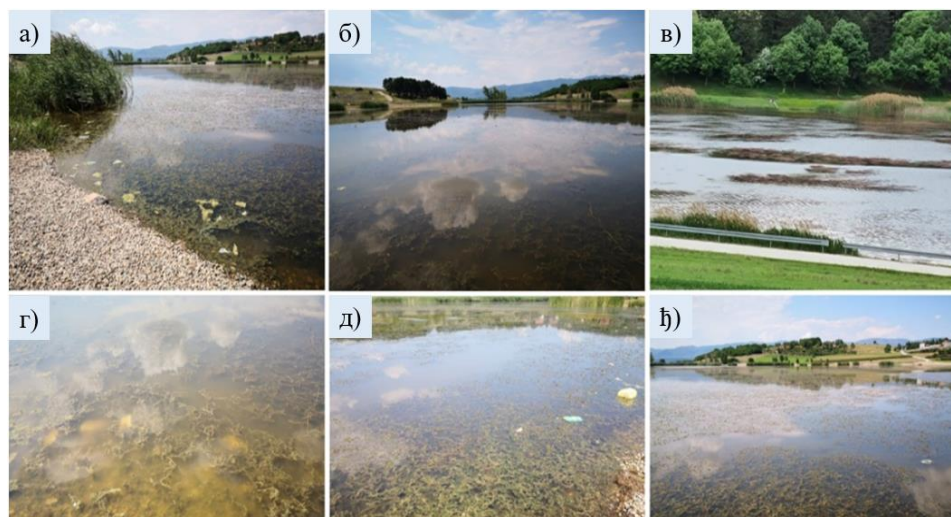
3.2.5. Физичко - хемијске карактеристике воде и биодиверзитет фитопланктона Александровачког језера

3.2.5.1. Физичко - хемијски параметри воде из Александровачког језера

Вода је узоркована са три локалитета (код бране, на централном делу језера и из плитког дела језера) и различитих дубина, како би се формирала реална слика о стању језерске воде. Вода је узоркована и испитана у августу, септембру, октобру и новембру 2017. године. Физичко - хемијски параметри воде за испитиване узорке урађени су у акредитованој лабораторији Института за јавно здравље Србије „Др Милан Јовановић Батут“. Параметри који су одређивани су: мутноћа, рН, проводљивост, амонијак, нитрити (NO_2), нитрати (NO_3), калијум перманганат (KMnO_4), растворен кисеоник (O_2), биолошка потрошња кисеоника (БПК), фосфати (PO_4), укупан фосфор (P), укупан угљеник (C) и укупан азот (N). За наведене параметре коришћене су методе следећим редом: APHA 2130 B, SRPS H.Z1. 111:1987, SRPS EN 27888:2009, SRPS H.Z1. 184:1974, VDM-523, UP-521 #, UP-506 #, SRPS ISO 25813:2009/1:2011, UP-526 #, APHA 4500-P E, APHA 4500-P B, E, UP-524 #.

3.2.5.2. Квалитативна и квантитативна анализа фитопланктона Александровачког језера

Квалитативна и квантитативна анализа фитопланктона Александровачког језера вршена је у периоду од 2020. године до 2022. године. У периоду од јануара 2020. године до децембра 2021. године вршене су месечне провере квалитета воде језера, док је у 2022. години вода узоркована у јуну и новембру. Месеци узорковања у 2022. години су одабрани на основу добијених података из мониторинга током читаве 2021. године, као репрезентативни месеци за процену стварног стање квалитета воде када је у питању присутност цијанобактерије и цијанотоксини. Визуелни изглед Александровачког језера у августу 2021. године је приказано на Слици 23.



Слика 23. Визуелни изглед Александровачког језера, август 2021. године.

Узорци воде за анализу фитопланктона узимани су са дубине од 1 m Александровачког језера. Узорци су транспортовани у кратком временском интервалу, а у року од 24 h од процеса узорковања обрађени су у лабораторији Института за јавно здравље Србије „Др Милан Јовановић Батут“. За узимање узорка воде са одређене дубине коришћена је Рутнерова хидробиолошка сонда. Основни захтев сонде за узорковање је да се сакупи репрезентативан узорак са жељене дубине. Да би се избегла контаминација водом из других слојева, узорци за квалитативну анализу фитопланктона узимани су повлачењем планктонске мреже (пречника 25 cm, 22 μ m) од дна ка површини. Сви узорци су одмах фиксирани у 4 % формалдехида. Квалитативна анализа фитопланктона заснована је на микроскопском прегледу узорка воде и идентификацији посматраних таксона. За чију идентификацију су коришћени стандардни кључеви (Huber-Pestalozzi и сар. 1983, Komárek и сар. 1998, 2005, Komárek, 2013, Krammer и сар. 1986, 1988, 1991, Starmach 1983, John и сар. 2002), док је класификација коју је представио Reynolds, 2006 коришћена за груписање врста у разделе: Cyanobacteria, Chlorophyta, Euglenophyta, Cryptophyta, Xanthophyta, Chrysophyta, Bacillariophyta, and Dinophyta.

Квантитативна анализа фитопланктона је рађена према стандардној методи SRPS EN 15204:2008.

3.2.6. Одређивање присуства цијанотоксина у води Александровачког језера

Прелиминарна испитивања везана за одређивање присуства цијанотоксина обухватала су анализу сирове воде Александровачког језера у августу, септембру, октобру и новембру 2017. године. У том периоду је рађено одређивање присуства само микроцистина (MC-RR, MC-LR и MC-YR). На основу добијених резултата даљи експерименти обухватили су утврђивање присуства микроцистина (MC-RR, MC-LR и MC-YR) и цилиндроспермопсина (CYN) у узорцима сирове воде из Александровачког језера, као репрезентативних узорка у јуну и новембру 2022. године, а затим и у априлу 2024. године. Анализе су спроведене коришћењем течне хроматографије са масеном спектрометријом (Liquid chromatography–mass spectrometry; LC–MS). LC–MS је изведен на ISQ EM масеном спектрометру (Thermo Scientific, USA) опремљеног извором за електроспреј јонизацију (ESI). Сепарација циљаних анализата постигнута је применом Dionex Ultimate 3000 LC система, опремљеног са Dionex Ultimate AS аутосемплером (Thermo Scientific, USA) и Dionex Ultimate 3000 Column комором (Thermo Scientific, USA). Chromeleon 7.2.10 (Thermo Scientific, USA) је коришћен за контролу хроматографских и масено - спектрометријских параметара и за прикупљање података. За хроматографску сепарацију коришћена је реверзна фазна хроматографска колона Acclaim Polar Advantage II, 4.6 x 150 mm 3 μ m (Thermo Scientific, USA).

3.2.7. Примена активних угљеничних материјала на узорцима воде из Александровачког језера

Последњих година, присуство цијанобактерија у водним телима постаје све већи проблем због потенцијално штетних ефеката цијанотоксина. Александровачко језеро представља једно такво водно тело где је примећена све учесталија појава цветања цијанобактерија. Да би се решио овај проблем, спроведени су експерименти коришћењем активних угљеничних материјала добијених од листа палме P_AC и плодова црне јове A_AC, као и комерцијални активни угљеник C_AC, у циљу уклањања цијанобактерија и цијанотоксина из воде језера.

Примена наведених активних угљеничних материјала испитана је на узорцима воде из Александровачког језера првобитно да се испита проценат уклањања цијанобактерија. Након тог експеримента, материјали су испитани и за уклањање цијанотоксина. У оба типа експеримената коришћена је вода из језера, како би се имао што бољи увид у њихову

потенцијалну примену у реалним условима, као и за добијање података за даљи ток истраживања.

3.2.7.1. Уклањање цијанобактерија

Параметри за одређивање адсорпционог капацитета активних угљеничних материјала P_{AC} , A_{AC} и C_{AC} који је био праћен представља просечан број цијанобактерија пре и након третмана. Адсорпциони капацитет наведених материјала анализиран је на узорцима воде из Александровачког језера узоркованих током различитих месеци и године, као репрезентативних. Сви узорци воде су фиксирани са 35 % формалдехидом. Квантитативна анализа је урађена стандардном методом (SRPS EN 15204: 2008) Utermöhl (1958) у лабораторији Института за јавно здравље Србије „Др Милан Јовановић Батут“, коришћењем Zeiss Axio Observer.Z1 инвертног светлосног микроскопа.

3.2.7.1.1. Адсорпциони капацитет P_{AC} , A_{AC} и C_{AC} у зависности од времена

Експерименти су урађени на узорку воде Александровачког језера из августа 2021. године. Из истог узорка воде издвојени су узорци воде за анализу пре и након третмана активним угљеничним материјалима P_{AC} , A_{AC} и C_{AC} . Један од њих је била сирова вода где је анализирана бројност цијанобактерија пре третмана. Затим, одвојено је по осам узорака од 25 mL воде за испитивање материјала P_{AC} , A_{AC} и C_{AC} .

Узорци су били подељени у серије које су биле на механичкој мешалици при брзини од 110 rpm током различитих временских интервала (15 min, 30 min, 1 h, 2 h, 4 h, 8 h, 12 h и 24 h). У сваки узорак је стављено 0.25 g одређеног материјала. Након третмана узорци су филтрирани кроз спори филтер папир (поре величине 2 до 3 μm).

Експериментални резултати су даље анализирани различитим кинетичким моделима да би се објаснила кинетика уклањања цијанобактерија. Коришћена су три кинетичка модела, псеудо - I, псеудо - II и Elovich модел. Примењени су кинетички модели на основу следећих једначина (Lorićić и сар. 2017) (8)-(10):

Псеудо - I модел

$$q_t = q_e(1 - e^{-k_1 t}) \quad (8)$$

Псеудо - II модел

$$q_t = \frac{t}{\left(\frac{1}{k_2 q_e^2}\right) + \left(\frac{t}{q_e}\right)} \quad (9)$$

Elovich модел

$$q_t = \frac{1}{b} \ln(ab) + \frac{1}{b} \ln t \quad (10)$$

где су:

- q_e (ћел./mg): адсорпциони капацитет у равнотежи,
- q_t (ћел./mg) капацитет адсорпције у времену t ,
- k_1 (min^{-1}): константа псеудо I реда,
- k_2 (mg/ћелија/min): константа псеудо II реда,
- a (ћел./g/min): почетни степен адсорпције,
- b (g/ћел.): степен покривености површине.

3.2.7.1.2. Адсорпциони капацитет материјала A_AC

За даља истраживања одабран је само активни угљенични материјал добијен од плода црне јове A_AC, јер су остали активни угљеници показали присуство одређених недостатака, што ће детаљно бити образложено у оквиру поглавља Резултати и дискусија. На одабраном материјалу A_AC урађен је експеримент одређивања оптималне масе материјала A_AC за третман узорака воде Александровачког језера из јуна 2022. године. Да би се одредила оптимална количина материјала неопходна за уклањање високог процента цијанобактерија урађен је експеримент применом различитих маса A_AC (10, 20, 35, 50, 75, 100, 150, 200 и 250 mg) током контактнoг времена од 30 минута у 25, 250, 500, 750 и 1,000 mL воде.

3.2.7.1.3. Механизам уклањања цијанобактерија помоћу A_AC

Узорци активног угљеника A_AC пре и после третмана воде су анализирани коришћењем Thermo Fisher Scientific FTIR IS-50 спектрометра. За припрему узорака коришћена је техника пресоване KBr пастиле, где је 0.2 mg узорка помешано са 80 mg KBr. Спектри су снимљени у опсегу од 4,000 до 400 cm^{-1} , коришћењем 64 скенирања и резолуцијом од 2 cm^{-1} . Након снимања спектра, спроведене су две корекције: аутоматска корекција основне линије и атмосферска супресија, чиме су обезбеђени тачни и поуздани резултати.

3.2.7.2. Уклањање цијанотоксина

У 1,000 mL узорковане сирове воде из Александровачког језера у јуну 2022. године (присуство цијанотоксина у сировој води није детектовано) убачен је вештачки 1 mL микроцистина (MC-RR, MC-LR и MC-YR) тачно одређених концентрација. За испитивање уклањања вештачки унесених форми наведених микроцистина из сирове воде Александровачког језера издвојено је 8 узорака воде од по 1,000 mL и примењен материјал A_AC у количинама 10, 20, 35, 50, 75, 100, 150, 200 и 250 mg, редом, са контактним временом од 30 минута на механичкој мешалици при брзини од 110 rpm.

У циљу потврде добијених резултата уклањања цијанотоксина узорак је вода у новембру 2022. године. Међутим, у сировом узорку воде је детектовано присуство микроцистина и цилиндроспермопсина, због чега је експеримент настављен третманом 40 mg A_AC у 1,000 mL сирове воде током 30 min при брзини од 110 rpm коришћењем механичке мешалице.

Са циљем што бољег разумевања механизма адсорпције микроцистина на узорцима A_AC и потврде резултата уклањања високих концентрација микроцистина, урађен је експеримент у априлу 2024. године. Анализа адсорпције микроцистина из сирове воде језера у коју су вештачки убачене тачне концентрације микроцистина (MC-RR, MC-LR и MC-YR) извршена је након примене 35 mg/L и 40 mg/L материјала током 30 минута мешања на механичкој мешалици. Након тога, узорци воде су профильтрирани кроз ултра брзи филтер папир (величина пора 20 до 25 μm) и материјал је сачуван за даљу анализу.

Анализе су спроведене коришћењем течне хроматографије са масеном спектрометријом (Liquid chromatography–mass spectrometry; LC–MS), као што је детаљно наведено у поглављу 4.6.

3.2.7.2.1. Адсорпциони капацитет материјала A_AC за уклањање микроцистина

Адсорпциони капацитет (Q_e) A_AC за адсорпцију микроцистина је процењен на основу следеће једначине (Zeng и Kan 2021) (11):

$$Q_e = \frac{(C_i - C_e) \times V}{W} \quad (11)$$

где C_i и C_e представљају почетну концентрацију и након третмана микроцистина (MC-RR, MC-LR, and MC-YR) (mg/L), V је запремина раствора (L) и W је маса A_AC (mg).

3.2.7.2.2. Механизам адсорпције микроцистина на A_AC

Анализирани су узорци активног угљеника A_AC пре и после третмана воде коришћењем Thermo Fisher Scientific FTIR IS-50 спектрометра. Детаљна метода је објашњена у потпоглављу 4.7.1.3.

3.2.8. Статистичка анализа

Резултати добијени у МТТ тесту, као и приликом испитивања антибиофилм ефекта су анализирани коришћењем GraphPad Prism 6.01 софтвера (Software, Inc) и применом једносмерне ANOVA са Dunnet и Tukey пост-хок тестовима; ниво значајности је постављен на * $p < 0.05$. Подаци добијени у алкалном Комет тесту анализирани су коришћењем софтвера Statistica 7.0 (StatSoft, Inc), применом непараметарског Mann–Whitney U теста. Ниво значајности је постављен на * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

4. Резултати и дискусија

4.1. Физичко - хемијска карактеризација материјала

4.1.1. Лигноцелулозни састав прекурсора

Састав лигноцелулозе у различитим биљним материјалима игра кључну улогу у одређивању њихових карактеристика и потенцијалне примене. У том контексту, испитиван је састав лигноцелулозе сирових узорака као прекурсора. Ова анализа је имала за циљ да се одреди садржај лигнина, хемицелулозе и целулозе у прекурсорима и истражи њихов потенцијал за производњу активних угљеничних материјала.

Анализиран је састав лигноцелулозе сирових узорака стабљике листа палме (P_RS) и плодова црне јове (A_RS), а резултати су приказани у Табели 20. Вредности су изражене као проценат апсолутне средње масе материјала (теж.%, суво) и аритметичке средње заступљености у процентима у три понављања.

Табела 7. Лигноцелулозни састав прекурсора.

Компонента [%]	A_RS**	P_RS**	Метода
Влага *	10.53 ± 0.37	7.94 ± 0.20	T 264 cm-97
Целулоза	19.08 ± 0.14	25.06 ± 0.63	Kurschner-Hoffer metoda
Лигнин	29.63 ± 0.87	7.93 ± 0.42	
Екстрактиви у врућој води	28.65 ± 1.14	48.66 ± 0.04	T 207 cm-99, ASTM D1110-84
Екстрактива у смеши толул/етанол	9.7 ± 0.59	12.53 ± 1.02	ASTM D1107-96
Пепео (900 °C)	2.70 ± 0.04	4.51 ± 0.21	T 413 om-93
Хемицелулоза (допуна до 100 %)	10.67	1.31	

*(теж.%, суво)

** са ст. дев. (±)

Према Ukanwa и сар. (2019), просечна биомаса лигноцелулозе садржи у просеку 10 - 30 % лигнина. У случају сирових узорака листа палме, садржај лигнина је веома низак и износи само 7.9 %. С друге стране, узорци црне јове су показали знатно већи садржај лигнина од 29.6 %. Ови подаци указују на значајне варијације у садржају лигнина између ова два прекурсора. Оба узорка показала су релативно висок садржај екстракта у врућој води, при чему је стабљика листа палме показала посебно високу вредност од 48.66 %. Ово се може приписати растворљивости хемицелулоза у води (Bendahou и сар. 2007). Вреди напоменути да се резултати добијени за лист палме разликују од оних приказани у студијама које су спровели Bendahou и сар. (2007) и Alotaibi и сар. (2019), где су приказане генерално веће вредности. Ове варијације у садржају лигноцелулозне биомасе у стабљикама листа палме могу се приписати разликама у земљишту, као и климатским условима у којима расту, што је наведено код Alotaibi и сар. (2019).

Резултати добијени за црну јову су у складу са резултатима које су објавили Mokrzycki и сар. (2020), што се може приписати сличним климатским условима. Црна јова има већи садржај лигноцелулозе у поређењу са стабљикама листова палме, што је чини погоднијим прекурсором за производњу активних угљеника.

Анализа лигноцелулозног састава прекурсора палме и црне јове показала је варијације у садржају лигнина и истакла значај растворљивости хемицелулозе. Разлике у садржају лигноцелулозне биомасе могу се приписати условима животне средине, а састав лигноцелулозних компоненти игра кључну улогу у одређивању карактеристика и потенцијалне примене активних угљеника добијених из њих.

4.1.2. Одређивање приноса материјала након процеса карбонизације и активације

Принос након процеса активације је важан аспект који треба узети у обзир приликом процене ефикасности карбонизације и техника активације у производњи активних угљеничних материјала. Принос, представљен процентом губитка масе током сагоревања сирових узорка, пружа увид у трансформацију органских компоненти у угљеничне материјале и наглашава утицај процеса активације на укупан принос. Проценти губитка масе сирових узорка листа палме и плода црне јове након фаза карбонизације и активације приказани су у Табели 8.

Табела 8. Принос након процеса карбонизације и активације.

Прекурсор	Губитак масе		Принос након активације
	Након карбонизације	Након активације	
Палма (P_RS)	47.0 %	63.5 %	36.5 %
Црна јова (A_RS)	38.2 %	75.3 %	24.7 %

Утврђено је да су проценти губитка масе сирових узорка током сагоревања након фазе карбонизације 47.0 % за стабљику листа палме и 38.2 % за црну јову. Фаза карбонизације је суштински процес који претвара органски лигнин и целулозу присутне у сировим узорцима у угљеничне материјале, док истовремено смањује садржај воде, кисеоника, водоника, сумпора и других елемената.

Након фазе карбонизације, узорци су прошли процес активације. Током ове фазе, дошло је до додатног губитка масе, што је резултирало даљим смањењем укупне тежине узорка. Укупни проценти губитка масе током сагоревања сирових узорка након активације су измерени на 63.5 % за стабљику листа палме и 75.3 % за плодове црне јове.

Резултујуће вредности губитка масе после процеса активације биле су 36.5 % за стабљику листа палме и 24.7 % за плодове црне јове. Ове вредности указују да је процес активације довео до смањења губитка масе у поређењу са сагоревањем након фазе карбонизације.

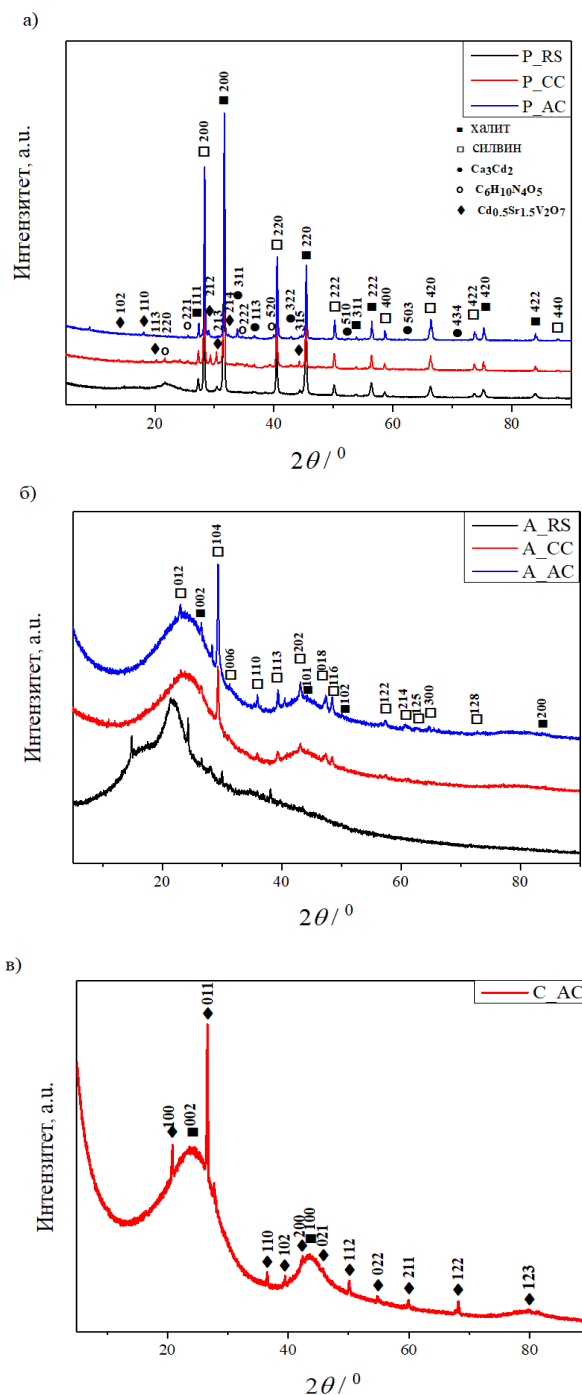
Експериментални резултати показују значајну трансформацију која се дешава током фаза карбонизације и активације. Ови процеси ефикасно претварају органске компоненте у материјале који садрже угљеник уз уклањање различитих елемената и смањење укупне масе узорка. Добијене вредности након процеса активације указују да су постигнути жељени циљеви карбонизације и активације, што је довело до производње активних угљеничних материјала са очекиваним карактеристикама.

4.1.3. Рендгенска дифракциона анализа (XRD)

Рендгенски спектри узорка сирове стабљике палминог листа (P_RS), карбонизовани (P_CC) и активирани (P_AC) приказани на Слици 24а. указују на вишефазни састав сва три материјала. Сви уски врхови високог интензитета припадају минералима: халиту (натријум хлорид, ICSD No. 60280) и силвину (калијум хлорид, ICSD No. 154214). Остали пикови ниског интензитета припадају Ca_3Cd_2 (калцијум кадмијум, ICSD No. 30082) и $\text{Cd}_{0.5}\text{Sr}_{1.5}\text{V}_2\text{O}_7$ (стронцијум кадмијум диванадат, ICSD No. 39806). Дифрактограми праха нису показали све Милерове индексе за графит (угљеник, ICSD No. 617290) и целулозу ($\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$, CSD No. JINROO01), због преклапања њихових рефлексија. Анализом XRD спектра уочено је да најзаступљенији пикови припадају минералима халита и силвина (Alotaibi и сар. 2019). Највероватније њихово присуство је последица узорковања у приобалној зони.

Штавише, присуство Ca_3Cd_2 и $\text{Cd}_{0.5}\text{Sr}_{1.5}\text{V}_2\text{O}_7$ упућује на регион из којег је узоркован материјал, па је њихово присуство очекивано (Yaciuk и сар. 2021, ATSDR 2021, C3O 2003).

Пикови који одговарају присуству кристалне структуре целулозе, примећени су на 13.806° , 21.799° и 25.799° и приписани садржају целулозе (Тејада и сар. 2017).



Слика 24. XRD спектри: а) сирови (P_RS), карбонизовани (P_CC) и активирани (P_AC) узорци стабљике палминог листа; б) сирови (A_RS), карбонизовани (A_CC) и активирани (A_AC) плодови црне јове и в) комерцијални активни угљеник (C_AC).

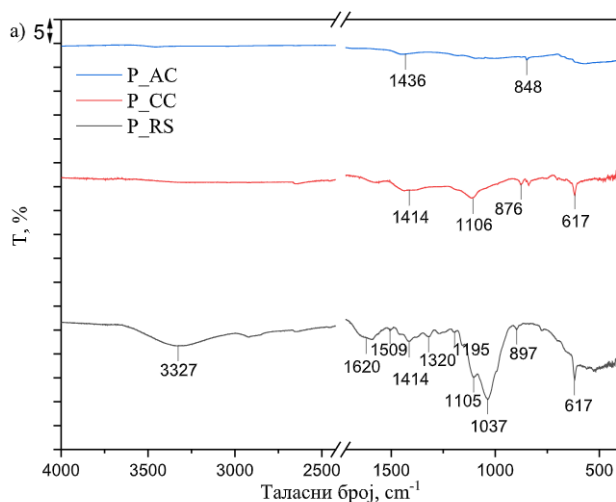
XRD спектри узорака сировог плода црне јове (A_RS), карбонизованог (A_CC) и активiranог (A_AC) приказани су на Слици 24б. Са Слике 24б се може приметити да је присуство аморфне фазе у свим узорцима значајно веће него у узорцима приказаним на Слици 24а. XRD спектри

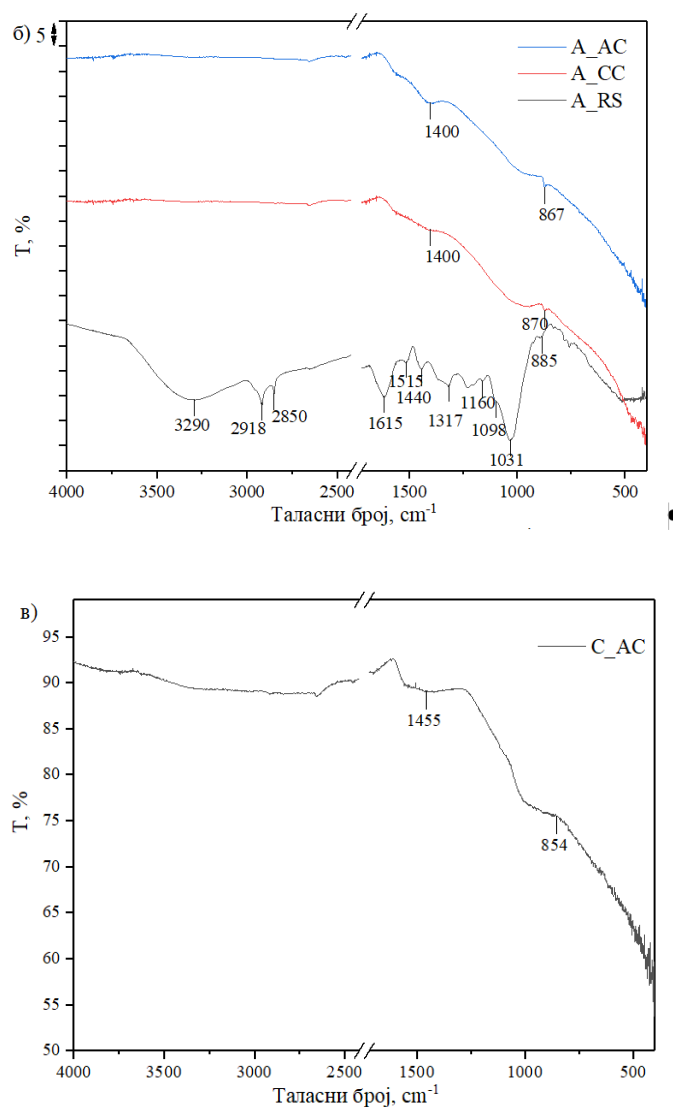
одражавају присуство две фазе графита и калцита у свим сировим, карбонизованим и активираним узорцима црне јове. Прво, дифракциони врхови који се налазе на 25.689° и 42.214° су слаби и растегнути, што указује на малу величину зрна, а облик зрна није био потпун; даље, припадају графиту са Милеровим индексима (002) и (100) (ICSD No. 617290). Широки врхови графита указују на слабу кристалну структуру (Alabadi и сар. 2015). Указују на присуство угљеника типа графита, који се сматра турбостратичним графитним угљеником (Athinarayanan и сар. 2019, Dodevski и сар. 2017). Друго, постоје уски пикови ниског интензитета, који су карактеристични за присуство CaCO_3 (калцијум карбонат; калцит; ICSD No. 158258) и означавају његову добру кристализацију структуре и малу величину честица. Калцијум - карбонат је обично присутан у биљкама, што објашњава његово присуство у сировим узорцима (A_RS). С друге стране, повећање интензитета пикова је карактеристично за калцит у A_CC и A_AC у односу на сирови узорак, што је последица карбонизације и активације услед процеса пиролизе угљеничног материјала из биомасе што доводи до бољег уређења кристалне решетке калцита (Veličković и сар. 2021, Etiégni и Campbell. 1991).

У сврху поређења, анализиран је комерцијални активни угљеник на бази кокоса (C_AC) (Слика 24в). Широки и слаби дифракциони врхови припадају графиту. Штавише, постоји неколико пикова са упадљивим интензитетом, који су карактеристични за присуство SiO_2 (силицијум оксид, ICSD No. 174). На основу XRD анализе утврђено је да је у комерцијалном узорку присутан и кварц.

4.1.4. Инфрацрвена спектроскопија с Фуриеровом трансформацијом (FTIR)

Резултати FTIR анализе узорака сирове стабљике палминог листа (P_RS) и плодова црне јове (A_RS), у карбонизованом (P_CC и A_CC) и активираним облику (P_AC и A_AC), као и комерцијалног узорка активног угљеника (C_AC) приказани су на Слици 25.





Слика 25. FTIR спектри: а) сирови (P_RS), карбонизовани (P_CC) и активирани (P_AC) узорци стабљике палминог листа; б) сирови (A_RS), карбонизовани (A_CC) и активирани (A_AC) плодови црне јове и в) комерцијални активни угљеник (C_AC).

Као што се може видети на Слици 25, оба сирова узорка, P_RS и A_RS, имају веома сличне FTIR спектре у којима су доминантне траке карактеристичне за главне компоненте (целулозу, лигнин и хемицелулозу). За сирову палму (P_RS) позиције спектралних трака карактеристичне за лигнин су: 1,620 и 1,509 cm^{-1} које потичу од ароматичних скелетних вибрација, 1,414 cm^{-1} услед деформације C-H и 1,320 cm^{-1} карактеристичних за сингил и гвајацил прстен (Zhou и сар. 2011). За сиров узорак црне јове (A_RS), исте спектралне траке су такође откривене, али мало померене у позицијама: 1,615, 1,515, 1,440 и 1,317 cm^{-1} . За целулозу у узорку P_RS је видљива спектрална трака на 3327 cm^{-1} која је карактеристична за растезну вибрацију O-H веза у полисахаридима. Пик је карактеристичан за вибрацију истезања хидроксилне групе у полисахаридима и укључује такође вибрације међу- и интрамолекуларне водоничне везе у целулози.

Трака на $1,105\text{ cm}^{-1}$ може се приписати вибрацији истезања прстена глукозе, док се трака на 897 cm^{-1} може приписати вибрацијама у аморфном региону у целулози. За целулозу су такође карактеристичне траке на $1,620$ и $1,414\text{ cm}^{-1}$ које се преклапају са тракама лигнита и које потичу од вибрација молекула воде апсорбованих у целулози и вибрација у кристалној структури целулозе (Cheng и сар. 2016, Hospodarova и сар. 2018). За узорак A_RS исте спектралне траке су детектоване за целулозу, али благо померене у позицијама: $3,290$, $1,615$, $1,440$, $1,098$ и 885 cm^{-1} . Такође, за узорак A_RS су видљиве две додатне спектралне траке на $2,918$ и $2,850\text{ cm}^{-1}$ које се могу приписати СН истезним вибрацијама у целулози (Hospodarova и сар. 2018). Спектар хемицелулозе је сличан спектру целулозе због њихове структурне сличности, а скоро све спектралне траке карактеристичне за хемицелулозу се преклапају са онима које потичу од целулозе. Спектрални опсег на $1,037\text{ cm}^{-1}$ за P_RS и $1,031\text{ cm}^{-1}$ за A_RS су само доказ присуства хемицелулозе и приписују се C–O, C–C истезању или C–OH савијању у ксилану (Raspolli Galletti и сар. 2015).

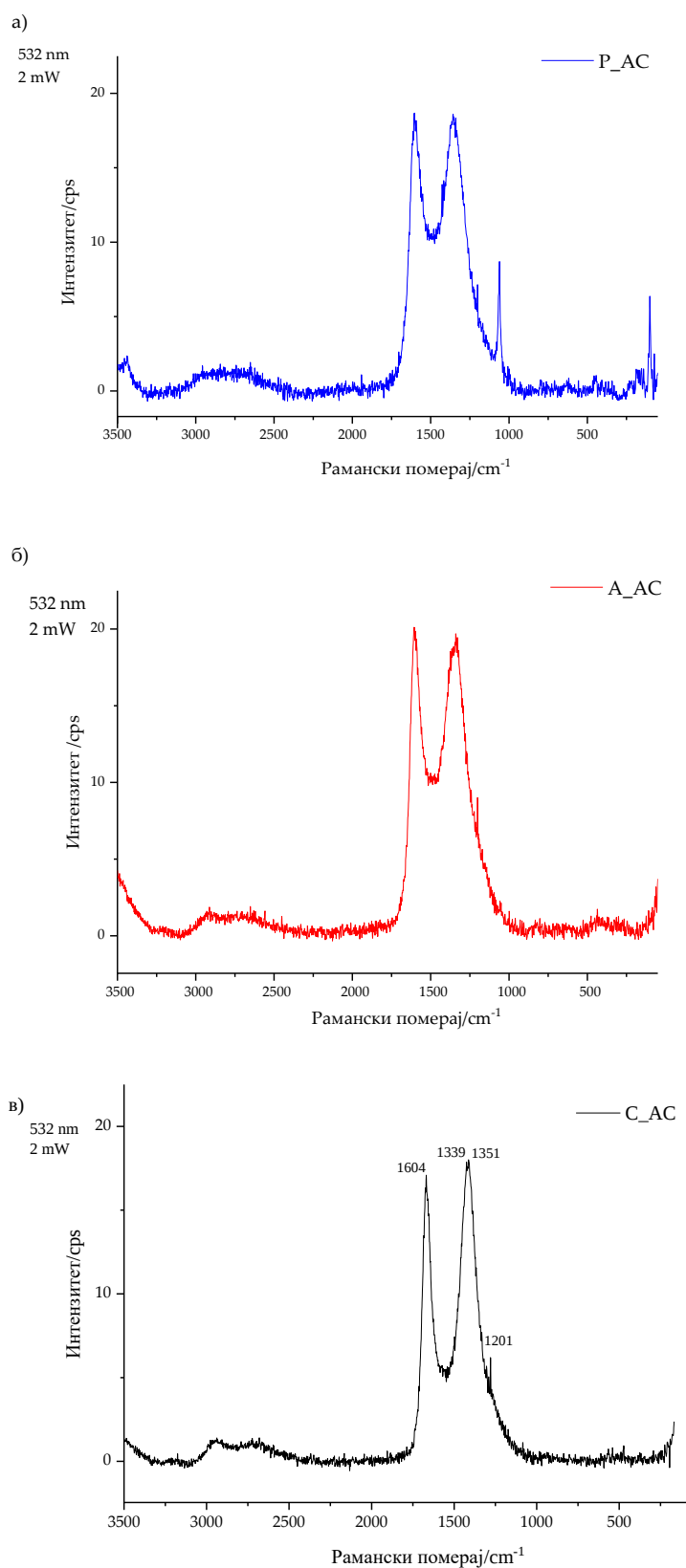
Спектар NaCl детектован XRD у узорку P_RS карактерише се тракама на око $1,100$ и $1,600\text{ cm}^{-1}$ (NIST Chemistry WebBook, SRD 69, 2021). Међутим, ове траке нису детектоване у спектру P_RS због њиховог преклапања са другим спектралним опсегом. С друге стране, KCl и графит не поседују карактеристичне спектралне траке у испитиваном опсегу таласних бројева јаким интензитета, тако да се не би могли детектовати у FTIR спектрима сирових узорака P_RS и A_RS (Bera и сар. 2018, RRUFF 2021).

Након термичке обраде на $750\text{ }^{\circ}\text{C}$ за оба узорка (P_CC и A_CC) приметно је да постоји значајан губитак спектралних трака, а видљиво је само неколико трака изведених од целулозе и/или лигнина које су истовремено значајно смањене у њиховом интензитету шта је јасан показатељ успешног процеса карбонизације. Након додатног термичког третмана и активације са CO_2 (P_AC и A_AC), услед реакције угљеника са CO_2 детектовано је даље смањење интензитета спектралних опсега за оба узорка и само траке у регионима $1400\text{--}1450\text{ cm}^{-1}$ које су настале услед присуства и детектоване су вибрације ароматичних C=C група и $840\text{--}870\text{ cm}^{-1}$ вибрација савијања C–H веза у високом степену супституције ароматичних прстенова. Сличност ових спектра са онима за комерцијални активни угљеник (C_AC) указује да је процес активације успешно обављен (Chafidz и сар. 2018, Zhang и сар. 2018).

4.1.5. Раманска спектроскопија

Резултати анализе Раманске спектроскопије узорака у активiranом облику: стабљике палминог листа (P_AC) и плодова црне јове (A_AC), као и узорка комерцијалног активног угљеника (C_AC) приказани су на Слици 26.

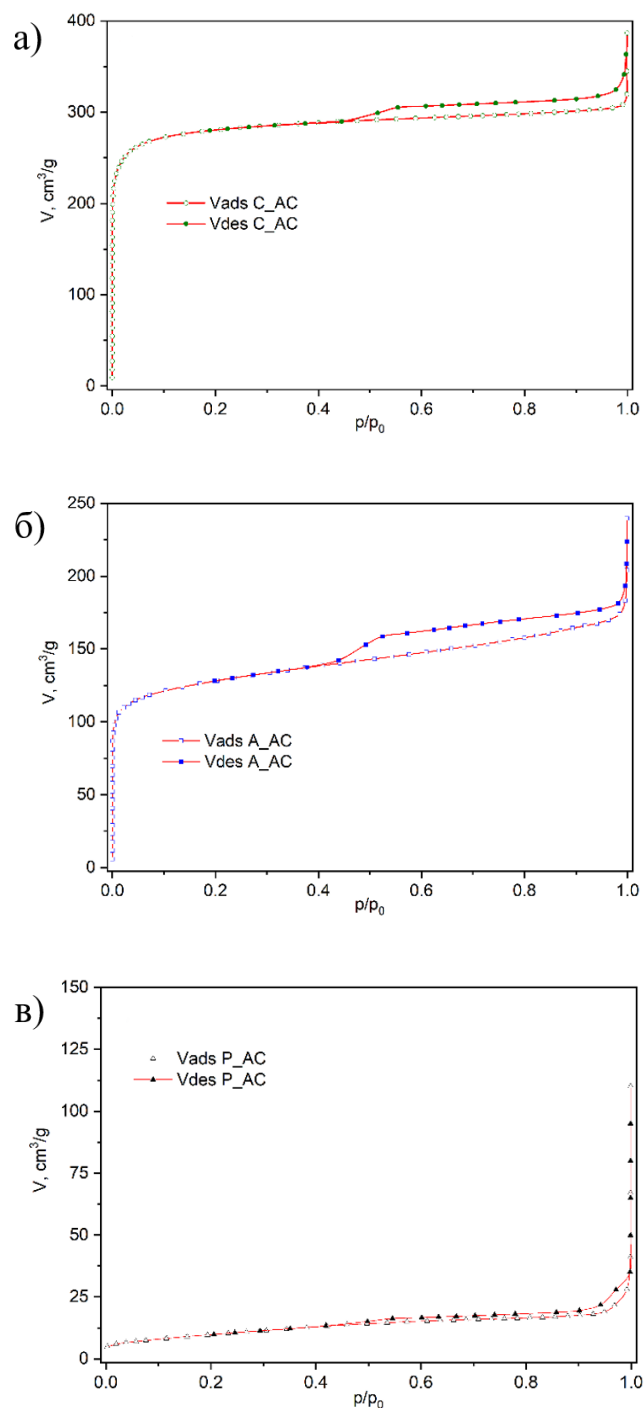
Код материјала добијеног од листа пламе (P_AC), примећени су пикови на $1,604$, $1,357$, $1,060\text{ cm}^{-1}$ и један пик који је карактеристичан за Раман на 101 cm^{-1} . Код материјала добијеног о плода црне јове (A_AC) уочљиви су пикови на $1,606$, $1,340$ и $1,201\text{ cm}^{-1}$. На узорку комерцијалног активног угљеника могу се уочити пикови на $1,604$, $1,351$, $1,339$ и $1,201\text{ cm}^{-1}$. На Рамановим спектрима за сва три узорка активног угљеника две траке су јасно уочене D трака на $\sim 1,340\text{ cm}^{-1}$, што одговара неуређеној структури угљеника и G трака на $\sim 1,600\text{ cm}^{-1}$, што је везано за графитну структуру угљеника (Wanprakhon и сар. 2022).



Слика 26. Рамански спектри активних угљеничних материјала: а) P_AC, б) A_AC и в) C_AC.

4.1.6. Испитивање специфичне површине и расподеле пора активних угљева

Изотерме адсорпције/десорпције азота активних угљеника добијених од листа пламе (P_AC), црне јове (A_AC), као и комерцијалног активног угљеника (C_AC) мерене су на -196°C . Изотерме су приказане на Слици 27, док су одговарајући израчунати текстурни параметри приказани у Табели 9.



Слика 27. Изотерма адсорпције-десорпције N_2 активираних узорака: а) P_AC, б) A_AC и в) C_AC.

Имајући у виду IUPAC класификацију (Thommes и сар. 2015), изотерма C_AC приказана на Слици 27а је слична изотерми N₂ физикалне сортирања типа I, карактеристична за микропорозне узорке. Велика запремина адсорпције у кратком $p/p_0 < 0.1$ региону, потврђује високо развијену микропорозност, као и код многих других угљеника (Ma и сар. 2002, Којита и сар. 2013, Kyotani и сар. 2003, Su и сар. 2005, Yang и сар. 2007). Изотерма активног угљеника добијена од плода црне јове, приказана на Слици 27б, има мешовити карактер. Заиста, поред очигледног доприноса микропорозног дела у области малих p/p_0 вредности, јасно присуство изотермног нагиба у области релативних притисака изнад 0.2 и постојање петље хистерезе указују на постојање мезопорозног система у материјалу. Одсуство хоризонталног платоа у области виших вредности релативних притисака искључује изотерму типа IV, па је резултујући облик изотерме A_AC материјала типа I модификован доприносом својстава карактеристичних за тип II (макропорозни или непорозни материјали). С друге стране, изотерма активног угљеника из палминог листа приказана на Слици 27в заједно са релативно малим вредностима V_{tot} и $S_{вет}$ открива изотерму типа II, са карактеристикама за слабопорозне и непорозне узорке. Хистерезис у области релативног опсега притиска $p/p_0 > 0.4$ иначе није неуобичајена; у ствари, очекивано се јавља у већини материјала које карактерише физисорпција азота. Постојање петље у овој области указује на присуство система пора унутар честица (интрачестична порозност) и/или шупљина између слабо везаних агрегата честица (интерчестична порозност).

Анализирајући резултате за комерцијални активни угљеник, добијена вредност $S_{вет}$ прелази 1,100 m²/g. Међутим, понекад ова вредност може бити значајно прецењена, јер капиларна кондензација у микропорама може да почне пре формирања монослоја N₂, што генерално квари процену специфичне површине помоћу ВЕТ једначине (понекад је већа од теоријске вредности). Због тога смо користили α_c -анализу и открили да нема значајнијег одступања у вредности специфичне површине. То значи да је количина азота упакованог унутар адсорбованог монослоја иста као вредност процењена БЕТ једначином. Поред тога, пошто су различите методе (t-плот методе, DR-метода и НК метода) дале међусобно упоредиве, високе вредности запремине микропора комерцијалног активног угљеника, у распону од 0.42-0.44 cm³/g. На основу ових податак може се закључити да је узорак претежно микропорозан.

Табела 9. Текстурне карактеристике активних угљеничних материјала коришћењем различитих метода прорачуна.

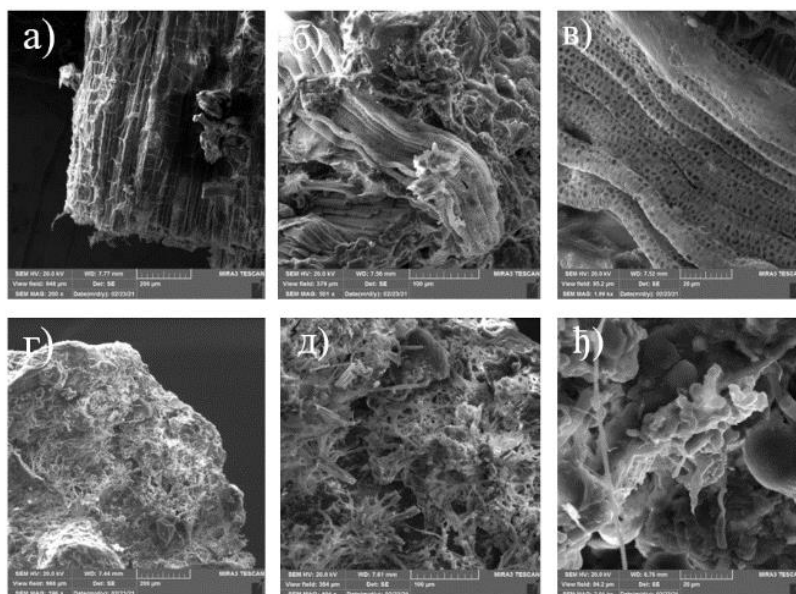
		C_AC	P_AC	A_AC
Специфична површина (Brunauer-Emmett-Teller), Journal of the American Chemical Society. 60 (2): 309–319	C	1292	52	1287
	S, m ² g ⁻¹	1100	36.6	485
t-Plot (Lippens and de Boer); стандардне изотерме из литературе: A.Lecloux, J.P.Pirard, J. Colloid Interface Sci. 70,(2) 1979	Укупна површина, m ² g ⁻¹	1105	36.1	446
	Запремина микропора, cm ³ g ⁻¹	0.457	0.023	0.240
	Површина мезопора, m ² g ⁻¹	6.3	3.4	10.4
Запремина микропора (Dubinin and Raduskevich), cm ³ g ⁻¹		0.422	0.012	0.186
Микропоре (Horvath and Kawazoe), са потенцијалном функцијом @77.3 K из литературе: G. Horvath, K. Kawazoe, J. Chem. Eng. Japan, 16, 6(1983), 470-475	Максимални пречник пора, nm	0.48	-	0.48
	Укупна запремина пора, cm ³ g ⁻¹	0.431	-	0.195
Волумен мезопоре, cm ³ g ⁻¹	адсорпциона грана изотерме	0.057	0.022	0.097
	десорпциона грана изотерме	0.099	0.029	0.125
Укупан волумен пора (Gurvich), cm ³ g ⁻¹	$p/p_0 = 0.98$	0.474	0.038	0.268

Међутим, анализирајући резултате за активни угљеник добијен од палминог листа, као и од плода црне јове, ситуација је нешто другачија. Добијена вредност $S_{вет}$ за активни угљеник добијен из стабљике палминог листа је 36.6 m²/g, док је та вредност за активни угљеник добијен од плода црне јове 485 m²/g. Као што се може видети, ради се о узорцима потпуно различитих

текстурних својстава. Узорак А_АС има вредност $S_{\text{ВЕТ}}$ која је више него двоструко мања од вредности за узорак С_АС. Међутим, упоређујући вредност специфичне површине за А_АС, запажено је да нема значајних одступања у вредностима специфичне површине добијене ВЕТ методом. Занимљиво је да овај узорак, поред микропора, показује присуство мезопора у одређеном проценту. Наиме, према резултатима приказаним у Табели 9, узорак показује вредност мезопорозне површине у износу од $10.4 \text{ m}^2/\text{g}$ и $36.1 \text{ m}^2/\text{g}$ утврђеног t - графиком. Применом различитих метода (DR метода и НК метода) добијене су међусобно упоредиве вредности запремине микропора у распону од $0.19\text{--}0.21 \text{ cm}^3/\text{g}$, док је запремина мезопора одређена ВЈН и ДН методама износила $0.097 \text{ cm}^3/\text{g}$ и $0.125 \text{ cm}^3/\text{g}$.

4.1.7. Скенирајућа електронска микроскопија високе резолуције (FESEM)

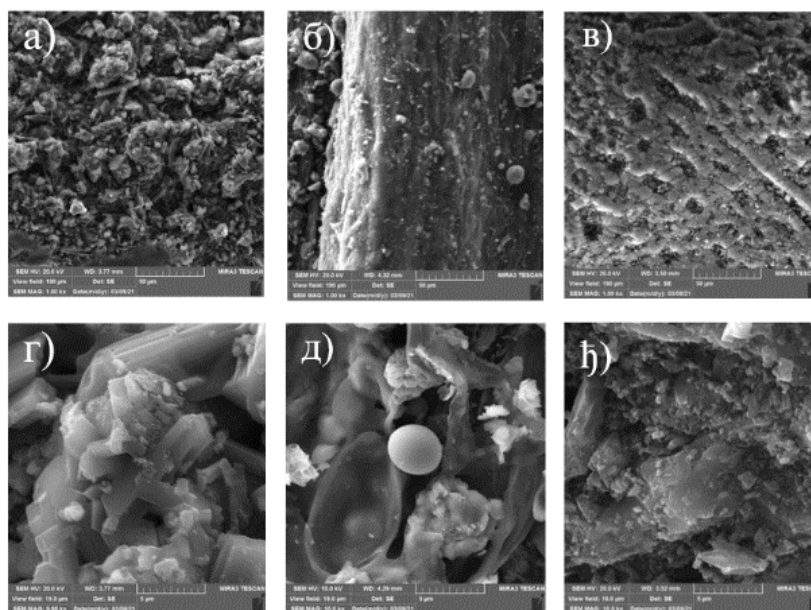
Скенирајућа електронска микроскопија високе резолуције коришћена је за анализу сирових и активираних узорака. Микрографије сирових и активираних узорака приказане су на Сликама 28. и 29. На Слици 28. приказане су FE-SEM микрографије сирових узорака стабљике листа палме (P_RS) и плодова црне јове (A_RS) при различитим увећањима. Као што се може видети, видљиве су значајне разлике у морфолошким особинама испитиваних узорака. За узорак P_RS видљиво је доминантно присуство фиброзних структура. У литератури је таква структура описана за узорке код којих у структури доминира целулоза, са одређеним процентом хемицелулозе (Fasake и Dashora 2020, Li и сар. 2020). Ово је очекивано за овај узорак, јер су резултати одређивања састава лигноцелулозе (Табела 7) показали доминантно присуство целулозе са хемицелулозом (укупно 26 %).



Слика 28. FE-SEM микрографије при различитим увећањима: P_RS (а) 200 x, (б) 500 x, (в) 2 kx; A_RS (г) 200 x, (д) 500 x и (ђ) 2 kx.

За узорке А_RS (Слике 28д - 28ф) видљива је значајна различита морфологија. На површини овог узорка поред влакнастих структура карактеристичних за целулозу и хемицелулозу, у значајној мери су присутне и микросфере и микроплоче, које су хомогено дисперговане на посматраној површини површине. Према Meng и сар. 2019, овакве невлакнасте структуре су карактеристичне за лигнин, а морфологија се може објаснити знатно већим садржајем лигнина у овом узорку (30 %; Табела 7), који је био једнак садржају целулозе и хемицелулоза (30 % укупно; Табела 7). Структура карактеристична за лигнин није била доминантно видљива у

узорку сировог палминог листа због значајно нижег садржаја лигнина у том узорку (7.9 %, Табела 7). Узорци активних угљеничних материјала стабљике листа палме (P_AC) и плода црне јове (A_AC), као и комерцијалниг активног угљеника (C_AC) при различитим увећањима приказани су на Слици 29. Са Слика 29а и 29б, јасно је да је након процеса карбонизације и активације морфологија оба узорка значајно промењена у поређењу са сировим узорцима. Наиме, услед карбонизације, органски лигнин и целулоза су претворени у угљеничне материјале. Као последица тог процеса долази до смањења количине воде, кисеоника, водоника, сумпора и других елемената и такве реакције олакшавају накнадне реакције активације (Gap и сар. 2021). Након процеса физичке активације са CO₂ на површинама оба активна угљеника, видљиве су неправилно распоређене плоче различитог облика, између којих се могу уочити канали и шупљине различитих величина и облика. Подаци из литературе Sun и сар. 2020 су показали да CO₂ омогућава овим узорцима формирање порозног материјала са ароматичном структуром. Поред тога, литературни подаци Sun и сар. 2020 такође показују могуће промене поларитета и киселости површине угљеника, што обезбеђује веће густине функционалних група на површини активних угљеника. Формирање функционалних група на површини активних угљеника је у складу са FTIR резултатима за оба узорка и указује на могућност даљег тумачења детаљног механизма уклањања цијанобактерија.



Слика 29. FE-SEM микрографије при различитим увећањима: P_AC (a) 1 кх, (б) 10 кх; A_AC (в) 1 кх, (г) 10 кх; C_ AC (д) 1 кх и (ђ) 10 кх.

С друге стране, као што се може видети на слици 29в, површина комерцијалног активног угљеника је глатка са добро распоређеним порима и структурама шупљина. Неке честице веома малих димензија су расуте по површини комерцијалног активног угљеника, што је описано у литератури за комерцијални активни угљеник и приписује се процесу хемијске активације (Pui и сар. 2019). Са Слика 29а и 29б је такође јасно да се површине активних угљеника добијених од палминог листа и црне јове добијених физичком активацијом значајно разликују од површине комерцијалног активног угљеника. Разлог за то могу бити различити процеси активација, конкретно комерцијални активни угљеник се добија процесом хемијске активације, док се активни угљенични материјали P_AC и A_AC добијају физичком активацијом.

4.2. Испитивање утицаја активних угљеничних материјала на здравље људи и животну средину

4.2.1. Концентрација потенцијално токсичних елемената у води након третмана

Концентрације потенцијално токсичних елемената у узорку дестиловане воде одређена је након 24 h третмана са активним угљеничним материјалима P_AC, A_AC и C_AC. Резултати анализе воде након третмана приказани су у Табели 10. Мерене су концентрације различитих елемената, укључујући тешке метале као што су Cd, Co, Ni, Pb, Hg, Be, Cu, Mo, As, V, Sb, Ti, Se, Cr, Ag и Sn. На основу резултата може се закључити да концентрације већине елемената остају испод границе детекције. Ово сугерише да узорак третиране воде не садржи значајне количине ових елемената након третмана са P_AC, A_AC и C_AC. Међутим, неки елементи, као што су Cd, Ni, Zn, Cu, Mo, Sr, Ca, Al и B, детектују се у мерљивим концентрацијама. Анализе воде након употребе активних угљеничних материјала A_AC и C_AC показале су да је вода након третмана погодна за пиће и наводњавање. Наведени параметри испуњавају услове дате према Правилнику о хигијенској исправности воде за пиће 2019 („Службени лист СРЈ”, бр. 42/98 и 44/99, „Службени гласник РС”, бр. 28/2019), Правилнику о дозвољеним количинама опасних и штетних материја у земљишту и води за наводњавање и методама њиховог испитивања („Службени гласник РС” број 23 од 18.03.1994) и Светске здравствене организације (СЗО, 2011), Смернице за квалитет воде за пиће, 2011, 38(4), 104-8.

Табела 10. Концентрација потенцијално токсичних елемената у води након третмана активним угљеничним материјалима.

Елемент	P_AC	A_AC [mg/L]	C_AC
Cd	< 0.001	< 0.001 ^a	0.004 ± 0.001
Co	< 0.001 ^a	< 0.001 ^a	< 0.001 ^a
Fe	< 0.01	< 0.01	< 0.01 ^a
Ni	0.021 ± 0.001	< 0.003	0.008 ± 0.001
Pb	< 0.01 ^a	< 0.01 ^a	< 0.01 ^a
Hg	< 0.001 ^a	< 0.001 ^a	< 0.001 ^a
Be	< 0.001 ^a	< 0.001 ^a	< 0.001 ^a
Zn	< 0.001 ^a	< 0.001 ^a	0.019 ± 0.002
Cu	0.054 ± 0.014	< 0.001 ^a	0.014 ± 0.002
Mo	0.493 ± 0.015	0.040 ± 0.001	0.004 ± 0.001
As	< 0.003 ^a	< 0.003 ^a	< 0.003 ^a
V	0.014 ± 0.001	< 0.001 ^a	< 0.001 ^a
Sb	< 0.003 ^a	< 0.003 ^a	< 0.003 ^a
Ti	< 0.001 ^a	< 0.001 ^a	< 0.001 ^a
Se	< 0.003 ^a	< 0.003 ^a	< 0.003 ^a
Sr	0.025 ± 0.005	0.009 ± 0.003	0.013 ± 0.002
Ca	1.08 ± 0.10	0.90 ± 0.08	1.30 ± 0.05
Al	< 0.03	< 0.03	< 0.03
B	0.70 ± 0.07	0.12 ± 0.01	0.08 ± 0.01
Cr	< 0.001 ^a	< 0.001 ^a	< 0.001 ^a
Mg	0.76 ± 0.10	0.45 ± 0.10	0.40 ± 0.05
Mn	< 0.001 ^a	< 0.001 ^a	0.002 ± 0.001
Ag	< 0.03 ^a	< 0.03 ^a	< 0.03 ^a
Sn	< 0.004 ^a	< 0.004 ^a	< 0.004 ^a

^a Вредности испод лимита детекције.

Узорак воде након третмана са материјалом добијеним од палминог листа (P_AC) показује повећане вредности Ni, Mo и B у односу на друге елементе. Ове вредности се налазе близу

дозвољених граница за воду за пиће. Иако су добијени резултати у складу са прописима, треба имати у виду да се ти резултати односе на концентрацију 0.5 g узорка на 5 mL воде. Због тога је неопходна даља анализа да би се проценила усклађеност концентрација са важећим регулаторним границама. Ако концентрације елемената у узорку третиране воде остану у дозвољеним границама, може се сматрати погодним за употребу.

Међутим, ако било који елемент премашује дозвољене вредности, треба предузети одговарајуће мере третмана како би се осигурала безбедност воде пре употребе. Да би се одредила процена ризика материјала на људско здравље неопходно је одредити утицај на здравље у зависности од комплетног састава потенцијално токсичних елемената у води након третмана, између осталог и присуство тешких метала.

4.2.2. Процена здравственог ризика од тешких метала

За одређивање процене здравственог ризика од тешких метала првобитно се рачуна хронични дневни унос (eng. chronic daily intake - *CDI*) за ингестију и путем дермалног контакта (Табела 11). Након тога се израчунава и коефицијент опасности (eng. hazard quotient - *HQ*) за сваки елемент (Табели 12). На основу тих добијених вредности се одређује утицај на здравље (eng. - health impact - *HI*).

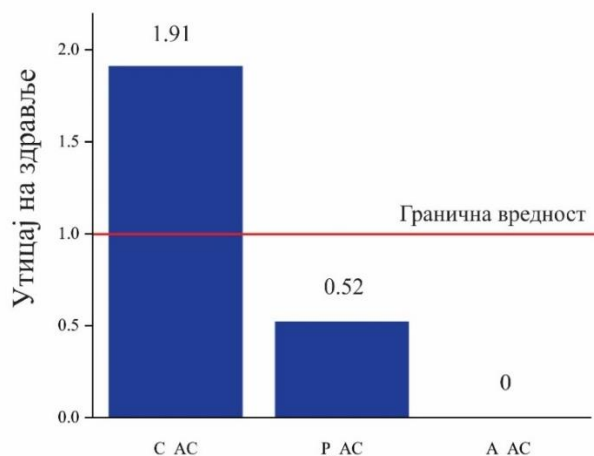
Табела 11. Хронични дневни унос тешких метала ингестијом и дермалним контактом.

Елемент	<i>CDI</i> ингестије			<i>CDI</i> дермални		
	P_AC	A_AC	C_AC	P_AC	A_AC	C_AC
Cd	0	0	0.00014	0	0	0.00072
Fe	0	0	0	0	0	0
Ni	0.00072	0	0.00027	0.00379	0	0.00144
Pb	0	0	0	0	0	0
Hg	0	0	0	0	0	0
Zn	0	0	0.000651	0	0	0.00343
Cu	0.00185	0	0.00048	0.00975	0	0.00253
As	0	0	0	0	0	0
Cr	0	0	0	0	0	0
Mn	0	0	0.000068	0	0	0.000361

Табела 12. Коефицијент опасности тешких метала у води ингестијом и дермалним путем.

Елемент	<i>HQ</i> ингестије			<i>HQ</i> дермални		
	P_AC	A_AC	C_AC	P_AC	A_AC	C_AC
Cd	0	0	0.274	0	0	1.44
Fe	0	0	0	0	0	0
Ni	0.0360	0	0.0137	0.190	0	0.0722
Pb	0	0	0	0	0	0
Hg	0	0	0	0	0	0
Zn	0	0	0.00217	0	0	0.0114
Cu	0.0462	0	0.0120	0.244	0	0.0632
As	0	0	0	0	0	0
Cr	0	0	0	0	0	0
Mn	0	0	0.00285	0	0	0.015

Процене утицаја на здравље (*HI*) извршене су за сваки од три материјала, односно P_AC, A_AC и C_AC, да би се проценили њихови потенцијални здравствени ризици. Резултати, приказани на Слици 30, показују израчунате вредности *HI* за сваки материјал.



Слика 30. Процена утицаја на здравље активних угљеничних материјала.

Добијене вредности *HI* биле су 0.52 за P_AC, 0.00 за A_AC и 1.91 за C_AC. Важно је напоменути да *HI* вредности испод 1 указују на то да материјали не прелазе утврђене граничне вредности и стога не представљају значајну опасност по здравље. Ови налази пружају сигурност у погледу безбедности коришћења P_AC и A_AC. Са вредностима *HI* испод границе, може се закључити да излагање овим материјалима под испитиваним условима, неће довести до штетних ефеката на здравље. Резултати за C_AC са вредношћу *HI* изнад границе, указују да тај материјал није безбедан за употребу из наведеног разлога.

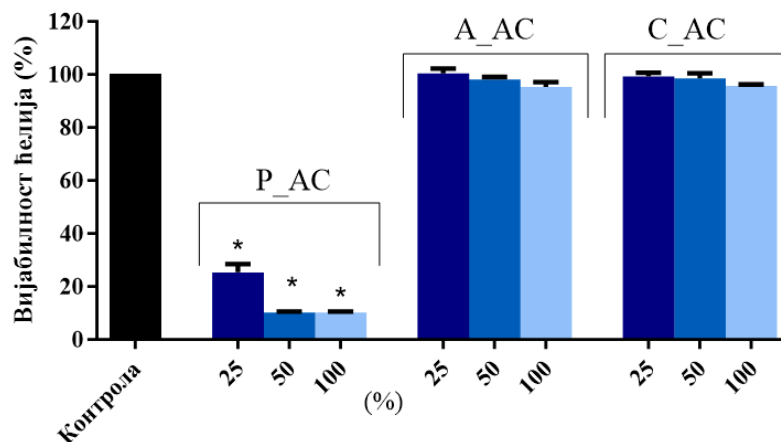
Међутим, вреди напоменути да процене *HI* узимају у обзир низ фактора и могу имати ограничења, као што су специфичан пут изложености материјалима. Стога је препоручљиво спровести даље студије и размотрити друге релевантне факторе, како би се свеобухватно проценили здравствени ризици повезани са испитиваним материјалима.

4.2.3. Цитотоксичност и генотоксичност материјала

Да би се даље истражили потенцијални токсични (цитотоксични и генотоксични) ефекти материјала P_AC, A_AC и C_AC, спроведени су додатни експерименти коришћењем МТТ теста и алкалног комет теста. Ови експерименти су имали за циљ да пруже свеобухватно разумевање утицаја материјала на виталност ћелија и оштећење ДНК.

4.2.3.1. Одређивање цитотоксичности материјала

Студија цитотоксичности је урађена коришћењем МТТ теста на нормалним ћелијама хуманих фибробласта (MRC-5) за материјале P_AC, A_AC и C_AC да би се одредила преживљавање ћелија (%) при различитим концентрацијама материјала (Слика 31). МТТ тест мери вијабилност ћелија проценом метаболичке активности ћелија, а проценат вијабилности ћелије указује на степен цитотоксичности.



Слика 31. Ефекат материјала: P_AC, A_AC и C_AC у различитим концентрацијама (25, 50 и 100 %) на преживљавање нормалних ћелија хуманих фибробласта (MRC-5).

Статистичка значајност у односу на нетретирану контролу је анализирана помоћу one-way ANOVA, применом Dunnet-овог теста (* $p < 0,05$).

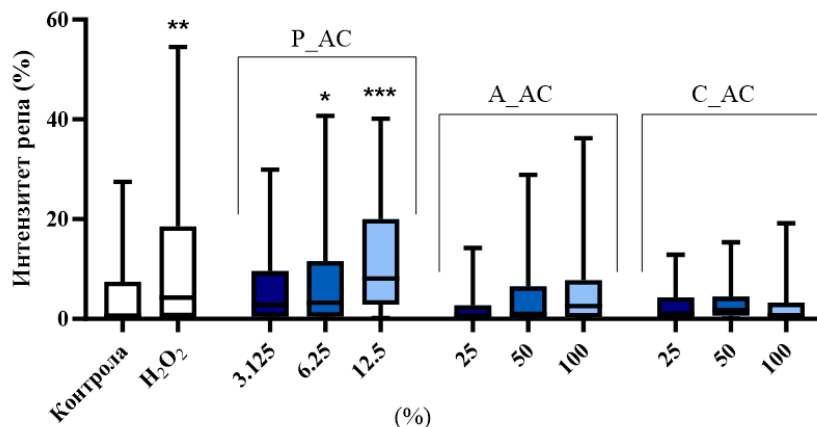
Добијени резултати МТТ теста пружају вредан увид у цитотоксичност три испитана материјала P_AC, A_AC и C_AC, према MRC-5 ћелијама у различитим концентрацијама. У случају P_AC, резултати МТТ показују значајан цитотоксични ефекат на MRC-5 ћелије у свим тестираним концентрацијама. Утврђено је да је вијабилност ћелија 25,3 % при концентрацији од 25 %, 10,2 % при концентрацији од 50 % и 10,1 % при концентрацији од 100 %. Ови налази сугеришу да P_AC има цитотоксични ефекат у зависности од количине, што доводи до смањења вијабилности ћелија како се маса P_AC повећава. Уочена цитотоксичност P_AC наглашава потенцијалне ризике повезане са његовом употребом и наглашава важност пажљивог руковања и одговарајућих мера предострожности.

Супротно томе, резултати МТТ теста за A_AC и C_AC указују да ови материјали не показују цитотоксичност према MRC-5 ћелијама у тестираном опсегу концентрација. Утврђено је да је вијабилност ћелија за A_AC 100 % при концентрацији од 25 %, 98,1 % при концентрацији од 50 % и 95,4 % при концентрацији од 100 %. Слично, за C_AC, вијабилност ћелија је износила 99,2 %, 98,6 % и 95,7 % при концентрацијама од 25 %, 50 % и 100 %. Ови налази сугеришу да A_AC и C_AC не редукују преживљавање MRC-5 ћелија у оквиру тестираног опсега концентрација.

Резултати МТТ теста показују да P_AC испољава значајну цитотоксичност према MRC-5 ћелијама. Могуће објашњење уоченог ефекта је присуство никла у P_AC. Никл је у великој мери повезан са различитим негативним утицајима на здравље, укључујући респираторне болести, бубрежне поремећаје, кардиоваскуларне болести, генотоксичне ефекте и рак (Begum и сар. 2022). Добијени резултати доприносе разумевању цитотоксичног потенцијала испитиваних материјала и пружају важне увиде за њихову безбедну и одговорну употребу. Поред тога, резултате *in vitro* цитотоксичности треба тумачити са опрезом и валидирати кроз *in vivo* студије.

4.2.3.2. Одређивање генотоксичности материјала

За испитивање генотоксичности P_AC, A_AC и C_AC у даљем истраживању коришћен је алкални комет тест. Резултати испитивања потенцијала тестираних материјала да индукују оштећења на ДНК молеку приказани су на Слици 32.



Слика 32. Комет тест за материјале: P_AC, A_AC и C_AC.

Статистичка значајност је тестирана у односу на нетретирану контролу применом непараметријског Mann-Whitney теста (* $p < 0,05$; *** $p < 0,001$)

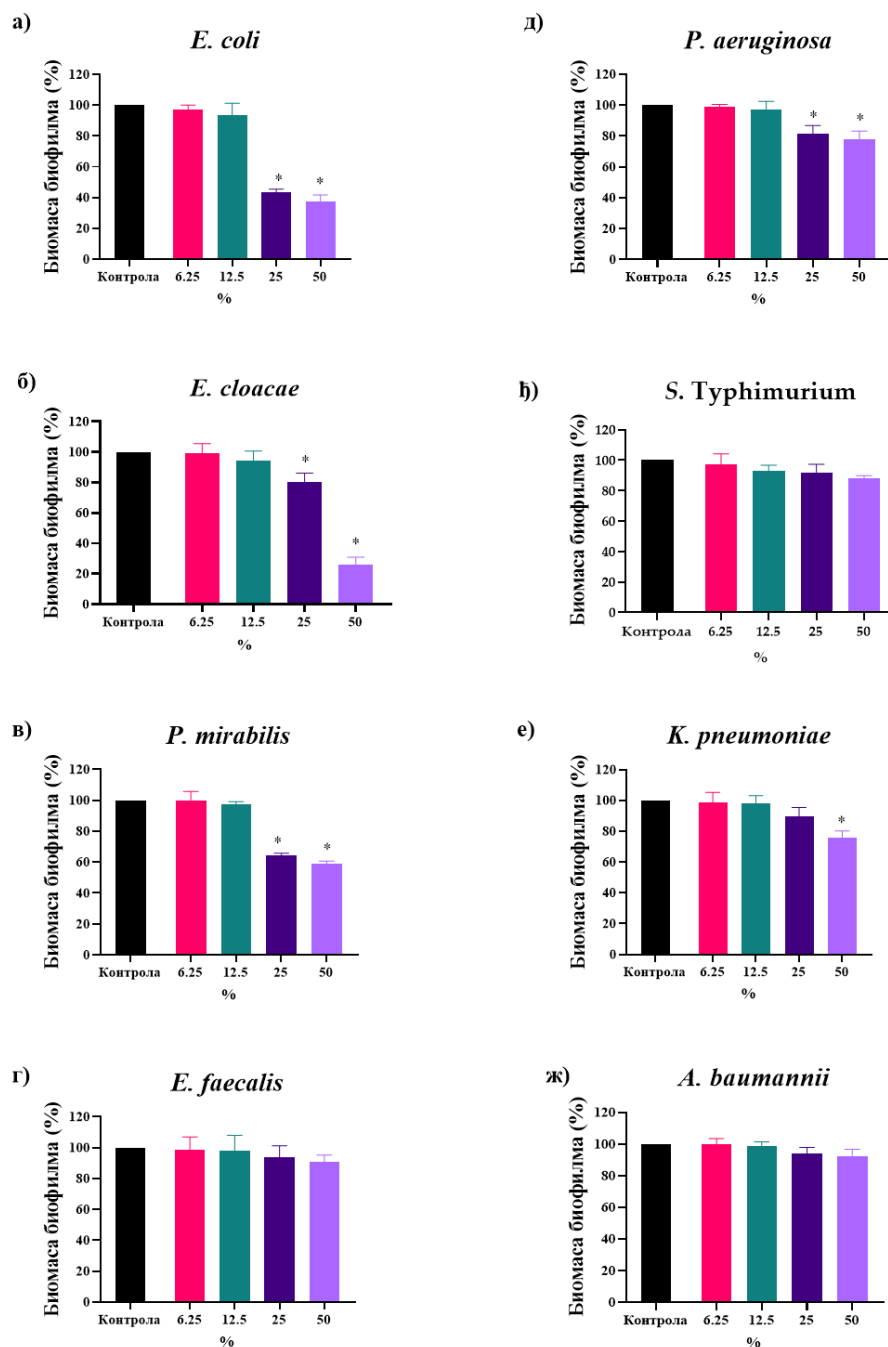
На основу резултата може се закључити да P_AC показује јак генотоксични потенцијал, чак и при ниским концентрацијама. Приметно је да концентрација од 12.5 % P_AC показује већу генотоксичност у поређењу са H₂O₂ коришћеним као позитивна контрола, познатим по индукцији оксидативних оштећења на ДНК молекулу, а што опет може бити објашњено присуством никла. Zhuang и сар. 1996 су испитивали утицај никла и уочили да изазива прекиде на ДНК молекулу, што сугерише његов потенцијални генотоксични ефекат. Ови резултати изазивају забринутост у вези са прикладношћу материјала добијених од листа палме за употребу, с обзиром на њихов потенцијални ризик од генотоксичности. Насупрот томе, резултати теста за A_AC показују да концентрација од 25 % A_AC показује нивое оштећења ДНК упоредивим са онима у контролним ћелијама, што сугерише на одсуство генотоксичних ефеката. Међутим, при концентрацијама од 50 % и 100 %, може се приметити мало повећање у интензитету репа комета, али без статистичке значајности.

С друге стране, резултати теста за C_AC показују да све тестиране концентрације C_AC показују нивое оштећења ДНК испод оних у контролним ћелијама. Ово сугерише да C_AC не изазива генотоксичне ефекте у тестирањим условима.

Укратко, резултати Комет теста пружају вредан увид у генотоксични потенцијал испитиваних материјала. Добијени резултати наглашавају важност разматрања и цитотоксичних и генотоксичних ефеката приликом процене безбедности употребе материјала. На основу комбинованих резултата МТТ теста и Комет теста, евидентно је да P_AC није погодан за употребу због својих цитотоксичних и генотоксичних својстава, док A_AC и C_AC захтевају даљу евалуацију и разматрање потенцијалних ризика, али на основу пружених резултата могу се безбедно користити.

4.3. Анализа антибиофилм ефекта синтетисаног материјала

За испитивање антибиофилм активности коришћен је материјал добијен од плода црне јове (A_AC). Избор да се испита активност само A_AC материјала произилази из тога што је материјал добијен од листа урмине палме (P_AC) показао цитотоксичне и генотоксичне ефекте. На Слици 33. је приказан ефекат A_AC на формирање биофилма за осам бактеријских сојева.



Слика 33. Ефекат А_АС на формирања биофилма: а) *E. coli*, б) *P. aeruginosa*, в) *E. cloacae*, г) *S. Typhimurium*, д) *P. mirabilis*, ж) *K. pneumoniae*, е) *A. baumannii* и з) *E. faecalis*. Статистичка значајност у односу на нетретирану контролу је анализирана помоћу one-way ANOVA, применом Dunnet-овог теста (* $p < 0,05$).

Резултати микродилуционе методе су показали да тестирани активни угљенични материјал у одређеном опсегу концентрација не испољава инхибиторни ефекат. Међутим, узимајући у обзир да механизми испољавања инхибиторног ефекта и антибиофилм ефекта неког агенса могу бити различити, приступило се испитивању антибиофилм ефекта без обзира на немогућност одређивања минималне инхибиторне концентрације.

Студија о антибиофилм ефекту А_АС на осам бактеријских сојева показују значајну варијабилност у осетљивости бактерија. Подаци указују да *E. coli* и *E. cloacae* показују високу осетљивост на А_АС, посебно при већим концентрацијама, са стопама инхибиције формирања биофилма које досежу 62.63 % и 73.86 % при концентрацији од 50 % (Табела 13). Ова инхибиција сугерише да А_АС може бити веома ефикасан у смањењу ових бактерија у контаминираној води, што указује на његов потенцијал у примени за пречишћавање воде. Насупрот томе, *P. aeruginosa* и *S. Typhimurium* показују знатно ниже стопе инхибиције на свим испитаним концентрацијама, са максималном инхибицијом формирања биофилма од 22.09 % и 12.12 % након третмана концентрацијом од 50 %. Слично, код *A. baumannii* и *E. faecalis*, детектована је минимална инхибиција формирања биофилма која не прелази 10 % чак ни при највишој тестираној концентрацији. Ови резултати указују на то да ови сојеви поседују механизме отпора који ублажавају ефикасност А_АС, што указује на ограничења у широком спектру примене овог материјала.

Инхибиција формирања биофилма *P. mirabilis* и *K. pneumoniae* се постепено повећава са концентрацијом, достижући умерене нивое при највишој концентрацији (40.98 % и 24.24 %). Ово указује на одговор који зависи од концентрације, где су потребне веће количине А_АС да би се постигли значајни антибиофилм ефекти.

Резултати генерално показују да А_АС испољава добар до умерени антибиофилм ефекат према *E. coli* и *E. cloacae*, као и према *P. mirabilis* и *K. pneumoniae*. Биофилм који формира *E. coli* на површинама у воденим срединама, добро је документован фактор који доприноси упорности *E. coli* у природним условима (Jang и сар. 2017). Добијени антибиофилм ефекат према овој бактерији можемо објаснити и повезати са резултатима истраживања Zhou и сар. 2022 где је показано да калцит има антибактеријска својства према *E. coli*, узимајући у обзир да је присуство калцита у материјалу А_АС потврђено XRD анализом (Слика 246). У ранијим истраживањима (Reasoner, 1988), објављено је да је примећено одсуство врста *E. coli* и *E. cloacae* на филтерима од активног угљеника. Антибиофилм ефекат према *K. pneumoniae* је примећен на високим концентрацијама А_АС, а претпоставља се да је уочени ефекат резултат индукције оксидативног стреса услед третмана материјалом. а (Kandić и сар. 2024). Оксидативни стрес између осталог нарушава липидну структуру мембрана, што води губитку вијабилности ћелија и последично може урушити форму биофилма. (Wang и сар. 2020). Уочени антибиофилм ефекат А_АС према *P. mirabilis* се такође може издвојити као позитиван резултат, узимајући у обзир повећану учесталост инфекција изазваних овом бактеријом узрокованих повећаном пролиферацијом ове врсте у воденим срединама (Yu и сар. 2018). С друге стране, материјал је показао слаб антибиофилм ефекат према *S. Typhimurium*. Овакав ефекат се може објаснити чињеницом да је раст ове бактерије и њена пролиферација успорена у условима дефицита угљеника и у мањој мери дефицита азота и фосфора (Castelijns и сар. 2012, Spector и Kenyon, 2012). С тим у вези, треба напоменути да је коришћени материјал богат угљеником (64,5%) , што би могло да подстиче развој биофилма. Слаб антибиофилм ефекат према *P. aeruginosa* би такође могао делимично да се објасни присуством угљеника који вероватно промовише формирање биофилма, обезбеђујући повољну површину за адхезију и раст (Kandić и сар. 2024). Треба узети у обзир и чињеницу да структура А_АС материјала порозна што може представљати окружење које пружа додатну заштиту и погодан медијум нагомилавање хранљивих материја што би додатно стимулисало формирање биофилма појединих врста бактерија.

Као што је наведено, формирање биофилма на површинама материјала може имати како позитиван тако и негативан утицај на материјал, посебно оних који ће се користити као адсорбенти. Позитиван аспект формирања биофилма у овом случају је тај што може олакшати уклањање цијанобактерија заједно са другим микроорганизмима, укључујући потенцијалне

патогене из воде. Насупрот томе, негативан утицај је тај да ако испитане бактерије не формирају заједничке биофилмове са цијанобактеријама, могу се такмичити за ограничене расположиве поре на А_АС. Главно ограничење активног угљеника уопштено је засићење органском материјом, што доводи до исцрпљеног медија који омогућава пролаз контаминаната, потенцијално узрокујући проблеме са квалитетом воде и подстицање поновног раста бактерија (Simpson и сар. 2008). У нашем истраживању, врсте као што су *E. coli*, *E. cloacae*, *P. mirabilis* и *K. pneumoniae* показале су осетљивост на ефекат А_АС, што сугерише да би овај материјал могао инхибирати њихову иницијалну фазу формирања биофилма, чиме се смањује ризик од контаминације воде након третмана. Варијабилност у стопама инхибиције (Табела 13) наглашава потребу за даљим студијама како би се истражили основни механизми бактеријске отпорности и потенцијал за повећање антибактеријске ефикасности А_АС. Даљи увид у формирање биофилмова *in situ* на А_АС и њихове карактеристике биће део будућих истраживања.

Табела 13. Инхибиција формирања биофилма након третмана А_АС.

Концентрације	6.25 %	12.5 %	25 %	50 %
Сојеви	Инхибиција [%]			
<i>E. coli</i>	2.8±2.9 ^a	6.4±7.7 ^a	56.6±2.1 ^a	62.6±4.3 ^a
<i>P. aeruginosa</i>	0.9±1.3 ^a	2.9±5.3 ^a	18.3±5.2 ^b	22.1±5.3 ^b
<i>E. cloacae</i>	0.7±6.2 ^a	5.6±6.3 ^a	19.6±5.9 ^b	73.8±4.8 ^c
<i>S. Typhimurium</i>	2.9±7.1 ^a	6.8±3.5 ^a	8.3±5.7 ^b	12.1±2.1 ^d
<i>P. mirabilis</i>	0.5±4.7 ^a	2.8±2.1 ^a	35.7±1.5 ^c	40.9±1.7 ^e
<i>K. pneumoniae</i>	1.3±6.6 ^a	1.6±4.7 ^a	10.4±5.9 ^b	24.2±4.4 ^b
<i>E. faecalis</i>	1.5±8.5 ^a	2.2±10.1 ^a	6.1±7.3 ^b	9.2±4.5 ^d
<i>A. baumannii</i>	0.3±3.6 ^a	1.3±2.6 ^a	6.2±4.1 ^b	7.6±4.3 ^d

Резултати су представљени као средње вредности ± стандардна девијација. Статистичка значајност је анализирана помоћу one-way ANOVA, коришћењем Tukey-овог теста. Вредности са различитим словима у свакој колони указују на статистичку значајност између тестираних бактеријских сојева.

Статистичка анализа показује значајне разлике међу стопама инхибиције, посебно при вишим концентрацијама А_АС. Ова варијанса наглашава потребу за оптимизованим количинама у третманима, пошто веће концентрације значајно повећавају инхибиторне ефекте материјала, посебно када су у питању *E. cloacae* и *E. coli*.

Способност да колонизују и стварају биофилмове на разноврсним површинама омогућава свеобухватну процену интеракција између бактерија и материјала. Испитивање ових бактерија у контролисаним условима пружа податке о понашању биофилма и његовом потенцијалном утицају на адсорптивна својства материјала. Активни угљенични материјали синтетисани у оквиру ове дисертације би могли бити употребљени у воденим срединама као ефикасни адсорбенти за уклањање патогених микроорганизама и других загађивача, чиме би се допринело побољшању квалитета воде.

4.4. Физичко-хемијске карактеристике воде и биодиверзитет фитопланктона Александровачког језера

Истраживања представљена у оквиру ове докторске дисертације имају за циљ да допринесу решавању проблема уклањања цијанобактерија и цијанотоксина из контаминираних вода кроз анализу и третман воде из Александровачког језера. Да би се обезбедио прецизан увид у ефикасност предложених третмана, неопходно је прво разумети тренутно стање Александровачког језера.

4.4.1. Физичко-хемијски параметри воде из Александровачког језера

У Табелама 14. и 15. приказани су резултати праћења физичко - хемијских параметра воде из Александровачког језера, на различитим дубинама и на различитим локацијама. Наиме, вода је испитивана у делу код бране (Зона I), на централном делу (Зона II) и из плитког дела језера (Зона III). Узорковање од августа до новембра 2017. године је урађено како би се разумеле сезонске варијације и пружио свеобухватан преглед квалитета воде у језеру током тог периода (Stojmenović и сар. 2023).

Табела 14. Физичко-хемијски параметри у августу и септембру 2017. године.

Месец	Јединица	Август						Септембар					
Локација	/	I		II		III		I		II		III	
Дубина	[m]	2	1	0.5	1	0.5	0.5	2	1	0.5	1	0.5	0.5
Мутноћа	[NTU]	15.7	38	23.8	24.8	20.8	25.6	23.6	26.2	23.6	27.5	24.8	24.5
pH	/	9.3	9.7	9.7	9.7	9.7	9.8	9.2	9.2	9.3	9.3	9.3	9.4
Проводљивост	[μS/cm]	747	762	764	765	765	771	773	773	778	785	773	774
Амонијак	[mg/L]	0.96	0.21	0.21	0.16	0.13	0.19	0.41	0.18	0.3	0.13	0.31	0.13
NO ₂	[mg/L]	0.02	0.02	0.02	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	<0.005	0.01	0.01
NO ₃	[mg/L]	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5
KMnO ₄	[mg/L]	104	104	101	101	104	98	106	109	109	118	106	109
O ₂	[mg/L]	4.7	9	10	8	10.3	10.6	2.2	2.7	2.7	4.5	5	7.3
БПК	[mg O ₂ /L]	10	7.6	8.4	7.1	7.9	8.4	7	7	7	7	7	7
PO ₄	[mg/L]	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
Укупан Р	[mg/L]	0.10	0.08	0.07	0.08	0.05	0.06	0.05	0.06	0.06	0.07	0.04	0.06
Укупан С	[mg/L]	35.7	37	36.7	35.7	2.97	34.9	37.8	37.1	35.3	33.4	34.1	34.2
Укупан N	[mg/L]	3.16	3.15	3	3.2	<0.5	3	3.7	3.8	3.5	3.2	3.2	3

*<0.01

Табела 15. Физичко-хемијски параметри у октобру и новембру 2017. године.

Месец	Јединица	Октобар						Новембар		
Локација	/	I		II		III		I	II	III
Дубина	[m]	2	1	0.5	1	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Мутноћа	[NTU]	10.2	9.2	14.3	13.8	18.5	12.5	18.5	14.2	18.2
pH	/	8.8	8.8	8.8	8.8	8.8	8.8	8.9	8.9	8.9
Проводљивост	[μS/cm]	779	769	769	769	774	770	773	774	775
Амонијак	[mg/L]	1.2	1.1	1.1	1.1	0.89	1	0.19	0.1	0.19
NO ₂	[mg/L]	0.038	0.042	0.032	0.039	0.038	0.035	0.043	0.045	0.054
NO ₃	[mg/L]	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5
KMnO ₄	[mg/L]	121	83	83	106	96	109	82	82	82
O ₂	[mg/L]	6	6.8	4.3	4	4.9	3.6	7.7	7.1	5.8
БПК	[mg O ₂ /L]	4	5	3.5	2.5	4	3	4.9	3.8	3.5
PO ₄	[mg/L]	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
Укупан Р	[mg/L]	0.086	0.08	0.079	0.092	0.088	0.086	0.05	0.05	0.07
Укупан С	[mg/L]	31	33	30.7	32.1	30	29.6	25.7	27.7	29
Укупан N	[mg/L]	2.6	2.9	2.6	2.7	2.5	2.4	2.2	2.4	2.5

У Табелама 14. и 15. могу се приметити сезонске промене физичко-хемијских параметара воде у 2017. години, што може указати на значајну варијацију у квалитету воде између летњих и јесењих месеци. Током лета (август и септембар), забележене су више вредности мутноће (до 38 NTU), што може указивати на повећану биолошку активност, присуство алги или суспендованих честица због веће температуре и већег интензитета сунчеве светлости. Концентрације раствореног кисеоника биле су релативно високе током летњих месеци, са пиком од 10.6 mg/L у августу, што је повезано са фотосинтетичком активношћу алги и макрофита. Такође, амонијум јон је током јесени забележио повећање (до 1.2 mg/L), што сугерише повећану разградњу органских материја или улаз додатних извора загађења. БПК, као индикатор органског оптерећења, остао је релативно стабилан током летњих месеци (7-10 mg/L), али је његова вредност опала током јесени (2.5–5 mg/L). Укупни органски угљеник је био већи у летњим месецима, док је опао у јесен, што је у складу са сезонском биолошком активношћу. Сезонске промене такође указују на динамику у параметрима као што су нитрати и ортофосфати, који су остали на ниском нивоу (<0.5 mg/L за NO₃ и <0.01 mg/L за PO₄), указујући да није било значајног уноса поменутих једињења током године. Може се закључити да је за летњи период карактерисан повећаном биолошком активношћу и већим уносом органске материје, док се јесењи период одликује смањеном фотосинтезом и повећаним органским загађењем, што утиче на пад еколошког потенцијала у том периоду.

Анализа физичко-хемијских параметара воде у 2017. години у односу на критеријуме за одређивање еколошког потенцијала (Прилог 7) показује значајну деградацију квалитета воде. Вредности рН које су углавном биле изнад 9 (између 9.2 и 9.8) сврставају воду у класу IV-V, што указује на веома низак еколошки потенцијал. Висока рН може утицати позитивно на развој одређених врста цијанобактерија. У раду Ђорђевић и Simić, 2014 се наводи да повишена рН (8.0-8.7) утиче на повећану бројност врсте *Raphidiopsis raciborskii*. Биолошка потрошња кисеоника (БПК) кретала се између 7 и 10 mg/L, што указује на III-IV класу (август и септембар), односно између 2.5 и 5 mg/L (октобар и новембар) што указује на II-III класу. Вредности укупног органског угљеника (ТОС), које су достигле до 37.8 mg/L, сврстане су у IV-V класу, што указује на висок ниво органског загађења. Концентрације амонијака су у неким случајевима достигле 1.2 mg/L, што их такође сврстава у IV-V класу. Ова вредност амонијака може указивати на потенцијално присутно фекалног или индустријског загађења (Dalmacija, 2012). Нитрати су били испод 0.5 mg/L, што указује на одсуство нитратног загађења. Ортофосфати и укупан фосфор су били у ниским концентрацијама, што указује на веома низак ниво фосфатног загађења. Дакле, вода је у 2017. години показивала лош еколошки потенцијал, са значајним органским загађењем и проблемима са квалитетом воде, посебно у јесен. На основу физичко - хемијских параметра, вода из Александровачког језера има IV-V класу еколошког потенцијала, односно ово језеро је слабог статуса на основу „Правилника о параметрима еколошког и хемијског статуса површинских вода и параметрима хемијског и квантитативног статуса подземних вода Републике Србије“, (2011) 74/11 (Прилог 7).

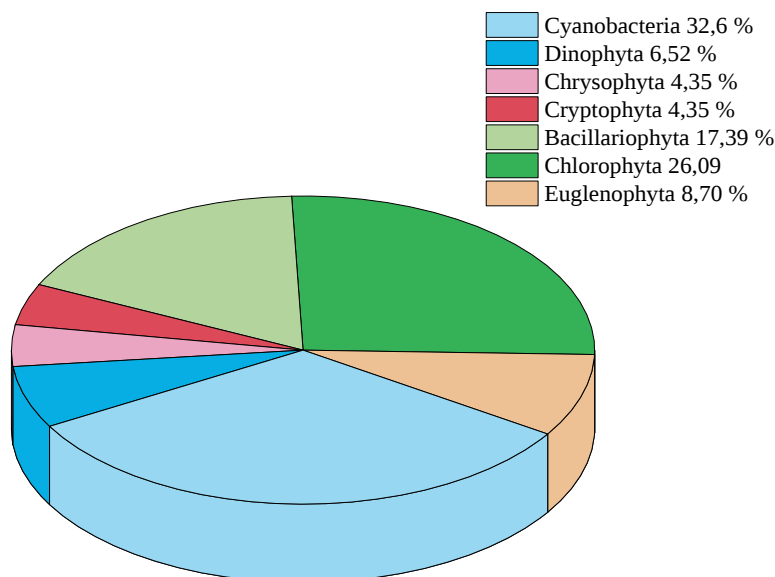
4.4.2. Квалитативна и квантитативна анализа фитопланктона Александровачког језера

У студији је спроведен додатни мониторинг фитопланктона у периоду од јануара 2020. до децембра 2021. године да би се утврдили њихови сезонски квалитативни и квантитативни трендови. Квалитативном анализом фитопланктона у свим годишњим добима утврђено је присуство 46 таксона из 7 раздела (Cyanobacteria, Dinophyta, Chrysophyta, Cryptophyta, Bacillariophyta, Chlorophyta, and Euglenophyta; Табела 16; Слика 34), као и 2017. године.

Табела 16. Фитопланктон Александровачког језера у периоду 2020. и 2021. године.

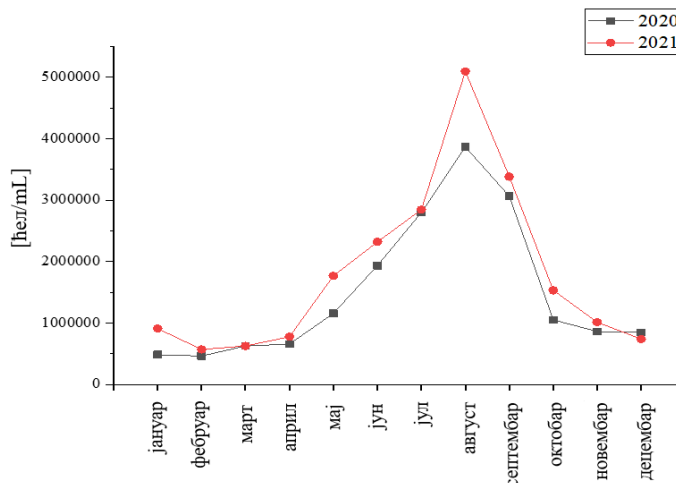
Cyanobacteria
<i>Anabaenopsis elenkinii</i> V.Milleer
<i>Anathece minutissima</i> (West) Komárek, Kastovsky & Jezberová
<i>Aphanocapsa</i> Nägeli sp.
<i>Glaucospira</i> G.Lagerheim sp.
<i>Jaaginema subtilissimum</i> (Kütz. Ex De Toni) Anagn. et Kom.
<i>Limnothrix planctonica</i> (Wolos.) Meffert
<i>Merismopedia glauca</i> (Ehr.) Kütz.
<i>Microcystis aeruginosa</i> Kütz.
<i>Microcystis flos-aquae</i> (Wittr.) Kirchner
<i>Oscillatoria limosa</i> C.Agardh ex Gomont
<i>Planktolyngbya limnetica</i> (Lemmermann) Komárková-Legnerová & Cronberg
<i>Pseudanabaena limnetica</i> (Lemm.) Komarek
<i>Raphidiopsis raciborskii</i> (Woloszynska) Aguilera & al.
<i>Snowella</i> Elenkin sp.
<i>Synechocystis</i> cf. <i>aquatilis</i> Sauvageau
Dinophyta
<i>Gymnodinium</i> Stein sp.
<i>Peridiniopsis</i> Lemm. sp.
<i>Peridiniopsis cunningtonii</i> Lemm.
Chrysophyta
<i>Mallomonas</i> Perty sp.
<i>Ochromonas Vysotskii</i> (Wysotzki, Wyssotzki) sp.
Cryptophyta
<i>Cryptomonas</i> Ehr. spp.
<i>Rhodomonas lacustris</i> Pascher & Ruttner
Bacillariophyta
<i>Achnanthyidium</i> Kützing sp. (cf. <i>minutissimum</i>)
<i>Amphora lybica</i> Ehrenberg
<i>Cyclotella</i> (Kütz.) Bréb.sp.
<i>Cymbella</i> C.Agardh. sp.
<i>Fragilaria ulna</i> Sippen <i>acus</i> sensu L.-B.
<i>Gomphonema</i> Ehr. sp.
<i>Navicula</i> Bory sp.
<i>Stephanodiscus</i> Ehr. sp.
Chlorophyta
<i>Chlamydomonas</i> Ehr. sp.
<i>Chlorella</i> Beij. sp.
<i>Cosmarium</i> Corda sp.
<i>Kirchneriella contorta</i> (Schmidle) Bohl.
<i>Kirchneriella irregularis</i> (G.M.Smith) Korshikov
<i>Monoraphidium contortum</i> (Thur.) Com.-Legn.
<i>Mougeotia</i> C.Agardh sp.
<i>Scenedesmus quadricauda</i> (Turp.) Bréb.
<i>Scenedesmus semprevirens</i> Chod.
<i>Sphaerocystis</i> Chodat sp.
<i>Staurastrum</i> Meyen ex Ralfs sp.
<i>Tetraedron minimum</i> (A.Br.)Hansg
Euglenophyta
<i>Euglena</i> Ehr. sp.
<i>Euglena acus</i> Ehr.
<i>Phacus pyrum</i> (Ehr) W.Archer
<i>Trachelomonas volvocina</i> Ehr.

Највећи диверзитет фитопланктона забележен је у августу, док је најмањи диверзитет забележен у фебруару. Одређен је проценат таксономских група фитопланктона идентификованих у Александровачком језеру (Слика 34), а *Cyanobacteria* су показале највећи диверзитет врста (32.60 % од укупно идентификованих таксона), иако је и број врста *Chlorophyta* био релативно висок (26.09 %). Све наведене врсте се подударају са врстама примећеним и 2017. године (Stojmenović и сар. 2023).



Слика 34. Квалитативна анализа фитопланктона од јануара до децембра 2021. године.

Укупна бројност фитопланктона у 2020. години се кретала од минимума од 4.68×10^5 ћел./mL, у фебруару, до максималног 4.43×10^6 ћел./ mL у августу 2020. године (Слика 32). Укупна бројност фитопланктона у 2021. години се кретала од минимума од 5.79×10^5 ћел./mL, у фебруару, до максимум од скоро 5.66×10^6 ћел./mL у августу 2021 (Слика 35).



Слика 35. Фитопланктон Александровачког језера у периоду од јануара 2020. године до децембра 2021. године.

Процена квантитативног састава заједнице фитопланктона има за циљ да одреди просторну и временску динамику фитопланктона. Ова врста анализе је посебно важна у праћењу сезонских промена врста фитопланктона.

На квантитативан састав заједнице цијанобактерија утичу и морфолошке особине самих врста. У Табели 17. приказане су морфолошке карактеристике цијанобактерија присутних у Александровачком језеру.

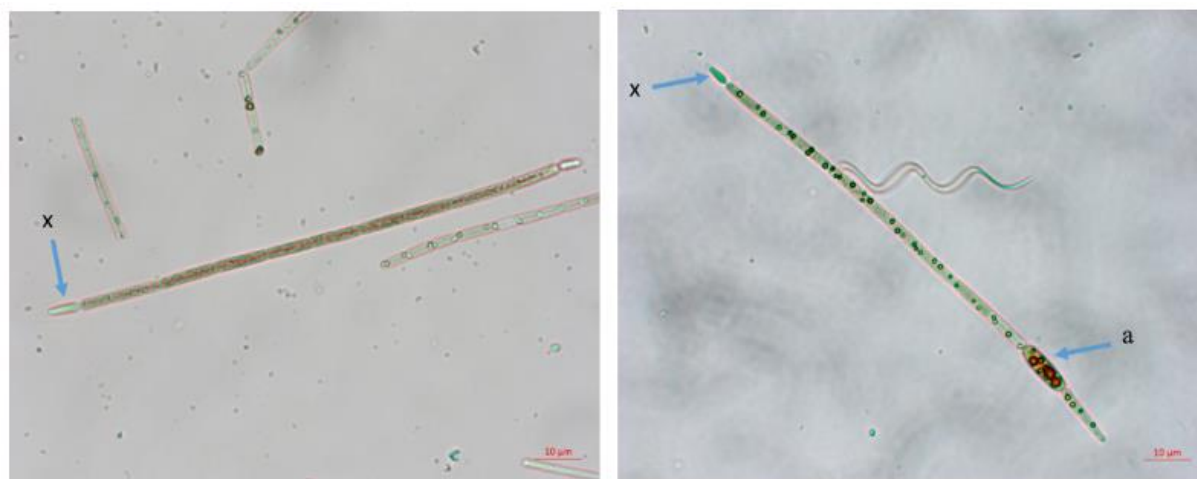
Табела 17. Морфолошке карактеристике цијанобактерија Александровачког језера.

Врста	Облик ћелије	Дужина ћелије [μm]	Дијаметар [μm]	Тип талуса	Дужина трихома [μm]
<i>Anabaenopsis elenkinii</i>	елипсоидна	5.5-9.3		трихална	≤ 100
<i>Anatheece minutissima</i>	елипсоидна	1.5	0.9	колонијска	
<i>Aphanocapsa</i> spp.	кокална	1-1.5		колонијска	
<i>Glaucothrix</i> sp.	цилинрична	0.5-2	2.7-6	трихална	36-60
<i>Jaaginema subtilissimum</i>	цилинрична			трихална	150-300
<i>Limnolthrix planctonica</i>	цилинрична	2-4		трихална	
<i>Merismopedia glauca</i>	кокална	3-6	5	колонијска	
<i>Microcystis aeruginosa</i>	кокална	4-6	5	колонијска	
<i>Microcystis flos-aquae</i>	кокална	3.5-4.8	4	колонијска	
<i>Oscillatorialimosa</i>	цилинрична	1.8-3	10	трихална	10-100
<i>Planktolynghya limnetica</i>	цилинрична		1	трихална	
<i>Pseudanabaena limnetica</i>	цилинрична	5-14	1	трихална	
<i>Raphidiopsis raciborskii</i>	цилинрична	2.3-6.5		трихална	107
<i>Snowella</i> sp.	кокална	2.4-4	3.2	колонијска	
<i>Synechocystis cf. aquatilis</i>	кокална	3		колонијска	

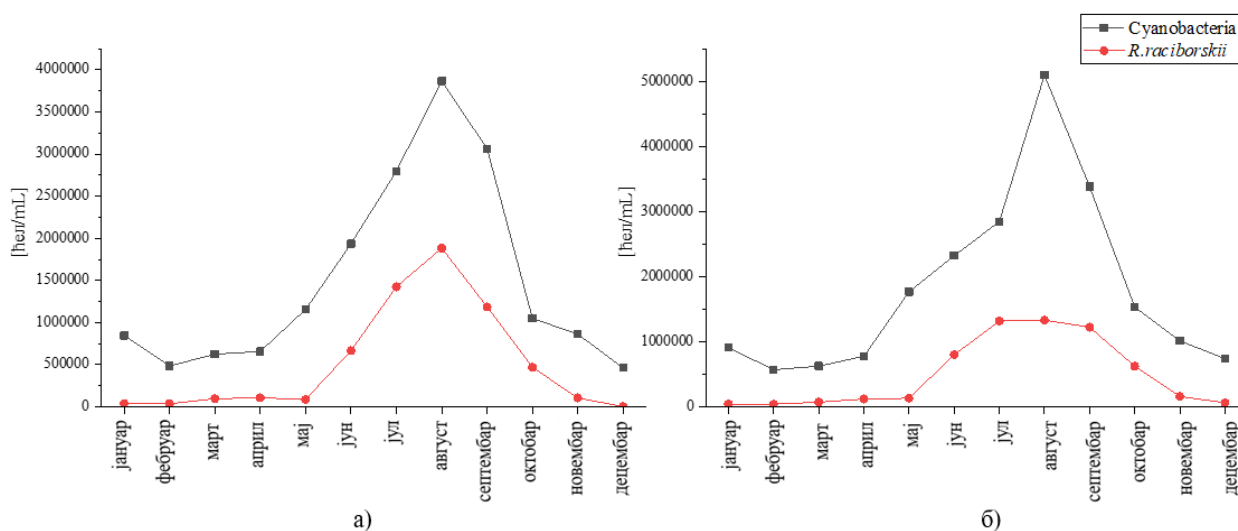
Приликом испитивања броја цијанобактерија у наведеном временском периоду, евидентно је да је постојао широк распон нивоа њихове концентрације. У фебруару 2020. године бројност је износила 4.62×10^5 ћел./mL, што указује на релативно ниско присуство цијанобактерија у води. Међутим, до августа 2021. године, бројност је порасла на 5.09×10^6 ћел./mL, што је значило значајно повећање броја цијанобактерија.

Изузетно високе вредности забележене у августу 2021. године изазивају забринутост у вези са потенцијалним ризицима по здравље људи, посебно у складу са параметрима које је утврдила Светска здравствена организација. Према смерницама СЗО (2003), водна тела са тако повишеним нивоима цијанобактерија класификована су као ризична по здравље.

Примећено је такође присуство инвазивне врсте, *Raphidiopsis raciborskii* (Слика 36). Потенцијално токсична врста *R. raciborskii* је била присутна у фитопланктонској заједници Александровачког језера током целог периода истраживања и врло често доминантна у фитопланктону. Временска варијација распрострањености *R. raciborskii* праћена је и током 2020. и 2021. године, где су минимуми забележени у фебруару (2.78×10^3 и 4.11×10^4 ћел./mL), а максимуми у августу (1.88×10^6 односно 1.33×10^6 ћел./mL). Динамика просечног броја цијанобактерија и врсте *R. raciborskii* у периоду 2020. и 2021. године приказана је на Слици 37.



Слика 36. Микрофотографија *Raphidiopsis raciborskii* узоркованог из Александровачког језера 2021. године (скала од 10 µm). легенда: а –акинет, х – хетероциста (Kandić и сар. 2022).



Слика 37. Однос укупног броја ћелија Cyanobacteria и *R. raciborskii* у Александровачком језеру: а) 2020. година и б) 2021. година.

Свеобухватним прегледом добијених резултата, налази и квантитативне и квалитативне анализе узорка воде указују на несигурну ситуацију. Изузетно висока бројност цијанобактерија, заједно са доминацијом потенцијално токсичне врсте *Raphidiopsis raciborskii*, наглашава хитну потребу за мерама у циљу решавања здравствених ризика повезаних са овим извором воде. Од кључне је важности да се спроведу одговарајуће мере превенције и стратегије управљања, како би се ублажили потенцијални штетни ефекти на здравље људи. Састав и бројност цијанобактерија у Александровачком језеру пажљиво су праћени током 2020. и 2021. године. Мониторинг је спроведен на месечном нивоу, пружајући вредне увиде у флукуације и трендове популација цијанобактерија у језеру. Подаци добијени извршеним мониторингом узорковани су и представљени у Табелама 18. и 19, нудећи свеобухватан преглед цијанобактерија и њихове динамике током ове две године.

Табела 18. Анализа цијанобактерија Александровачког језера током 2020. године.

Година		2020											
Месец	Јан	Феб	Мар	Апр	Мај	Јун	Јул	Авг	Сеп	Окт	Нов	Дец	
Суанобacteria	[ћел./mL]												
<i>A. elenkinii</i>	1,652	0	0	0	5,507	5,120	4,800	5,199	2,599	0	2,599	4,130	
<i>A. minutissima</i>	0	0	1.13 x 10 ⁴	1.42 x 10 ⁴	1.89 x 10 ⁴	2.34 x 10 ⁴	1.10 x 10 ⁴	1.78 x 10 ⁴	1.19 x 10 ⁴	0	0	0	
<i>Aphanocapsa spp.</i>	1.13 x 10 ⁴	1,634	7,552	9,440	6,293	3.51 x 10 ⁴	1.10 x 10 ⁴	1.19 x 10 ⁴	1.78 x 10 ⁴	1.19 x 10 ⁴	5,941	3.78 x 10 ⁴	
<i>Glaucospira sp.</i>	1.64 x 10 ⁴	8,169	1.42 x 10 ⁵	1.46 x 10 ⁵	7.01 x 10 ⁴	2.11 x 10 ⁵	5.03 x 10 ⁴	1.22 x 10 ⁶	1.07 x 10 ⁶	2.01 x 10 ⁵	2.70 x 10 ⁵	5.21 x 10 ⁴	
<i>J. subtilissimum</i>	1.11 x 10 ⁵	2.08 x 10 ⁴	8.65 x 10 ⁴	7.72 x 10 ⁴	4.95 x 10 ⁵	3.78 x 10 ⁵	3.20 x 10 ⁵	2.75 x 10 ³	3.18 x 10 ⁵	4.06 x 10 ⁴	1.56 x 10 ⁴	1.21 x 10 ⁵	
<i>L. planctonica</i>	2.09 x 10 ⁵	3.32 x 10 ⁵	2.15 x 10 ⁵	2.42 x 10 ⁵	2.09 x 10 ⁵	5.18 x 10 ⁵	8.89 x 10 ⁵	3.53 x 10 ³	3.81 x 10 ⁵	2.56 x 10 ⁵	4.18 x 10 ⁵	1.38 x 10 ⁵	
<i>M. glauca</i>	1,416	5,991	1,416	1,770	4,720	8,777	4,114	5,941	1.49 x 10 ⁴	1.19 x 10 ⁴	2,228	3,540	
<i>M. aeruginosa</i>	0	0	0	0	0	5,851	1.10 x 10 ⁴	2,971	0	0	5,941	0	
<i>M. flos-aquae</i>	0	0	0	0	0	5,851	5,486	2,791	5,941	0	0	0	
<i>O. limosa</i>	7,080	0	1.89 x 10 ⁴	2.36 x 10 ⁴	4.13 x 10 ⁴	2.56 x 10 ⁴	2.47 x 10 ⁴	1.45 x 10 ⁴	1.45 x 10 ⁴	2.74 x 10 ⁴	2.67 x 10 ⁴	0	
<i>Pl. limnetica</i>	7,080	0	2.81 x 10 ⁴	2.51 x 10 ⁴	8.26 x 10 ⁴	0	1.03 x 10 ⁴	4.75 x 10 ⁴	1.19 x 10 ⁴	5,941	0	8,260	
<i>Ps. limnetica</i>	7.93 x 10 ⁴	8.58 x 10 ⁴	1.04 x 10 ⁴	6,490	1.47 x 10 ⁵	4.10 x 10 ⁴	1.03 x 10 ⁴	9,655	4,827	5,199	1.00 x 10 ⁵	4.30 x 10 ⁵	
<i>R. raciborskii</i>	3.70 x 10 ⁴	2,781	9.63 x 10 ⁴	1.07 x 10 ⁵	8.79 x 10 ⁴	6.66 x 10 ⁵	1.43 x 10 ⁶	1.88 x 10 ⁶	1.19 x 10 ⁶	4.68 x 10 ⁵	1.06 x 10 ⁵	3.80 x 10 ⁴	
<i>Snowella sp</i>	2,360	4,357	2,360	1,475	7,867	1.17 x 10 ⁴	1.10 x 10 ⁴	1.19 x 10 ⁴	1.78 x 10 ⁴	2.23 x 10 ⁴	1.19 x 10 ⁴	9,440	
<i>Synechocystis sp.</i>	1,652	681	4,956	2,065	11,013	0	9,600	2,228	4,456	0	0	4,720	
Укупно	4.85 x 10 ⁵	4.62 x 10 ⁵	6.25 x 10 ⁵	6.56 x 10 ⁵	1.16 x 10 ⁶	1.93 x 10 ⁶	2.80 x 10 ⁶	3.87 x 10 ⁶	3.06 x 10 ⁶	1.05 x 10 ⁶	8.63 x 10 ⁵	8.47 x 10 ⁵	

Табела 19. Анализа цијанобактерија Александровачког језера током 2021. године.

2020											
Година	Јан	Феб	Мар	Апр	Мај	Јун	Јул	Авг	Сеп	Окт	Нов
Месец	Јан	Феб	Мар	Апр	Мај	Јун	Јул	Авг	Сеп	Окт	Нов
Dec	Dec	Dec	Dec	Dec	Dec	Dec	Dec	Dec	Dec	Dec	Dec
[ћел./mL]											
Cyanobacteria											
<i>A. elenkinii</i>	2,065	3,304	4,956	0	8,260	6,144	4,800	280	5,199	2,599	2,599
<i>A. minutissima</i>	0	0	0	9,440	2,83 x 10 ⁴	2,81 x 10 ⁴	3,29 x 10 ⁴	1,280	1,78 x 10 ⁴	0	0
<i>Aphanocapsa</i> spp.	4,72 x 10 ⁴	1,51 x 10 ⁴	1,13 x 10 ⁴	9,440	9,440	4,21 x 10 ⁴	1,10 x 10 ⁴	640	2,38 x 10 ⁴	5,941	1,19 x 10 ⁴
<i>Glaucospira</i> sp.	6,25 x 10 ⁴	2,45 x 10 ⁴	4,09 x 10 ⁴	1,77 x 10 ⁵	1,95 x 10 ⁵	2,53 x 10 ⁵	1,26 x 10 ⁵	4,92 x 10 ⁴	1,25 x 10 ⁶	4,01 x 10 ⁵	4,05 x 10 ⁴
<i>J. subtilissimum</i>	1,74 x 10 ⁵	1,38 x 10 ⁵	2,07 x 10 ⁵	1,08 x 10 ⁵	7,42 x 10 ⁵	4,53 x 10 ⁵	2,80 x 10 ⁵	1,0510 ⁶	3,60 x 10 ⁵	6,09 x 10 ⁴	1,94 x 10 ⁵
<i>L. planctonica</i>	1,56 x 10 ⁵	2,31 x 10 ⁵	2,09 x 10 ⁵	2,69 x 10 ⁵	3,13 x 10 ⁵	6,21 x 10 ⁵	9,38 x 10 ⁵	1,02 x 10 ⁶	3,94 x 10 ⁵	3,00 x 10 ⁵	4,61 x 10 ⁵
<i>M. glauca</i>	1,770	2,832	2,832	1,770	7,080	1,05 x 10 ⁴	8,229	8,42 x 10 ⁵	1,78 x 10 ⁴	1,19 x 10 ⁴	4,456
<i>M. aeruginosa</i>	0	0	0	0	0	7,021	5,486	6,32 x 10 ⁴	0	0	2,971
<i>M. flos-aquae</i>	0	0	0	0	0	7,021	5,486	1,76 x 10 ⁴	8,912	0	0
<i>O. limosa</i>	0	7,080	1,42 x 10 ⁴	2,36 x 10 ⁴	6,20 x 10 ⁴	3,07 x 10 ⁴	4,94 x 10 ⁴	1,40 x 10 ⁴	1,45 x 10 ⁴	1,37 x 10 ⁴	1,34 x 10 ⁴
<i>Pl. limnetica</i>	4,130	7,080	7,080	3,51 x 10 ⁴	5,1,24 x 10 ⁵	0	3,09 x 10 ⁴	1,30 x 10 ⁵	1,78 x 10 ⁴	1,19 x 10 ⁴	0
<i>Ps. limnetica</i>	4,14 x 10 ⁵	9,25 x 10 ⁴	4,96 x 10 ⁴	1,30 x 10 ⁴	2,21 x 10 ⁵	4,92 x 10 ⁴	2,06 x 10 ⁴	5,97 x 10 ⁴	1,93 x 10 ⁴	1,04 x 10 ⁴	9,47 x 10 ⁴
<i>R. raciborskii</i>	4,43 x 10 ⁴	4,11 x 10 ⁴	7,20 x 10 ⁴	1,21 x 10 ⁵	1,31 x 10 ⁵	7,99 x 10 ⁵	1,32 x 10 ⁶	1,33 x 10 ⁶	1,22 x 10 ⁶	6,24 x 10 ⁵	1,59 x 10 ⁵
<i>Snowella</i> sp	4,720	3,540	4,720	2,950	5,900	1,40 x 10 ⁴	1,10 x 10 ⁴	4,84 x 10 ⁵	2,97 x 10 ⁴	8,91 x 10 ⁴	2,38 x 10 ⁴
<i>Synechocystis</i> sp.	0	3,304	1,652	6,195	8,260	0	4,800	3,16 x 10 ⁴	2,228	0	3,713
Укупно	9,10 x 10 ⁵ 5,70 x 10 ⁵ 6,25 x 10 ⁵ 7,76 x 10 ⁵ 1,77 x 10 ⁶ 2,32 x 10 ⁶ 2,84 x 10 ⁶ 5,09 x 10 ⁶ 3,38 x 10 ⁶ 1,53 x 10 ⁶ 1,01 x 10 ⁶ 7,37 x 10 ⁵										

Анализом бројности цијанобактерија приказаних у Табелама 18. и 19., постаје могуће идентификовати периоде повећане активности цијанобактерија, као и периоде релативне стабилности или опадања. Дакле, ови увиди могу бити од помоћи у откривању основних фактора који утичу на раст и пролиферацију цијанобактерија у језеру Александровачком језеру. Редовно праћење састава и бројности цијанобактерија у Александровачком језеру представља један од приступа у разумевању и управљању потенцијалним еколошким неравнотежама.

Тачни узроци и комплексне везе који су довели до учесталих појава токсичних цијанобактеријских „цветања“ слатких језера у умереним регионима широм света у последњим деценијама нису потпуно разјашњени. Ипак, јасно је да се овај тренд може повезати са јединственом екофизиологијом цијанобактерија, урбанизацијом, појачаним процесима еутрофикације, глобалним загревањем и климатским променама (Scholz и сар. 2017).

Добијени резултати бројности цијанобактерија су у позитивној корелацији са температуром ваздуха. Наиме, примећено је да је август месец представља месец са максималном заступљеношћу цијанобактерија. Осим тога, може се уочити и разлика између максималних вредности цијанобактерија у августу 2020. године (3.89×10^6 ћел./mL) и августу 2021. године (5.09×10^6 ћел./mL), што је у складу са порастом вредности атмосферске температуре у том месецу (разлика између вредности максималне атмосферске температуре износила је $2.5\text{ }^{\circ}\text{C}$; Kandić и сар. 2022).

Анализом добијених резултата је такође примећено да се бројност *R. raciborskii* повећала током топлх месеци и смањила током јесење - зимског периода. У овој студији, утврђено је да бројност *R. raciborskii* била у складу са променама атмосферске температуре, што је у корелацији са резултатима добијеним од стране Ђорђевић и сар. 2015, где је присуство виших температурних вредности представљено као главни фактор одговоран за масовни развој *R. raciborskii*. Поред тога, током истраживања спроведеног у реци Поњавици 2008. године, Karadžić и сар. 2013, такође су показали врхунац бројности *R. raciborskii* током лета.

Бројност *R. raciborskii* прати тренд, са минимумом од 2.78×10^3 ћел./mL у фебруару 2020. године када је просечна температура била $4.3\text{ }^{\circ}\text{C}$, до максимума од 1.88×10^6 ћел./mL у августу 2020. године када је просечна температура износила $21.3\text{ }^{\circ}\text{C}$ (са максимално рекордним $34.5\text{ }^{\circ}\text{C}$). У фебруару 2021. године измерена је количина *R. raciborskii* од 4.11×10^4 ћел./mL, на просечној температури од $4.3\text{ }^{\circ}\text{C}$, док је максимална вредност *R. raciborskii* износила 1.33×10^6 ћел./mL у августу 2021. године, при просечној температури од $23\text{ }^{\circ}\text{C}$, са највишом забележеном од $37\text{ }^{\circ}\text{C}$. Добијени резултати су у корелацији са студијама Recknagel и сар. (2014) и Soares и сар. (2013), где је описано да ће се цветање чешће дешавати на температури од $25 - 32\text{ }^{\circ}\text{C}$, имајући у виду да ово се сматра тропском врстом по свом изворном подручју. Распрострањеност врсте *R. raciborskii*, која укључује и тропске и умерене температурне регионе, вероватно је повезана са условима климатских промена које доводе до тога да врста шири свој ареал.

4.5. Анализа цијанотоксина у Александровачком језеру

Праћење присуства цијанотоксина у водама за пиће и рекреацију је веома важно због заштите људског здравља. Посебо је важно да се прате цијанотоксини у воденим телима где је примећен цијанобактеријски „цвет“. Према препорукама СЗО (СЗО, 2003) уколико бројност цијанобактерија прелази 10×10^6 ћел./mL потребно је пратити присуство MC-LR. Прелиминарна испитивања анализе цијанотоксина урађена су 2017. године и обухватала су одређивање концентрације три форме микроцистина (MC-RR, MC-LR и MC-YR), у свим узорцима вредности су биле $<0.5 \mu\text{g/L}$. У Табели 20. приказане су врсте које су потенцијални продуценти цијанотоксина у Александровачком језеру. Услед присуства потенцијалних продуцената цијанотоксина у Александровачком језеру и прекомерне бројности цијанобактерија, вода је испитивана у јуну 2021. године.

Табела 20. Потенцијални продуценти цијанотоксина (Beasley, 2020).

Цијанобактерија	Цијанотоксин
<i>Anabaenopsis elenkinii</i>	недетерминисано
<i>Anathece minutissima</i>	недетерминисано
<i>Aphanocapsa</i> spp.	микроцистин
<i>Glaucospira</i> sp.	недетерминисано
<i>Jaaginema subtilissimum</i>	недетерминисано
<i>Limnothrix planctonica</i>	недетерминисано
<i>Merismopedia glauca</i>	недетерминисано
<i>Microcystis aeruginosa</i>	анатоксин, микроцистин
<i>Microcystis flos-aquae</i>	микроцистин
<i>Oscillatoria limosa</i>	микроцистин
<i>Planktolyngbya limnetica</i>	недетерминисано
<i>Pseudanabaena limnetica</i>	анатоксин
<i>Rhaphidiopsis raciborskii</i>	цилиндроспермопсин, сакситоксин
<i>Snowella</i> sp.	недетерминисано
<i>Synechocystis cf. aquatilis</i>	недетерминисано

На основу детектованих потенцијалних продуцената, изабрани цијанотоксини који су детектовани су микроцистини (MC-RR, MC-LR и MC-YR) и цилиндроспермопсин (CYN). Мерења су обављена у јуну, октобру и новембру 2022. године. фокусирајући се на интраћелијско и ванћелијско присуство цијанотоксина у води. Резултази LC - MS анализе воде за су приказани у Табели 21.

Табела 21. Присуство цијанотоксина у Александровачком језеру.

Узорковање	Цијанотоксини [$\mu\text{g/L}$]							
	MC-RR		MC-LR		MC-YR		CYN	
	И**	С***	И**	С***	И**	С***	И**	С***
Јун 2022. године	<МДК*	<МДК*	<МДК*	<МДК*	<МДК*	<МДК*	<МДК*	<МДК*
Октобар 2022. године	0.03	0.17	0.67	1.38	<МДК*	<МДК*	0.79	<МДК*
Новембар 2022. године	0.02	<МДК*	0.10	<МДК*	<МДК*	<МДК*	0.44	<МДК*
Април 2024. године	<МДК*	<МДК*	<МДК*	<МДК*	<МДК*	<МДК*	<МДК*	<МДК*

*Минимална детектибилна концентрација (МДК): $0.005 \mu\text{g/L}$.

И-интраћелијско, *С – слободно у води.

У јуну 2022. године, концентрације цијанотоксина су биле испод границе детекције за све измерене цијанотоксине, и интрацелуларно и слободне у води. Забележени подаци указује да су нивои цијанотоксина били или веома ниски или непостојећи током овог периода. Одсуство микроцистина може указати на период релативно ниске активности цијанобактерија или потенцијално одсуство сојева који производе токсин током тог одређеног временског оквира. Одсуство интрацелуларних и екстрацелуларних цијанотоксина је у складу са повољним сценаријем квалитета воде, што одражава мањи ризик од штетног цветања алги и повезаних токсина, иако је бројност цијанобактерија била 3.73×10^6 ћел./mL, а доминантна врста је била *Raphidiopsis raciborskii* са 2.75×10^6 ћел./mL.

Прелазећи на октобар 2022. године, могу се уочити значајне промене у концентрацијама цијанотоксина. MC-RR је детектован на 0.03 µg/L интрацелуларно и 0.17 µg/L слободне у води. MC-LR је имао концентрације од 0.67 µg/L интрацелуларно и 1.38 µg/L слободне у води. MC-YR и CYN су били испод границе детекције. Добијени резултати указују на присуство MC-RR, MC-LR и потенцијално других неидентификованих цијанотоксина у води језера током октобра 2022. године.

У новембру 2022. године концентрације цијанотоксина су остале релативно ниске у односу на октобар 2022. године. MC-RR је откривен на 0.02 µg/L интрацелуларно и MC-LR је пронађен на 0.10 µg/L интрацелуларно. Док MC-YR и CYN су били испод границе детекције. Присуство ових цијанотоксина, чак и у релативно ниским концентрацијама, захтева пажњу због њихових потенцијалних штетних ефеката и на водене екосистеме и на здравље људи. Временске варијације у присуству цијанотоксина наглашавају сезонску динамику и важност периодичног праћења како би се ухватиле флукуације у квалитету воде.

Подаци указују на временске варијације у концентрацијама цијанотоксина у води Александровачког језера. Нивои цијанотоксина били су испод граница детекције у јуну, док су се повећали у октобру и благо смањили у новембру 2022. године. Забележени налази наглашавају динамичку природу присуства цијанотоксина у језеру и важност праћења њихових концентрација током времена.

Откривено присуство MC-RR и MC-LR, наглашава потребу за ефикасним методама за уклањање ових токсина из воде.

4.6. Примена активних угљеничних материјала на узорцима воде из Александровачког језера

Александровачко језеро је идентификовано као водно тело са значајним присуством цијанобактерија и цијанотоксина, а осим тога и са slabим еколошким потенцијалом. Услед повећаног присуства цијанобактерија и цијанотоксина у води у дужем временском периоду које представљају претњу по екосистем и људско здравље језеро је релевантно и одговарајуће окружење за процену учинка синтетисаних материјала у њиховом уклањању.

Да би се проценила ефикасност ових синтетисаних материјала, узоркована је и тестирана вода из језера. Материјали су примењени на узорцима воде, а потом је процењено уклањање цијанобактерија и цијанотоксина из узорака воде из језера. Испитиван је и механизам адсорбције цијанобактерија као и цијанотоксина. Механизам је одређен FTIR анализом како би се на што бољи начин објаснило деловање материјала.

4.6.1. Уклањање цијанобактерија из воде

4.6.1.1. Испитивање утицаја времена на уклањање цијанобактерија

Активни угљенични материјали су примењени за уклањање цијанобактерија из воде Александровачког језера које је узорковано у августу 2021. године. У Табелама 22, 23. и 24. приказани су резултати уклањања цијанобактерија пре и након третмана. Укупна почетна вредност цијанобактерија у Александровачком језеру у августу 2021. године је била око 5×10^6 ћел./mL.

Након третмана сирове воде Александровачког језера активним угљеничним материјалом добијеним од листа палме након 15 минута бројност ћелија је око 1.79×10^4 ћел./mL. Према СЗО (2003) смерницама те вредности указују да је вода погодна за рекреативне сврхе. Међутим, вода постаје погодна за пиће тек након 12 сати када је тај број испод 2,000 ћел./mL. Резултати након 24 сата показују да је вода према резултатима безбедна за употребу са релативно малим бројем цијанобактерија (710 ћел./mL).

Ефикасност третмана се може приметити јер је неколико врста потпуно уклоњено у року од само 15 минута (*Anabaenopsis elenkinii*, *Anathece minutissima*, *Merismopedia glauca*, *Microcystis aeruginosa*, *Microcystis flos-aquae*, *Oscillatoria limosa*, *Planktolyngbya limnetica*, and *Synechocystis aquatilis*). Ово је посебно значајно јер је познато да врсте *M. aeruginosa*, *M. flos-aquae* и *O. limosa* потенцијално производе микроцистин.

Међу врстама које су остале након третмана воде постоје две колонијске форме: *Aphanocapsa* spp. и *Snowella* sp. *Snowella* sp. је уклоњен након једног сата третмана, док је *Aphanocapsa* sp. је уклоњена након 4 сата третмана, што указује на његову осетљивост на P_{AC}. Уклањање *Aphanocapsa* spp. је значајно због потенцијалне производње микроцистина. Међу врстама које су такође остале након третмана налазе се трихалне форме као што су *Glaucospira* sp., *Jaaginema subtilissimum*, *Limnothrix planctonica*, *Pseudanabaena limnetica* и *Rhaphidiopsis raciborskii*. *Ps. limnetica* је уклоњена након 8 сати третмана. Третманом P_{AC} је значајно смањена бројност *R. raciborskii* са 1.33×10^6 ћел./mL на 104 ћел./mL, постижући скоро 100 % уклањање. Мора се нагласити да је уклањање *R. raciborskii* изузетно важно због његове потенцијалне продукције цилиндроспермопсина. Из приказаних резултата може се закључити да је P_{AC} показао високу ефикасност у уклањању различитих врста цијанобактерија. Неколико врста, укључујући продуcente микроцистина, потпуно су уклоњени. Све у свему, резултати показују снажну ефикасност P_{AC} у ублажавању штетног утицаја цијанобактеријског „цветања“.

Табела 22. Бројност цијанобактерија пре и после третмана воде, P_AC (250 mg/25 mL), август 2021. година.

Cyanobacteria	Пре третмана	Након третмана P_AC							
		15 min	30 min	1 h	2 h	4 h	8 h	12 h	24 h
		[ћел/mL]							
<i>A. elenkinii</i>	280	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>A. minutissima</i>	1,280	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Aphanocapsa</i> spp.	640	411	183	137	112	32	0	0	0
<i>Glaucospira</i> sp.	4.92 x 10 ⁴	4,900	4,702	3,792	442	767	670	308	143
<i>J. subtilissimum</i>	1.05 x 10 ⁶	3,792	2,719	2,077	1,260	235	392	12	0
<i>L. planctonica</i>	1.02 x 10 ⁶	4,279	4,450	4,010	1,604	1,666	942	892	463
<i>M. glauca</i>	8.42 x 10 ⁵	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>M. aeruginosa</i>	6.32 x 10 ⁴	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>M. flos-aquae</i>	1.76 x 10 ⁴	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>O. limosa</i>	1.40 x 10 ⁴	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>P. limnetica</i>	1.30 x 10 ⁵	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>P. limnetica</i>	5.97 x 10 ⁴	2,112	1,918	448	280	672	0	0	0
<i>R. raciborskii</i>	1.33 x 10 ⁶	1,962	1,594	1,202	386	533	494	154	104
<i>Snowella</i> sp.	4.84 x 10 ⁵	466	206	103	0	0	0	0	0
<i>Synechocystis</i> sp.	3.16 x 10 ⁴	0	0	0	0	0	0	0	0
SUM	5.09 x 10 ⁶	1.79 x 10 ⁴	1.58 x 10 ⁴	1.18 x 10 ⁴	4,084	3,905	2,498	1,366	710
Ефикасност уклањања [%]		99.65	99.69	99.77	99.92	99.92	99.95	99.97	99.99

Применом активног угљеничног материјала A_AC добијен је од плода црне јове након 30 минута постигнута је бројност цијанобактерија од 1.64×10^4 ћел./mL, што омогућава да вода након третмана може бити погодна за употребу у рекреативне сврхе према смерницама СЗО (2003). Вода након третмана од 24 сата показује да је бројност цијанобактерија била око 600 ћел./mL што значи да је вода безбедна за пиће према смерницама СЗО (2003).

Неколико врста је потпуно уклоњено након третмана A_AC. Посебно, у року од само 15 минута, уклоњен је велики број врста укључујући *Anabaenopsis elenkinii*, *Anathece minutissima*, *Aphanocapsa* spp., *Microcystis aeruginosa*, *Microcystis flos-aquae*, *Planktolingbya limnetica*, and *Synechocystis aquatilis*.

Међу колонијалним облицима, *Merismopedia glauca* је потпуно уклоњена након 30 минута третмана A_AC. За уклањање врсте *Snowella* sp., био је потребно дуже време третмана и потпуно је уклоњена након 12 сати. На основу тога може се закључити да A_AC је погодан за уклањање оваквих форми цијанобактерија.

Међу преосталим врстама након третмана, постоје трихалне форме укључујући *Glaucospira* sp., *Jaaginema subtilissimum*, *Limnothrix planctonica*, *Oscillatoria limosa*, *Pseudanabaena limnetica* и *Rhaphidiopsis raciborskii*. За врсте је примећен тренд посепеног уклањања у току време, али врста *O. limosa* је била потпуно уклоњена након сат времена третмана. Врста *R. raciborskii* је ефикасније уклоњена помоћу A_AC у поређењу са P_AC. Бројност је значајно смањена након 15 минута. Међутим, бројност је варијала током експеримента, достижући 98 ћел./mL након 24 сата (~ 100 % уклањања).

Табела 23. Бројност цијанобактерија пре и после третмана воде, А_АС, (250 mg/25 mL), август 2021. година.

Cyanobacteria	Пре третмана	Након третмана A_AC							
		15 min	30 min	1 h	2 h	4 h	8 h	12 h	24 h
		[ћел./mL]							
<i>A. elenkinii</i>	280	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>A. minutissima</i>	1,280	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Aphanocapsa</i> spp.	640	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Glaucospira</i> sp.	4.92 x 10 ⁴	4,465	2,444	2,250	2,996	539	940	499	93
<i>J. subtilissimum</i>	1.05 x 10 ⁶	2,454	4,049	2,732	2,288	1,976	933	872	193
<i>L. planctonica</i>	1.02 x 10 ⁶	3,974	3,153	3,098	3,111	1,110	734	712	194
<i>M. glauca</i>	8.42 x 10 ⁵	137	0	0	0	0	0	0	0
<i>M. aeruginosa</i>	6.32 x 10 ⁴	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>M. flos-aquae</i>	1.76 x 10 ⁴	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>O. limosa</i>	1.40 x 10 ⁴	9,288	5,024	0	0	0	0	0	0
<i>P. limnetica</i>	1.30 x 10 ⁵	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>P. limnetica</i>	5.97 x 10 ⁴	320	242	189	112	68	74	84	28
<i>R. raciborskii</i>	1.33 x 10 ⁶	3,616	941	669	229	203	213	194	98
<i>Snowella</i> sp.	4.84 x 10 ⁵	2,674	571	221	82	48	40	0	0
<i>Synechocystis</i> sp.	3.16 x 10 ⁴	0	0	0	0	0	0	0	0
SUM	5.09 x 10 ⁶	2.69 x 10 ⁴	1.64 x 10 ⁴	9,159	8,818	3,944	2,934	2,361	606
Ефикасност уклањања [%]		99.47	99.68	99.82	99.83	99.92	99.94	99.95	99.99

Резултати након А_АС третмана су показали ефикасност овог материјала у уклањању различитих врста, показали су различите степене ефикасности у уклањању различитих форми цијанобактерија. Потпуно уклањање одређених врста и значајно смањење броја ћелија наглашавају потенцијал ових третмана у управљању штетним цијанобактеријским „цветањем“.

Комерцијални активни угљеник С_АС показао је значајно ниже уклањање цијанобактерија у поређењу са Р_АС и А_АС. Након 15 - минутног третмана, бројност цијанобактерија по mL била је већа од 8.10×10^5 , док је након 24 сата третмана број цијанобактерија био око 4.22×10^5 ћел./mL. То значи да иако комерцијални материјал адсорбује велику количину цијанобактерија, број ћелија у води је и даље изузетно висок и вода није безбедна за употребу, ни у рекреативне сврхе, а ни за пиће (СЗО, 2003).

Примена материјала С_АС резултирала је потпуним уклањањем неколико врста тек након 24 сата третмана, укључујући: *Anabaenopsis elenkinii*, *Anatheece minutissima*, *Microcystis aeruginosa*, *Microcystis flos-aquae*, *Oscillatoria limosa*, *Planktolyngbya limnetica*, *Snowella* sp., and *Synechocystis aquatilis*. Ипак, наведене врсте су ефикасно уклоњене, показујући потенцијал С_АС у борби против штетног цијанобактеријског „цветања“ али не у истој мери као материјали Р_АС и А_АС.

Међу врстама које су остале у води након третмана налазе се и потенцијални продуценти цијанотоксина. Врсте које су остале су *Aphanocapsa* spp. (247 ћел./mL), *Pseudanabaena limnetica* (1.06×10^4 ћел./mL) и *Rhaphidiopsis raciborskii* (5,916 ћел./mL). Присуство ових врста наглашава потребу за даљим третманом или проналаском другачијих стратегија управљања, како би се решили њихови потенцијални штетни ефекти. Нарочити је проблем детектована бројност *R. raciborskii* у води након третмана.

Табела 24. Бројност цијанобактерија пре и после третмана воде, C_AC (250 mg/25 mL), август 2021. година.

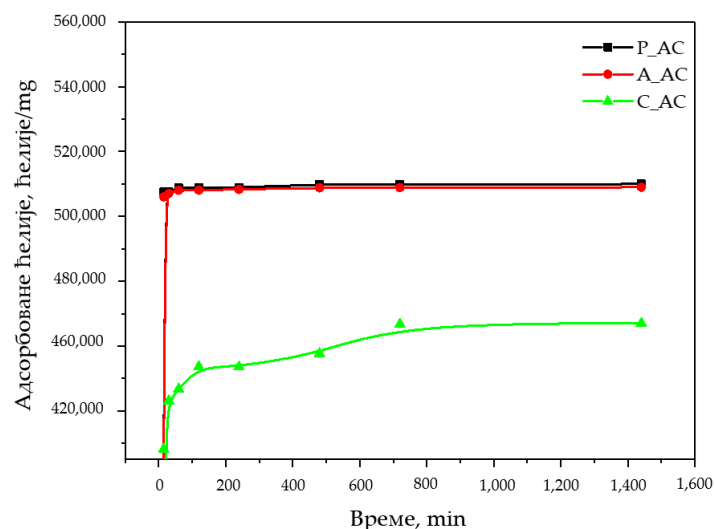
Cyanobacteria	Након третмана C_AC							
	15 min	30 min	1 h	2 h	4 h	8 h	12 h	24 h
	[ћел./mL]							
<i>A. elenkinii</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>A. minutissima</i>	415	297	706	277	356	118	59	0
<i>Aphanocapsa</i> spp.	556	415	358	289	237	320	190	247
<i>Glaucospira</i> sp.	4.74×10^4	4.83×10^4	3.76×10^4	3.84×10^4	2.93×10^4	2.74×10^4	2.83×10^4	2.09×10^4
<i>J. subtilissimum</i>	1.95×10^5	1.27×10^5	9.74×10^4	6.49×10^4	8.74×10^4	7.37×10^4	7.55×10^4	1.58×10^4
<i>L. planctonica</i>	1.37×10^5	1.05×10^5	1.05×10^5	9.13×10^4	6.92×10^4	7.76×10^4	6.85×10^4	6,206
<i>M. glauca</i>	2.72×10^5	2.30×10^5	2.29×10^5	2.27×10^5	2.61×10^5	2.81×10^5	2.25×10^5	3.63×10^5
<i>M. aeruginosa</i>	8,912	6,812	5,955	6,975	6,912	6,971	0	0
<i>M. flos-aquae</i>	1.63×10^4	1.79×10^4	1.59×10^4	1.89×10^4	1.26×10^4	541×10^4	0	0
<i>O. limosa</i>	6,684	7,280	1.34×10^4	1.18×10^4	8,434	3,832	140	0
<i>P. limnetica</i>	1.11×10^4	1.01×10^4	1.27×10^4	9,283	8,270	1,280	222	0
<i>P. limnetica</i>	4.75×10^4	4.94×10^4	5.60×10^4	5.94×10^4	4.75×10^4	3.16×10^4	1.07×10^4	1.06×10^4
<i>R. raciborskii</i>	2.97×10^4	2.86×10^4	2.51×10^4	2.14×10^4	2.38×10^4	1.10×10^4	1.69×10^4	5,916
<i>Snowella</i> sp.	2.97×10^4	2.38×10^4	1.97×10^4	2,858	478	183	0	0
<i>Synechocystis</i> sp.	8,912	7,427	5,941	4,129	1,485	0	0	0
SUM	8.11×10^5	6.62×10^5	6.25×10^5	5.57×10^5	5.57×10^5	5.16×10^5	4.25×10^5	4.23×10^5
Ефикасност уклањања [%]	84.08	87.01	87.73	89.07	89.06	89.87	91.65	91.70

Колонијална врста *Merismopedia glauca*, показала је највећу густину након третмана, са ефикасношћу уклањања од само 56 % након 24 сата. Важно је напоменути да је колонијални облик ове врсте варирао од узорка до узорка, а број ћелија унутар колонија није био конзистентан у свим узорцима. Ова варијабилност у колонијалној структури је можда допринела нижој ефикасности уклањања уоченој за *M. glauca*. Примећене су варијације у бројности цијанобактерија и показано је да је потребно дуже време третмана да би се постигли бољи резултати уклањања. Могуће је да структура материјала није оптимална за уклањање присутних врста цијанобактерија. У циљу постизања већег степена уклањања неопходна су даља истраживања и усавршавања приступа третману, како би се ефикасно решили поменути изазови.

Испитивањем способности адсорпције активних угљеничних материјала, могуће је оценити њихову ефикасност и потенцијалну примену. Наведена анализа је значајна за разумевање понашања адсорбената у условима који симулирају реалне системе за пречишћавање воде. Резултати адсорпције цијанобактерија по mg активних угљеничних материјала добијених од листа урмине палме, плода црне јове и комерцијалног активног угљеника приказани су на Слици 38. На основу представљених резултата (Слика 38.) може се уочити растући тренд адсорпције ћелија током времена. За P_AC материјал добијен из стабљике листа урмине палме, адсорпција ћелија по mg материјала била је 2.03×10^4 ћел./mg током 15 минута и 2.04×10^4 ћел./mg током 24 сата.

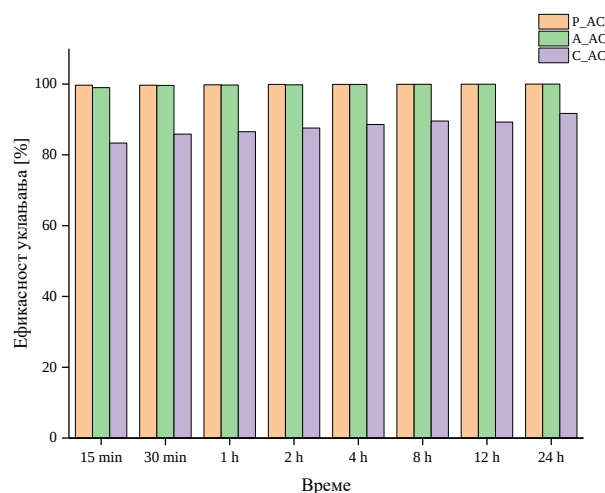
Према овим резултатима, наведени материјал показује да за то време адсорбује скоро исту количину ћелија. Време не утиче на његову способност адсорбовања. Материјал добијен од плода црне јове A_AC адсорбује у року од 15 минута 2.02×10^4 ћел./mg адсорбента, а након 24

сата бројност је 2.04×10^4 ћел./mg. Најмањи број ћелија по mg материјала које су адсорбоване показао је комерцијални активни угљеник C_AC, од 1.70×10^4 до 1.87×10^4 ћел./mg адсорбента. Материјал C_AC показује много мањи капацитет адсорпције по mg материјала у поређењу са претходна два описана материјала.



Слика 38. Утицај времена на ефикасност уклањања ћелија применом P_AC, A_AC и C_AC материјала.

Поред наведеног, ефикасност уклањања је одређена на основу бројности цијанобактерија у језерској води пре и након третмана (Слика 39).

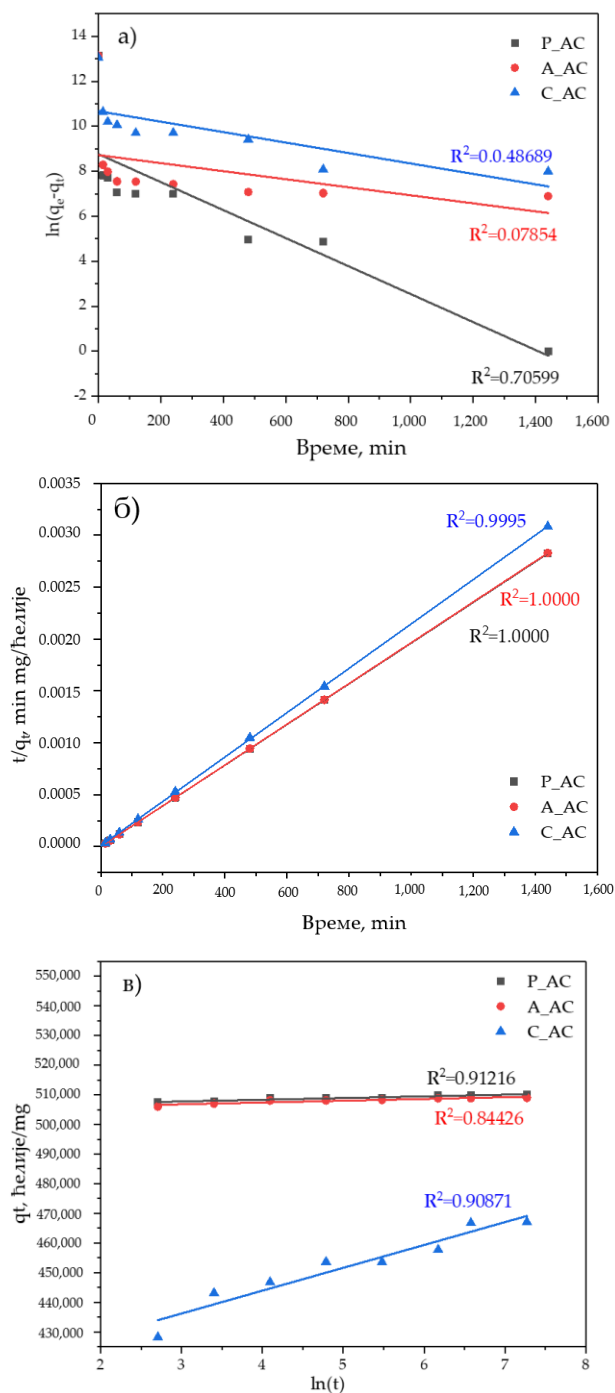


Слика 39. Ефикасност уклањања цијанобактерија применом P_AC, A_AC и C_AC материјала.

Ефикасност уклањања цијанобактерија из узорка сирове воде применом P_AC и A_AC је константна и износи скоро 100 %. Иако C_AC показује ефикасност уклањања од ~83 % након 15 минута и ~90 % након 24 сата, бројност цијанобактерија је и даље знатно већа у поређењу са P_AC и A_AC.

У циљу разумевања кинетике адсорпције, као и механизма уклањања цијанобактерија коришћени су различити кинетички модели како би се анализирали експериментални подаци.

За фитовање добијених резултата коришћени су Псеудо I и Псеудо II кинетични модел, као и Elovich модел, а резултати су приказани на Слици 40 и у Табели 25.



Слика 40. Кинетички модели уклањања цијанобактерија применом P_AC, A_AC и C_AC материјала. а) псеудо I модел; б) псеудо II модел; в) Elovich модел.

Као што се може видети из Слике 40 и Табеле 25, модел који најрелевантније описује уклањање цијанобактерија употребом P_AC, A_AC и C_AC је модел Псеудо-II реда. За овај модел постигнуто је најбоље слагање са експерименталним подацима за сва три адсорбента ($R^2 > 0.99$). Константе брзине и иницијалне брзине за сва три адсорбента биле су сличне, што

показује да се процес уклањања цијанобактерија из водених раствора одвијао готово истом брзином за све материјале. Међутим, ако се узме у обзир да су приближно исте брзине уклањања постигнуте са три материјала која се значајно разликују по специфичним површинама (36.6 за Р_АС, 485 за А_АС и 1,100 m²/g за С_АС, Табела 9), може се закључити да је најефикасније адсорбовање цијанобактерија било са Р_АС, затим са А_АС, док је најмање било за С_АС. Усаглашеност експерименталних резултата са моделом Псеудо-II реда указује на следеће: (1) адсорпција се одвија на специфичним местима, без интеракције између цијанобактерија; (2) енергија адсорпције је независна од доступности слободне површине; (3) постизање једнослојне покривености на површини адсорбента доводи до максималне адсорпције; и (4) количина цијанобактерија остаје непромењена) (Agbovi и Wilson, 2021). Поред тога, модел Псеудо-II реда указује да је у процес уклањања укључен комплексан механизам, при чему је најбоља корелација уочена када је корак који одређује брзину идентификован као хемијска реакција између адсорбента и адсорбата (хемисорпција) (Kandić и сар. 2024).

Табела 25. R² примењених кинетичких модела и карактеристичних параметара модела који најрелевантније описује уклањање цијанобактерија примењеним материјалима.

Материјал	Р_АС	А_АС	С_АС
Кинетички модел		Псеудо I модел	
R ²	0.70599	0.07854	0.48689
Kinetic model		Elovich модел	
R ²	0.91216	0.84426	0.90871
Кинетички модел		Псеудо II модел	
q _e , експериментални, ћел./mg	509,999	509,009	467,053
q _e , теоријски (ћел./mg)	510,058	509,048	467,864
k ₂ , mg min/ћел.	3.84 × 10 ⁻¹²	3.86 × 10 ⁻¹²	4.57 × 10 ⁻¹²
h, ћел. min/mg	0.99901	0.99765	1.00036
R ²	1.0000	1.0000	0.9995

У овом механизму, кинетика процеса адсорпције повезује се са две реверзибилне реакције другог реда при већим односима адсорбат/адсорбент, као и једном реверзибилном реакцијом другог реда при нижим односима адсорбат/адсорбент (Agbovi и Wilson, 2021). Експериментални резултати за Р_АС и А_АС показали су да је стање равнотеже успостављено врло брзо, а више од 99 % цијанобактерија (око 5 × 10⁵ ћел./mg) је уклоњено већ након 15 минута (Слика 40). Висока стопа уклањања цијанобактерија указује да је физичка адсорпција доминантна и да се највећи део цијанобактерија уклања управо механизмом који не укључује формирање хемијских веза. С друге стране, добра усаглашеност добијених резултата са кинетичким моделом псеудо II реда може указивати на то да иако је физиорпција доминантна, одређени, део цијанобактерија се уклања механизмом хемисорпције. За С_АС, равнотежа (максимално уклањање цијанобактерија) је постигнута након 12 сати, значајно спорије него за Р_АС и А_АС (Слика 40). Добијени резултати могу указивати на већи допринос хемисорпције у уклањању цијанобактерија, у поређењу са Р_АС и А_АС.

Приликом третмана воде може доћи до њиховог скраћивања, односно цепања трихома. У Табели 26. приказане су просечне дужине трихалних врста пре и након третмана (Kandić и сар. 2022). Из Табеле 26. можемо да приметимо да се дужина јединки смањује након третмана. Најизраженије су разлике код врста које су већ на самом почетку имале већу дужину, односно код врста *Pseudanabaena limnetica* и *Rhaphidiopsis raciborskii*, док са друге стране код врсте *Glaucospira* sp. не долази до значајног смањења.

Табела 26. Трихалне врсте Александровачког језера, август 2021. пре и након третмана.

Врста	Просечна дужина ћелије [µm]	Просечна дужина трихома пре третмана [µm]	Дужина трихома након третмана од 24 h		
			P_AC	A_AC	C_AC
<i>Anabaenopsis elenkinii</i>	7	30	—	—	—
<i>Glaucospira sp.</i>	1.5	35	23-30	21-35	21-36
<i>Jaaginema subtilissimum</i>	1.7	48	20-41	18-45	21-48
<i>Limnothrix planctonica</i>	5	59	16-21	13-27	15-29
<i>Oscillatoria limosa</i>	3	37	30-35	—	32-35
<i>Planktolyngbya limnetica</i>	2	17	—	—	—
<i>Pseudanabaena limnetica</i>	5	141	38-63	32-59	39-62
<i>Rhaphidiopsis raciborskii</i>	7	71	27-41	15-45	25-47

Резултати указују на значајан потенцијал примењених активних угљеничних материјала за уклањање цијанобактерија, а њихова висока ефикасност може се приписати специфичној структури микропора и мезопора.

4.5.1.2. Испитивање утицаја масе адсорбента на уклањање цијанобактерија

У даљем испитивању примене активних угљеничних материјала изабран је само материјал синтетсан од плода црне јове (A_AC). Тај избор је донет услед пређашњих експеримената P_AC и C_AC и утврђених њихових недостатака. Наиме, на основу анализа цитотоксичности и генотоксичности, утврђено је да је P_AC (материјал добијен од палминог листа) непожељан за употребу због високог цитотоксичног и генотоксичног потенцијала. Нежељени ефекти уочени у овим експериментима указују на то да P_AC може представљати ризик и за људско здравље и за животну средину, што га чини неприкладним за даљу примену у уклањању цијанобактерија и цијанотоксина. Осим тога, према Правилнику Републике Србије (2019), 42/98 и 44/99) и Правилнику СЗО (2011), концентрација Ni се налази на граничној вредности, док је концентрација Mo изнад границе. Ефикасност C_AC (комерцијални активни угљеник) у уклањању цијанобактерија није испунила жељена очекивања на основу прелиминарних резултата. Као резултат тога, одлучено је да се не настави са експериментима који га укључују. Такође, за C_AC је забележен да је утицај на здравље људи негативан. Иако ни један елемент који је испитиван не прелази дозвољену концентрацију, збирно могу имати негативан утицај на здравље људи. Насупрот горе наведеном, A_AC показао је задовољавајуће резултате у почетним експериментима, посебно у погледу уклањања цијанобактерија после 30 – минутних третмана. На основу добијених позитивних резултата, A_AC је одређен као једини материјал који треба размотрити за даља истраживања. Да би се обезбедила репрезентативност и упоредивост у наредним експериментима, као стандардизовани временски оквир за истраживање изабрано је временско трајање од 30 минута. На овај начин се омогућава процена ефикасности A_AC у уклањању цијанобактерија и постизању жељених стандарда квалитета воде. За експеримент је одабран јун месец 2022. године, јер је то период када се у води Александровачког језера јавља висока бројност цијанобактерија, која у овом периоду достигла 3.73×10^6 ћел./mL. У заједници је доминирала врста *R. raciborskii* са 2.75×10^6 ћел./mL, при чему су биле примарно примећене младе јединке. Овај месец је био идеалан за испитивање ефикасности материјала у уклањању цијанобактерија, захваљујући повољним условима који су подстицали њихов раст и повећану бројност. Тиме је омогућено праћење ефикасности различитих количина адсорбента у контексту велике бројности цијанобактерија у води. Резултати утицаја масе адсорбента на уклањање цијанобактерија, као и зависности од запремине узорка воде приказани су у Табелама 27 - 31.

Табела 27. Ефекат количине на уклањање цијанобактерија у 25 mL, јун 2022. година.

Cyanobacteria	Пре третмана	Након третмана са A_AC [mg]									
		[ћел./mL]									
		4,686	2,023	1,372	1,546	678	17	13	200	250	
<i>A. elenkinii</i>	0	8,429	4,615	2,498	2,911	1,450	30	35	0	0	
<i>A. minutissima</i>	2.81 x 10 ⁴	5,644	3,091	1,674	1,949	971	20	23	0	0	
<i>Aphanocapsa</i> spp.	5.62 x 10 ⁴	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Glaucospira</i> sp.	3.76 x 10 ⁴	4.82 x 10 ⁴	2.64 x 10 ⁴	1.43 x 10 ⁴	1.66 x 10 ⁴	8,295	173	189	0	0	
<i>J. subtilissimum</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>L. planctonica</i>	3.21 x 10 ⁵	2,107	1,154	625	728	365	8	0	0	0	
<i>M. glauca</i>	0	3,742	2,593	1,126	1,364	772	13	21	0	0	
<i>M. aeruginosa</i>	1.40 x 10 ⁴	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>M. flos-aquae</i>	2.81 x 10 ⁴	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>O. limosa</i>	0	2.58 x 10 ⁴	1.41 x 10 ⁴	7,651	8,914	4,442	93	106	0	0	
<i>Pl. limnetica</i>	0	4.13 x 10 ⁵	2.26 x 10 ⁵	1.22 x 10 ⁵	1.43 x 10 ⁵	7.11 x 10 ⁴	1,483	1,695	0	0	
<i>Ps. limnetica</i>	1.72 x 10 ⁵	4.74 x 10 ⁴	2.60 x 10 ⁴	1.41 x 10 ⁴	1.64 x 10 ⁴	8,159	171	195	0	0	
<i>R. raciborskii</i>	2.75 x 10 ⁶	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Snowella</i> sp.	3.16 x 10 ⁵	5.59 x 10 ⁵	3.06 x 10 ⁵	1.66 x 10 ⁵	1.93 x 10 ⁵	9.62 x 10 ⁴	2,008	2,295	0	0	
<i>Synechocystis</i> sp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Укупно	3.73 x 10 ⁶	5.59 x 10 ⁵	3.06 x 10 ⁵	1.66 x 10 ⁵	1.93 x 10 ⁵	9.62 x 10 ⁴	2,008	2,295	0	0	
Ефикасност уклањања [%]		85.00	91.78	95.55	94.82	97.42	99.95	99.94	100	100	

Табела 28. Ефекат количине на уклањање цијанобактерија у 250 mL, јун 2022. година.

Cyanobacteria	Пре третмана	Након третмана са A_AC [mg]									
		[ћел./mL]									
		10	20	35	50	75	100	150	200	250	
<i>A. elenkinii</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>A. minutissima</i>	2.81 x 10 ⁴	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Aphanocapsa</i> spp.	5.62 x 10 ⁴	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Glaucospira</i> sp.	3.76 x 10 ⁴	1.23 x 10 ⁵	2.15 x 10 ⁵	1.34 x 10 ⁵	1.08 x 10 ⁵	2.43 x 10 ⁴	2.65 x 10 ⁴	3.19 x 10 ⁴	1.36 x 10 ²	2.80 x 10 ⁴	
<i>J. subtilissimum</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>L. planctonica</i>	3.21 x 10 ⁵	2.90 x 10 ⁵	1.63 x 10 ⁵	2.23 x 10 ⁵	1.43 x 10 ⁵	1.15 x 10 ⁴	7,569	5,421	7,625	5,050	
<i>M. glauca</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>M. aeruginosa</i>	1.40 x 10 ⁴	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>M. flos-aquae</i>	2.81 x 10 ⁴	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>O. limosa</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pl. limnetica</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Ps. limnetica</i>	1.72 x 10 ⁵	9.86 x 10 ⁴	1.09 x 10 ⁵	4.99 x 10 ⁴	8.29 x 10 ⁴	9,803	7,135	0	0	0	0
<i>R. raciborskii</i>	2.75 x 10 ⁶	5.32 x 10 ⁵	5.11 x 10 ⁵	5.69 x 10 ⁵	5.02 x 10 ⁵	3.14 x 10 ⁴	3.23 x 10 ⁴	5.61 x 10 ⁴	7.06 x 10 ²	2.13 x 10 ⁴	
<i>Snowella</i> sp.	3.16 x 10 ⁵	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Synechocystis</i> sp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Укупно	3.73 x 10 ⁶	1.04 x 10 ⁶	9.98 x 10 ⁵	9.77 x 10 ⁵	8.35 x 10 ⁵	7.70 x 10 ⁴	7.34 x 10 ⁴	9.35 x 10 ⁴	1.8 x 10 ⁵	5.44 x 10 ⁴	
Ефикасност уклањања [%]		72.00	73.20	73.78	77.57	97.93	98.03	97.49	97.54	98.54	

Табела 29. Ефекат количине на уклањање цијанобактерија у 500 mL, јун 2022. година.

Cyanobacteria	Пре третмана	Након третмана са A_AC [mg]									
		[ћел./mL]									
		10	20	35	50	75	100	150	200	250	
<i>A. elenkinii</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>A. minutissima</i>	2.81 x 10 ⁴	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Aphanocapsa</i> spp.	5.62 x 10 ⁴	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Glaucospira</i> sp.	3.76 x 10 ⁴	1.65 x 10 ⁵	1.74 x 10 ⁵	1.09 x 10 ⁵	4.0510 ⁴	5.0110 ⁴	3.7310 ⁴	2.8010 ⁴	2.5710 ⁴	9,324	
<i>J. subtilissimum</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>L. planctonica</i>	3.21 x 10 ⁵	1.45 x 10 ⁵	2.92 x 10 ⁵	1.67 x 10 ⁵	5.38 x 10 ⁴	5.04 x 10 ⁴	1.43 x 10 ⁴	1.21 x 10 ⁴	1.15 x 10 ⁴	2,867	
<i>M. glauca</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>M. aeruginosa</i>	1.40 x 10 ⁴	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>M. flos-aquae</i>	2.81 x 10 ⁴	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>O. limosa</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pl. limnetica</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Ps. limnetica</i>	1.72 x 10 ⁵	5.29 x 10 ⁴	8.25 x 10 ⁴	3.98 x 10 ⁴	2.74 x 10 ⁴	1.49 x 10 ⁴	1.42 x 10 ⁴	0	0	0	0
<i>R. raciborskii</i>	2.75 x 10 ⁶	9.62 x 10 ⁵	5.00 x 10 ⁵	4.63 x 10 ⁵	1.75 x 10 ⁵	1.33 x 10 ⁵	6.38 x 10 ⁴	2.49 x 10 ⁵	4.65 x 10 ⁴	2.39 x 10 ⁴	
<i>Snowella</i> sp.	3.16 x 10 ⁵	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Synechocystis</i> sp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Укупно	3.73 x 10 ⁶	1.33 x 10 ⁶	1.05 x 10 ⁶	7.78 x 10 ⁵	2.97 x 10 ⁵	2.49 x 10 ⁵	1.30 x 10 ⁵	2.89 x 10 ⁵	8.36 x 10 ⁴	3.61 x 10 ⁴	
Ефикасност уклањања [%]		64.43	71.86	79.11	92.03	93.33	96.52	92.25	97.76	99.03	

Табела 30. Ефекат количине на уклањање цијанобактерија у 750 mL, јун 2022. година.

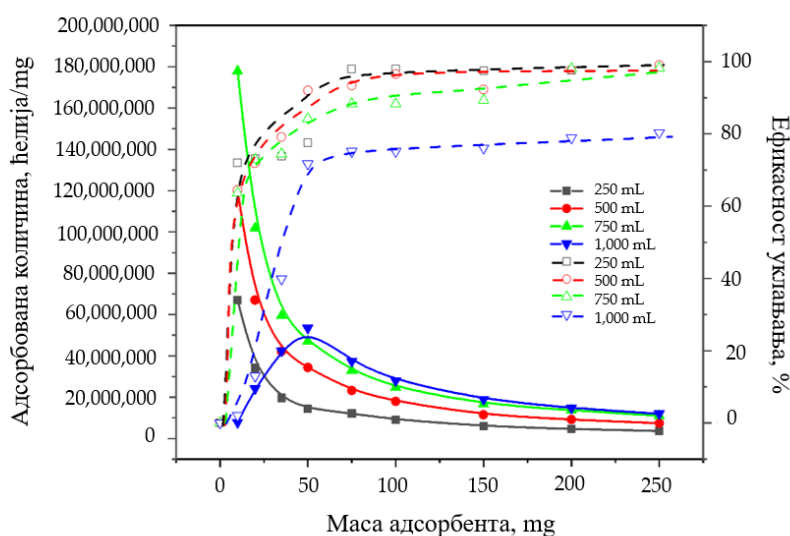
Cyanobacteria	Пре третмана	Након третмана са A_AC [mg]									
		[ћел./mL]									
		10	20	35	50	75	100	150	200	250	
<i>A. elenkinii</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>A. minutissima</i>	2.81 x 10 ⁴	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Aphanocapsa</i> spp.	5.62 x 10 ⁴	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Glaucospira</i> sp.	3.76 x 10 ⁴	2.06 x 10 ⁵	1.30 x 10 ⁵	4.41 x 10 ⁴	1.38 x 10 ⁵	7.61 x 10 ⁴	9.83 x 10 ⁴	1.33 x 10 ⁵	1.98 x 10 ⁴	2.53 x 10 ⁴	
<i>J. subtilissimum</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>L. planctonica</i>	3.21 x 10 ⁵	2.96 x 10 ⁵	1.82 x 10 ⁵	1.42 x 10 ⁵	1.25 x 10 ⁵	1.31 x 10 ⁵	9.70 x 10 ⁴	1.15 x 10 ⁵	1.50 x 10 ⁴	9,751	
<i>M. glauca</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>M. aeruginosa</i>	1.40 x 10 ⁴	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>M. flos-aquae</i>	2.81 x 10 ⁴	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>O. limosa</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Pl. limnetica</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Ps. limnetica</i>	1.72 x 10 ⁵	9.02 x 10 ⁴	6.95 x 10 ⁴	4.35 x 10 ⁴	4.70 x 10 ⁴	5.23 x 10 ⁴	2.46 x 10 ⁴	1.65 x 10 ⁴	5,124	0	
<i>R. raciborskii</i>	2.75 x 10 ⁶	7.62 x 10 ⁵	6.28 x 10 ⁵	7.22 x 10 ⁵	2.79 x 10 ⁵	1.76 x 10 ⁵	2.17 x 10 ⁵	1.32 x 10 ⁵	3.23 x 10 ³	0.4 x 10 ⁴	
<i>Snowella</i> sp.	3.16 x 10 ⁵	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Synechocystis</i> sp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Укупно	3.73 x 10 ⁶	1.35 x 10 ⁶	1.01 x 10 ⁶	9.52 x 10 ⁵	5.89 x 10 ⁵	4.35 x 10 ⁵	4.37 x 10 ⁵	3.97 x 10 ⁵	7.22 x 10 ⁴	6.55 x 10 ⁴	
Ефикасност уклањања [%]		63.66	72.92	74.46	84.18	88.33	88.27	89.33	98.06	98.24	

Табела 31. Ефекат количине на уклањање цијанобактерија у 1,000 mL, јун 2022. година.

Cyano bacteria	Пре третмана	Након третмана са A_AC [mg]									
		[ћел./mL]									
		10	20	35	50	75	100	150	200	250	
<i>A. elenkinii</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>A. minutissima</i>	2.81 x 10 ⁴	2.82 x 10 ⁴	2.37 x 10 ⁴	1.75 x 10 ⁴	7,611	7,731	6,391	7,107	5,657	5,645	
<i>Aphanocapsa</i> spp.	5.62 x 10 ⁴	5.50 x 10 ⁴	4.89 x 10 ⁴	3.38 x 10 ⁴	1.59 x 10 ⁴	1.40 x 10 ⁴	1.40 x 10 ⁴	1.35 x 10 ⁴	1.19 x 10 ⁴	1.10 x 10 ⁴	
<i>Glaucospira</i> sp.	3.76 x 10 ⁴	3.68 x 10 ⁴	3.27 x 10 ⁴	2.26 x 10 ⁴	1.06 x 10 ⁴	9,348	9,351	9,007	7,941	7,397	
<i>J. subtilissimum</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>L. planctonica</i>	3.21 x 10 ⁵	3.14 x 10 ⁵	2.80 x 10 ⁵	1.93 x 10 ⁵	9.08 x 10 ⁴	7.98 x 10 ⁴	7.99 x 10 ⁴	7.69 x 10 ⁴	6.78 x 10 ⁴	6.32 x 10 ⁴	
<i>M. glauca</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>M. aeruginosa</i>	1.40 x 10 ⁴	1.37 x 10 ⁴	1.22 x 10 ⁴	8,444	3,969	3,490	3,492	3,363	2,964	2,761	
<i>M. flos-aquae</i>	2.81 x 10 ⁴	2.68 x 10 ⁴	2.52 x 10 ⁴	1.63 x 10 ⁴	2,263	6,229	7,573	6,343	6,201	5,401	
<i>O. limosa</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Pl. limnetica</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Ps. limnetica</i>	1.72 x 10 ⁵	1.68 x 10 ⁵	1.50 x 10 ⁵	1.03 x 10 ⁵	4.86 x 10 ⁴	4.28 x 10 ⁴	4.28 x 10 ⁴	4.12 x 10 ⁴	3.63 x 10 ³	3.38 x 10 ⁴	
<i>R. raciborskii</i>	2.75 x 10 ⁶	2.69 x 10 ⁶	2.40 x 10 ⁶	1.66 x 10 ⁶	7.78 x 10 ⁵	6.84 x 10 ⁵	6.84 x 10 ⁵	6.59 x 10 ⁵	5.81 x 10 ⁵	5.41 x 10 ⁵	
<i>Snowella</i> sp.	3.16 x 10 ⁵	3.09 x 10 ⁵	2.75 x 10 ⁵	1.90 x 10 ⁵	8.93 x 10 ⁴	7.85 x 10 ⁴	7.85 x 10 ⁴	7.57 x 10 ⁴	6.67 x 10 ⁴	6.21 x 10 ⁴	
<i>Synechocystis</i> sp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Укупно	3.73 x 10 ⁶	3.65 x 10 ⁶	3.24 x 10 ⁶	2.24 x 10 ⁶	1.05 x 10 ⁶	9.26 x 10 ⁵	9.26 x 10 ⁵	8.92 x 10 ⁵	7.86 x 10 ⁵	7.33 x 10 ⁵	
Ефикасност уклањања [%]		2.09	12.97	39.87	71.74	75.15	75.14	76.06	78.89	80.34	

Резултати приказани у Табели 27. показали су да је за ефикасност примењеног материјала за уклањање цијанобактерија > 90 % за запремину од 25 mL и да је потребно најмање 20 mg A_AC. За запремину од 250 mL (Табела 28) за ефикасност уклањања цијанобактерија већу од 90 % потребно је најмање 75 mg A_AC, док је за запремину од 500 mL (Табела 29) потребно најмање 50 mg A_AC да би се постигла ефикасност у уклањању цијанобактерија већа од 90 %. За запремину од 750 mL (Табела 30), више од 90 % цијанобактерија може се уклонити са најмање 200 mg A_AC. За већу запремину од 1,000 mL (Табела 31), за добро уклањање цијанобактерија (~ 80 %) потребно је најмање 250 mg A_AC.

Поред детаљне карактеризације материјала, од велике је важности дефинисати механизам уклањања цијанобактерија и његову повезаност са карактеристикама материјала. Да би се то постигло потребно је испитати утицај различитих параметара и почетних услова на ефикасност материјала. Један од тих параметара је утицај масе адсорбента на ефикасност уклањања. Испитивања су вршена за масу адсорбента у интервалу од 10 до 250 mg и запремину од 25 до 1,000 mL, а резултати су приказани на Слици 41. Приказано је упоредо и уклањање цијанобактерија по mg материјала и ефикасност уклањања у зависности од масе адсорбента и запремине воде.



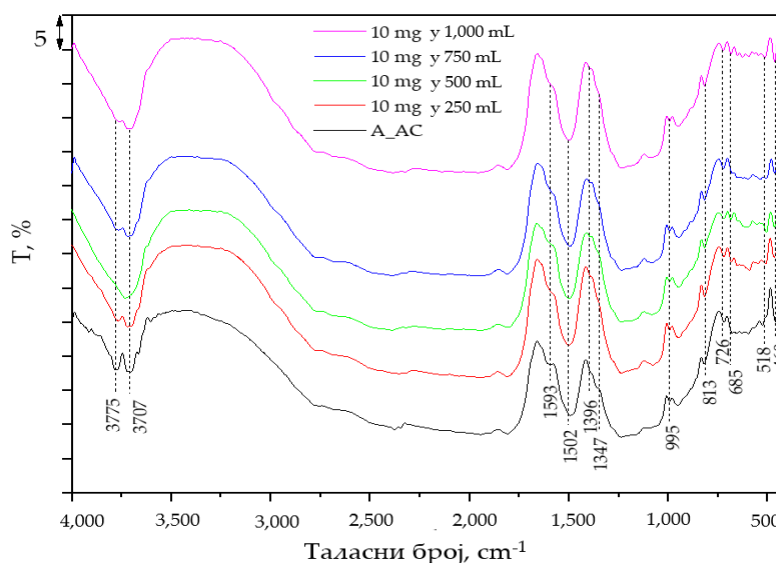
Слика 41. Утицај масе материјала на ефикасност адсорпције цијанобактерија (ћел./mg) и проценат адсорпције (испрекидана линија).

Дијаграми зависности адсорбоване количине цијанобактерија (ћел./mg) и ефикасности уклањања (%) приказују да повећање масе адсорбента до 50 mg доводи до значајног повећања процента адсорпције цијанобактерија (више од 80 % за запремине 250 - 750 mL и 70 % за 1,000 mL). Овакви резултати су очекивани с обзиром да повећање масе адсорбента повећава број адсорпционих центара. Након тога, проценат уклањања се мање повећава (10-20 %, до ~100 % за 250-750 mL и до 80 % за 1,000 mL) и систем улази у равнотежу, па даље повећање количине адсорбента није довело до значајног повећања ефикасности. Заправо, то је резултат потпуног уклањања цијанобактерија из раствора (за запремине од 250 до 750 mL), при чему даље повећање масе адсорбента није имало ефекта, јер су активна места остала непопуњена. Даље, успостављање адсорпционе равнотеже која је постигнута за 1,000 mL (није 100 %) може бити показатељ да се компоненте цијанобактерија делимично или потпуно везују за површину адсорбента у хоризонталном положају. Тиме једна цијанобактерија заузима више од једног активног места, тако да повећање масе адсорбента са 50 на 250 mg није било довољно повећање

броја активних места и самим тим није било довољно за адсорпцију свих цијанобактерија. Са Слике 41. се уочава да најбољи капацитет адсорпције за уклањање цијанобактерија постиже се при најнижим количинама A_AC (10 mg у одговарајућој запремини). Са већим садржајем чврсте фазе, повећава се вероватноћа контакта честица адсорбента, што може довести до њихове агрегације. Самим тим смањује се и специфична површина доступна за уклањање цијанобактерија, што заједно доводи до смањења капацитета и ефикасности уклањања цијанобактерија (Kandić и сар. 2024). Добијени резултати указују да се повећањем садржаја чврсте фазе не може неограничено повећавати контактна површина између цијанобактерија и површине адсорбента, већ да може доћи до супротног ефекта, те је стога потребно бити посебно обазрив при одређивању најбољег односа течне и чврсте фазе (Kragović, 2014, Kandić и сар. 2024).

4.6.2. Механизам адсорпције цијанобактерија

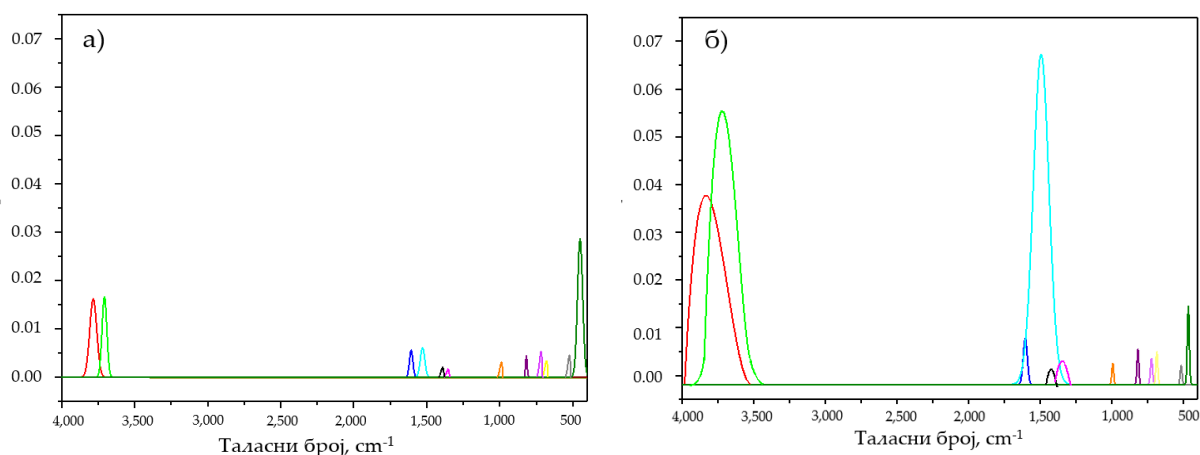
Снимљени су инфрацрвени спектри (FTIR) за почетни узорак (A_AC) и узорак након третмана воде из Александровачког језера да би се дефинисао потенцијални механизам уклањања цијанобактерија коришћењем A_AC као адсорбента. С циљем добијања најбоље видљивости процеса снимљени су спектри из претходно наведених експеримената где је коришћена најмања количина A_AC (10 mg) за уклањање цијанобактерија из запремине од 250, 500, 750 и 1,000 mL и резултати су приказани на Слици 42.



Слика 42. FTIR спектар A_AC пре и након адсорпције цијанобактерија.

Са спектра полазног узорка A_AC могу се уочити спектралне траке карактеристичне за целулозу и лигнин. Спектралне траке на 3,775 and 3,707 cm^{-1} потичу од истежућих вибрација O-H групе, које потичу од физички адсорбоване воде (Liu и сар. 2015). У спектру се такође примећују и траке карактеристичне за ароматичне скелетне вибрације целулозе (1,600 - 1,500 cm^{-1}) (Nandiyanto и сар. 2019). Траке у интервалу од 1,400 до 1,300 cm^{-1} потичу од савијајућих вибрација C-H групе, док трака на око 1,000 cm^{-1} потиче од вибрација C-O. Трака на 995 cm^{-1} може да потиче од деформације ароматичних C-H група у равни, док трака на 813 cm^{-1} може потиче од вибрације ароматичних C-H група изван равни вибрације (Nandanwar и сар. 2016; Invernizzi и сар. 2018). Трака слабог интензитета која се налази на 726 cm^{-1} потиче од присуства моноклинске целулозе и вибрација CH₂ група (Boukir и сар. 2019). Трака на 685 cm^{-1} потиче од $\delta\text{O-H}_{\text{оор}}$ савијајућих вибрација у равни (Boukir и сар. 2019). Док двоструке траке на 518 и 460 cm^{-1}

¹ могу бити приписане С-С вибрацијама (Seyedzadeh и сар. 2017). На FTIR спектрима контаминираниог материјала након везивања цијанобактерија видљиве су спектралне траке карактеристичне за почетни узорак, а због преклапања нису примећене траке карактеристичне за цијанобактерије, као ни нове траке. Да би се утврдиле разлике, за фитовање добијених спектра коришћена је Гаусова функција. Спектри за почетни узорак и контаминирание узорке, укључујући почетни А_АС и узорак након адсорпције цијанобактерија (10 mg А_АС у 1,000 mL језерске воде), приказани су на Слици 43. Максимуми спектралних трака и одговарајуће површине пикова дати су у Табели 32.



Слика 43. Гаусове функције за: а) почетни А_АС и б) узорак након адсорпције цијанобактерија.

Видљиве су само промене интензитета трака са Сlike 40 и из Табеле 32. Најзначајније повећање интензитета, као и површина пикова, су регистроване за пикове код којих долази до преклапања спектралних трака највећег интензитета (у опсегу 3,700 - 3,800 cm^{-1} и 1,500 - 1,600 cm^{-1}).

Табела 32. Карактеристични параметри Гаусове функције. $\tilde{\nu}^{\wedge}$ - таласни бројеви карактеристични за цијанобактерије (Özer и сар. 2016), $\tilde{\nu}$ – максимум траке, А – релативна површина траке, Δ – разлика између површине трака пре и након третмана А_АС

Почетни А_АС узорак			Након третмана А_АС		
$\tilde{\nu}'$, cm^{-1}	$\tilde{\nu}'$, cm^{-1}	A	$\tilde{\nu}$, cm^{-1}	A	Δ
3,568	3,775	0.98175	3,775	15.12997	+14.14822 (+15.4)
2,925	3,707	0.68266	3,707	1.78243	+1.09977 (+2.60)
1,732	1,593	0.16457	1,593	0.34478	+0.18021 (+2.10)
1,664	1,502	0.23796	1,502	9.202262	+ 8.96430 (+38.7)
1,543	1,396	0.01450	1,396	0.0137	-0.0008 (-0.06)
1,453	1,347	0.04556	1,347	0.05415	+ 0.00859 (+1.20)
1,380	995	0.05281	995	0.07417	+ 0.02136 (+1.40)
1,258	813	0.06282	813	0.11885	+0.05603 (+1.90)
1,160	726	0.11415	726	0.10249	-0.01166 (-0.10)
1,090	685	0.06981	685	0.11732	+0.04751 (+1.68)
1,034	518	0.08382	518	0.06483	-0.01899 (-0.29)
	460	1.26002	460	0.29245	-0.96757 (-4.30)

За траке у опсегу од 500 до 1,500 cm^{-1} нису примећене значајне промене, а за траку на 460 cm^{-1} због присуства цијанобактерија на површини узорка А_АС вибрације С-С су биле измењне, а као последица тога, смањен је интензитет спектралних трака. У спектру узорка након третмана

нису уочене нове спектралне траке, што значи да се на површини узорка A_AC након уклањања цијанобактерија нису формирале нове хемијске везе, или да је број тих веза веома мали. Са те тачке се може претпоставити да се физичка адсорпција јавља на површини A_AC као доминантан процес. Молекули целулозе и лигнина који су главне компоненте A_AC, поседују и поларне и неполарне крајеве (Lindman и сар. 2017, Ilmiati и сар. 2018). За целулозу, поларни карактер потиче од -ОН група, док неполарна крај потиче од C-H ланца (Lindman и сар. 2017). Код лигнина, поларни карактер молекула је доминантан у поређењу са неполарним због присуства хидроксилних група и бензенових прстенова, где хидроксилне групе имају доминантан утицај у односу на остале функционалне групе. Већ је поменуто да је за цијанобактерије познато да се њихов ћелијски зид углавном састоји од протеинских молекула такозваних S-слојева и различитих структура угљених хидрата, у зависности од цијанобактерија. S-слојеви су дводимензионални кристални низови формиран од једне врсте (глико)протеина који покрива целу површину ћелије (Hoiczyk и Hansel, 2000). Једно од најважнијих својстава протеина је интеракција поларних и неполарних бочних ланаца са околином. Неполарни (хидрофобни) бочни ланци су окренути ка унутрашњости протеина, док су поларни (хидрофилни) бочни ланци окренути на спољашњем делу молекула (Alberts и сар. 2002). Из тог разлога и површина цијанобактерија има поларни карактер. Коначно, може се претпоставити да физичка адсорпција укључује слабу електростатичку интеракцију, Ван дер Валсове и Лондонове силе између -ОН група са површине A_AC и бочних ланаца аминокиселина (глико)протеина цијанобактерија. С обзиром да такве интеракције не подразумевају формирање хемијских веза, оне могу бити разлог и објашњење за веома брзу кинетику уклањања цијанобактерија. Физиорпција је важна и за потенцијалну поновну употребу једном коришћеног материјала, јер омогућава релативно једноставну десорпцију и регенерацију потрошеног материјала.

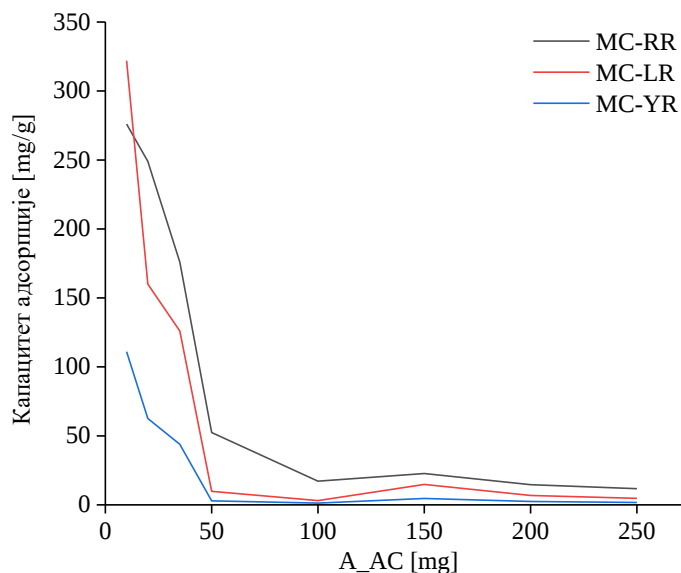
4.6.3. Уклањање цијанотоксина из воде

Примена материјала за уклањање микроцистина из воде је анализирана на узорку из Алкесандровачког језера (јун 2022. године, Табела 33). С обзиром да у узорку воде језера прелиминарно нису детектовани токсини ($<0.005 \mu\text{g/L}$; Табела 21), у воду је додата тачно дефинисана концентрација микроцистина за MC-RR, MC-LR и MC-YR (6.92 mg/L , 5.34 mg/L и 1.65 mg/L).

Табела 33. Ефекат масе A_AC на уклањање микроцистина у 1,000 mL, јун 2022. година.

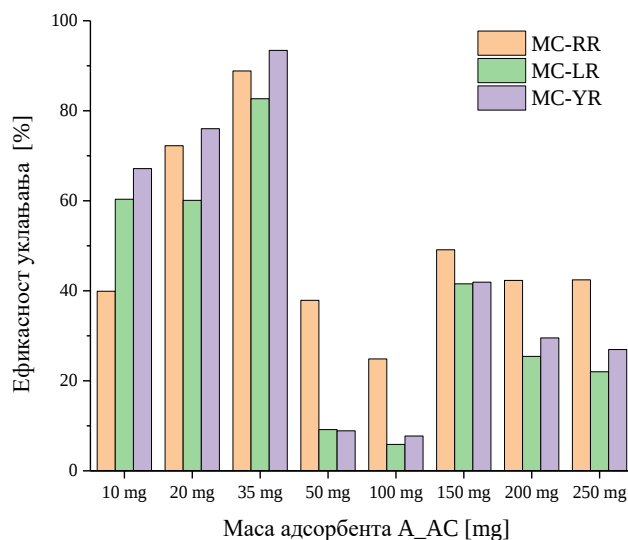
Микроцистин	Јединица	Пре третмана	После третмана са A_AC [mg]							
			10	20	35	50	100	150	200	250
MC-RR	[mg/L]	6.92	4.16	1.92	0.77	4.3	5.20	3.52	3.99	3.98
MC-LR		5.34	2.12	2.13	0.93	4.85	5.03	3.12	3.98	4.16
MC-YR		1.65	0.54	0.39	0.11	1.50	1.52	0.96	1.16	1.2
MC-RR	[%]	100	39.90	72.23	88.86	37.88	24.86	49.12	42.31	42.45
MC-LR		100	60.34	60.10	82.67	9.17	5.86	41.54	25.42	22.01
MC-YR		100	67.14	76.01	93.43	8.90	7.75	41.93	29.54	26.95
MC-RR	[mg/g]	/	276	249	176	52.4	17.2	22.7	14.6	11.7
MC-LR		/	322	160	126	9.79	3.13	14.80	6.78	4.70
MC-YR		/	111	62.6	43.9	2.93	1.28	4.60	2.43	1.77

Резултати показују да је А_АС био ефикасан у уклањању три врсте микроцистина (MC-RR, MC-LR и MC-YR) из водених раствора. За сва три облика микроцистина постоји општи тренд смањења адсорбоване количине са повећањем количине А_АС. Овакав тренд је уочен у многим процесима адсорпције, где повећање количине адсорбента може довести до zasiћења и смањене ефикасности (Kragović, 2014; Singh и Choden, 2016). MC-RR је генерално адсорбован у знатно већој количини у поређењу са MC-LR и MC-YR. На Слици 49. је приказан капацитет адсорпције микроцистина. За MC-RR, капацитет адсорпције се кретао од 11.7 mg/g до 276 mg/g, што је упоредиво са вредностима наведених за друге врсте активних угљеничних материјала (Pendleton и сар. 2001; Albuquerque и сар. 2008).



Слика 44. Адсорпција материјала А_АС.

Резултати се могу приписати великој BET површини и запремини мезопора активног угљеника коришћеног у овој студији. Велика специфична површина обезбеђује већу површину за адсорпцију, док мезопоре омогућавају лак приступ микроцистинима до места адсорпције. За MC-LR, адсорбована количина је била од 4.70 mg/g до 322 mg/g, а вредности су упоредиве са вредностима из литературе (Pendleton и сар. 2001; Albuquerque и сар. 2008). Резултати се могу објаснити сличним структурним својствима и наелектрисањима MC-LR и MC-RR, као и великом површином и запремином мезопора активног угљеничног материјала. Адсорбована количина за MC-YR кретала се од 1.77 mg/g до 111 mg/g, што је ниже у поређењу са MC-RR и MC-LR. Међутим, чак и при најнижој количини материјала (10 mg), уклоњена је значајна количина MC-YR, што указује на то да активни угљенични материјал остаје ефикасан у уклањању ове врсте микроцистина.



Слика 45. Ефикасност уклањања микроцистина са материјалом A_AC.

На основу датих резултата са Сlike 45, највећа ефикасност уклањања за сва три типа микроцистина, постигнута када је коришћено 35 mg A_AC у 1,000 mL воде. Одговарајућа ефикасност уклањања за ову количину материјала износила је 88.7 % за MC-RR, 82.58 % за MC-LR и 93.33 % за MC-YR. У случају када је количина активног угљеничног материјала ниска, доступна површина за ефикасно адсорбовање може бити ограничена, што може довести до тога да не буду адсорбовани сви молекули микроцистина присутни у раствору. Као резултат, ефикасност уклањања обично је нижа. Недовољна површина ограничава контакт између активног угљеника и молекула микроцистина, што омета процес адсорпције. Насупрот томе, када се користе веће количине активног угљеника, повећањем садржаја адсорбента повећава се ефикасности адсорпције, односно повећава се број активних центара за адсорпцију (Kragović, 2014). Међутим, постоји праг изнад којег површина постаје засићена, те додавање додатних количина активног угљеника не доводи до значајног повећања ефикасности уклањања (Singh и Choden, 2016). Оптимална количина активног угљеничног материјала у овом експерименту је 35 mg у 1,000 mL, јер је успостављена равнотежа између довољне површине за ефикасну адсорпцију и избегава се засићење материјала.

Резултати су потврдили да је активни угљенични материјал добијен од плода црне јове ефикасан у уклањању не само цијанобактерија већ и цијанотоксина, чиме се решава проблем и микроцистина и шири проблем „цветања“ цијанобактерија.

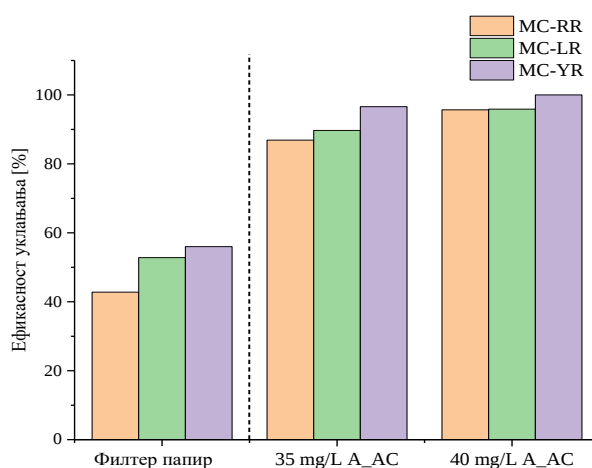
Наставак истраживања је обављао анализу цијанотоксина у новембру 2022. године и у сировом узорку воде је детектовано присуство микроцистина и цилиндроспемописа. У овој анализи, иако је утврђено да су цијанотоксини испод границе детекције екстрацелуларно, били су присутни у ћелијама (Табела 21). Утврђено је да су MC-RR, MC-LR и CYN присутни у концентрацијама од 0.02 $\mu\text{g/L}$, 0.10 $\mu\text{g/L}$ и 0.44 $\mu\text{g/L}$ (Kandić и сар. 2023 б). Након третмана са активним угљеничним материјалом A_AC забележено је одсуство ових токсина у узорку воде. Ови резултати могу се објаснити адсорпцијом цијанобактерија које садрже токсине, али их још увек нису отпустиле у воду. Ефикасно уклањање цијанобактерија из воде пре њиховог отпуштања токсина представља успешан приступ у спречавању контаминације воде цијанотоксинима (Verma и сар., 2023). Даљим истраживањем је испитивана најадекватнија количина материјала за уклањање микроцистина из воде, а урађен је следећи експеримент са водом из Александровачког језера из априла 2024. године (Табела 34).

У априлу 2024. године, анализе су показале да су испитани цијанотоксини били испод прага детекције ($< 0.005 \mu\text{g/L}$; Табела 21) у сировом узорку воде. У узорак сирове воде је додата тачно дефинисана концентрација микроцистина за MC-RR, MC-LR и MC-YR (5.34 mg/L , 12.53 mg/L и 3.39 mg/L). Испитано је дејство 35 mg и 40 mg A_AC у $1,000 \text{ mL}$ језерске воде у које је додат микроцистин у наведеним концентрацијама. Ради испитивања потенцијалне улоге филтер папира у процесу уклањања микроцистина, добијени резултати су приказани у Табели 34.

Табела 34. Ефекат масе A_AC на уклањање микроцистина у $1,000 \text{ mL}$, април 2024. година.

Микроцистин	Јединица	Пре третмана	Након филтер папира	После третмана са A_AC [mg]	
				35	40
MC-RR	[mg/L]	5.34	3.05	0.40	0.13
MC-LR		12.53	5.91	0.61	0.24
MC-YR		3.39	1.49	0.05	0
MC-RR	[%]	100	42.8	86.9	95.7
MC-LR		100	52.8	89.7	95.9
MC-YR		100	56.0	96.6	100
MC-RR	[mg/g]	/	/	75.71	73.00
MC-LR		/	/	151.43	141.75
MC-YR		/	/	41.14	37.25

Почетне концентрације микроцистина у узорцима воде пре третмана у априлу 2024. године се разликују у односу на вредности из експеримента рађеног у јуну 2022. године. Након филтрације, концентрације MC-LR и MC-YR су се усагласиле са нивоима токсина забележеним у јуну 2022. године, док је концентрација MC-RR умањена за 50 %. Тиме се постигло да почетне вредности буду уједначене. Иако је филтер папир уклонио значајан проценат микроцистина (42.8 %, 52.8 % и 56.0 % за MC-RR, MC-LR и MC-YR), утицај није био значајан у поређењу са третманом помоћу материјала A_AC који је представљен на Слици 46. Из тих разлога, да би се израчунала ефикасност уклањања микроцистина помоћу A_AC, концентрација након филтрације филтер папиром узета је као почетна концентрација за експеримент (Табела 34). При концентрацији A_AC од 35 mg/L , ефикасност уклањања износила је 86.9 %, 89.7 % и 96.6 % за MC-RR, MC-LR и MC-YR. При концентрацији A_AC од 40 mg/L , ефикасност уклањања била је 95.7 %, 95.9 % и 100 % за MC-RR, MC-LR и MC-YR.



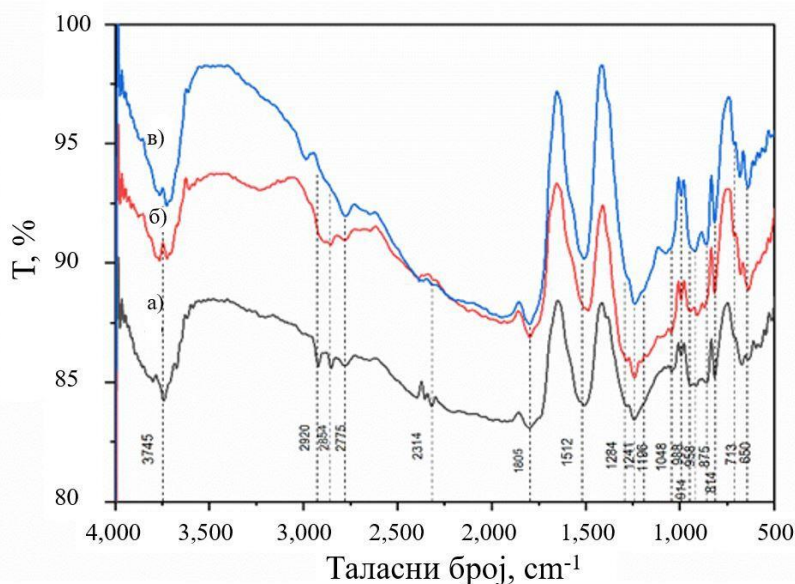
Слика 46. Ефикасност уклањања MC-RR, MC-LR и MC-YR са A_AC (35 и 40 mg/L) у поређењу са употребом филтер папира.

Резултати истичу адсорпциону способност A_AC за микроцистине. Добијене вредности су у складу са резултатима претходних експеримената из јуна 2022. и новембра 2022 године (Kandić и сар. 2023б). Стога, студија успешно показује да је A_AC одличан адсорбент за микроцистине. Одређен је и адсорпциони капацитет материјала при чему су резултати овог експеримента су у складу са резултатима добијеним у јуну 2022. године када је коришћено 35 mg/L A_AC.

Познавање структуре и функционалних група микроцистина су важни за дефинисање потенцијалних интеракција и механизма везивања за примењен активни угљенични материјал. Ипак, општи закључак о механизму адсорпције токсина на активном угљеничном материјалу није лако извести, с обзиром на контрадикторне резултате који су доступни у литератури. У појединим радовима аутори су указали на значајне разлике у адсорпцији MC варијанти, за које је наведено да се адсорбују са смањењем ефикасности у редоследу MC-RR > MC-YR > MC-LR > MC-LA, што се може приписати њиховој све већој хидрофобности (Cook и Newcombe, 2002, 2008; Но и сар. 2011), док је у другој студији утврђена значајна разлика између MC-LR, MC-LY, MC-LW и MC-LF на различите прашкасте активне угљеничне материјале (Campinas и Rosa, 2006). Узимајући то у обзир била је неопходна наредна анализа како би се објаснио механизам адсорпције микроцистина.

4.6.4. Механизам адсорпције микроцистина

Да би се дефинисали потенцијални механизми уклањања микроцистина коришћењем A_AC као адсорбента и одредиле његове функционалне групе, снимљени су инфрацрвени спектри (FTIR) и за почетни A_AC узорак и за узорке након третмана језерске воде контаминираним високим концентрацијама микроцистина. Да би се постигла најбоља видљивост процеса, снимљени су спектри за концентрације A_AC од 35 mg/L и 40 mg/L, као што је приказано на Слици 47.



Слика 47. FTIR спектри: а) A_AC пре третмана воде, б) супернатанта са A_AC (35 mg/L), и в) супернатанта са A_AC (40 mg/L), после третмана воде са високим концентрацијама микроцистина.

Из FTIR спектра узорка A_AC (Слика 30 б) може се видети да испитивани узорак има прилично сложен хемијски састав, што је у потврђено испитивањем лигноцелулозног састава (Kandić и сар. 2022) (лигнин, хемицелулоза и целулоза) као XRD анализом (графит и калцит)

(Слика 29 б). Са Сlike 47. се уочава да спектар а) показује широку траку на $3,740\text{ cm}^{-1}$, што указује на присуство хидроксилних група (О-Н), које могу да потичу од полисахарида, фенола или адсорбоване воде (Liu и сар. 2015). Траке на $2,854\text{ cm}^{-1}$ и $2,775\text{ cm}^{-1}$ одговарају истежућим вибрацијама С-Н од алифатичних метиленских група (Djemtue и сар. 2020). Спектралне траке карактеристичне за целулозу на Слици 47. су на $1,048\text{ cm}^{-1}$ која указује на прстен глюкозе, и на 914 cm^{-1} , која потиче од вибрације аморфне фазе целулозе (Hospodarova и сар. 2018). Спектри целулозе и хемицелулозе су слични, јер имају иста једињења у различитим оријентацијама. Међутим, карактеристична трака за хемицелулозу је на $1,048\text{ cm}^{-1}$, што указује на С-С и С-О вибрације из ацетил група (Raspolti Galletti и сар. 2015). Карбонизација целулозе почиње на температури од $350\text{ }^{\circ}\text{C}$, где се гликозидне везе раскидају, што доводи до стварања левоглюкосана. Ово стање брзо пролази кроз декарбонизацију формирајући полиароматична једињења (Shafizadeh, 1968). Сличан процес се дешава у хемицелулози, само што се левоглюкозан не формира због одсуства шест угљеника и супституисаног кисеоника на позицији четири. Уместо тога, дехидратисане компоненте се брзо трансформишу и полимеризују у угљеник. Карактеристичне траке резултујућих структура налазе се у опсегу $1,600\text{--}900\text{ cm}^{-1}$, преклапајући се са претходно окарактерисаним тракама (Dhyani и Bhaskar, 2019).

Присуство лигнина се може потврдити спектралном траком на $2,920\text{ cm}^{-1}$ која потиче од С-Н вибрације ароматичне метоксил групе и вибрација ароматичног скелета на $1,512$ и 988 cm^{-1} . Спектрална трака на $1,241\text{ cm}^{-1}$ води порекло од G-прстена, а трака на 814 cm^{-1} указује на истезање С-Н вибрација ван равни на позицијама 2, 5 и 6 у G-прстену кроз структуру лигнина (Boeriu и сар. 2004; Moghaddam и сар. 2017). Карбонизација лигнина је сложена, а лигнин остаје стабилан на температурама до $400\text{ }^{\circ}\text{C}$. Изнад ове температуре, G-лигнин (гвајацил) и S-лигнин (сирингил) се трансформишу у катехоле/пирогалоле, односно о-крезоле/ксиленоле. На температурама изнад $700\text{ }^{\circ}\text{C}$, ова једињења формирају полицикличне ароматичне угљоводонике (Dhyani и сар. 2019). Важно је напоменути да је материјал А_АС карбонизован а касније и активиран на температури од $750\text{ }^{\circ}\text{C}$. Карактеристичне траке за ово прелазно стање се вероватно могу уочити у опсегу од $1,600$ до $1,100\text{ cm}^{-1}$, али се преклапају јер су у ниским концентрацијама (Aktaş и Tanyolaç, 2003). Појава ових компоненти у спектру доказује да је карбонизација непотпуна и да неки мали проценат полазног материјала остаје непромењен.

Као што је примећено на XRD спектру А_АС (Слика 24 б) уочава се присуство две фазе: графита и калцита. Рекомбинација продуката карбонизације може довести до стварања графита, што је примећено XRD анализом. Изразите графитне траке се појављују на $2,854\text{ cm}^{-1}$ (С-Н), $2,314\text{ cm}^{-1}$ ($\text{C}\equiv\text{C}$), $1,512\text{ cm}^{-1}$ ($\text{C}=\text{C}$), $1,284\text{ cm}^{-1}$ (С-Н) (Visca и сар. 2022, Allabrediev и сар. 2002), за А_АС спектар. Следећи је калцит, који је вероватно производ карбонизације јер сирови узорак садржи калцијум (Kandić и сар. 2022), на FTIR спектру могу се видети две спектралне траке на 875 и 713 cm^{-1} , што је потврђено на А_АС спектру (Gunasekaran и сар. 2006). Спектрална трака на $1,805\text{ cm}^{-1}$ указује на истежуће вибрације С-О везе, које може да потиче од калцитних или фенолних група.

Такође, на Слици 47. се налазе спектри узорка А_АС контаминираног микроцистином (б – 35 mg/L А_АС, в – 40 mg/L А_АС). Карактеристичне FTIR траке за микроцистин су $1,196\text{ cm}^{-1}$ које потичу од С-Н истежућих вибрација у аргининском делу молекула, 958 cm^{-1} која потиче од деформишућих вирација С-Н групе у ароматичном скелету и 650 cm^{-1} која потиче од $-\text{NH}_2$ вибрација (Bilibana и сар. 2021). Концентрација токсина је релативно ниска у поређењу са количином адсорбента, што доводи до преклапања неких трака или њиховог недовољног интензитета, због чега их је тешко детектовати у овим спектрима.

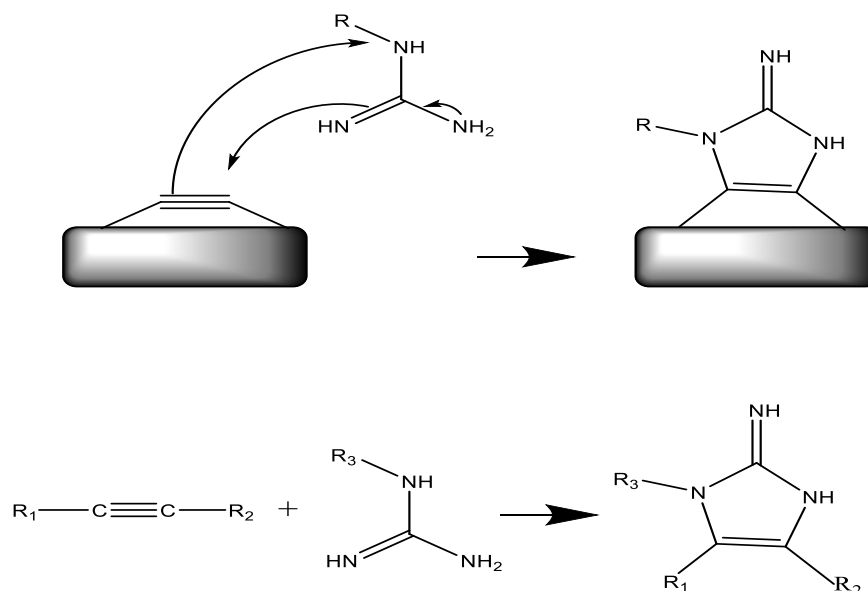
Разлике између ова три спектра: спектрална трака на $2,314\text{ cm}^{-1}$ у спектру а), потиче од истежућих вибрација ацетиленске групе $\text{C}\equiv\text{C}$, али у б) и в) те траке нема, можда је то био

активан центар за везивање токсина; везивања токсина за активни угљенични материјал може се објаснити присуством нуклеофилног центра. Ове групе могу реаговати са електрофилним местима, као што су ацетил групе на активном угљенику, што може довести до формирања одговарајућих хемијских веза. Штавише, ароматични прстенови присутни у токсину доприносе стабилности интеракције кроз π - π слагање са ароматичним структурама на површини активног угљеника (Amriaw и сар. 2019; Pavagadhi и сар. 2013).

Потенцијални механизам везивања између молекула токсина и површине адсорбента приказан је илустративно на Слици 48, где су представљене могуће интеракције. Ова илустрација доприноси бољем разумевању процеса адсорпције и могућих веза које се формирају у току третмана воде.

Досадашњи литературни подаци показују да се мезопорни активни угљеник користи у највећем броју случајева за уклањање микроцистина, а као доминатни процес је физичко везивање унутар пора (Park и сар. 2020). Резултати докторске дисертације указују да је материјал са доминантном микопорозном структуром постигао изузетно високу стопу адсорпције микроцистина. Такође, треба напоменути да је контактено време 30 минута, што указује да се везивање микроцистина на А_АС материјалу превасходно дешава на активним центрима који су доступни на његовој површини. Резултати FTIR анализе (Слика 47) су показали да се везивање микроцистина може одвијати кроз формирање нуклеофилних центара, као што су аминок и карбонилне групе, унутар групе токсина и ацетилена група $C\equiv C$ као активном центру на А_АС за овај процес.

Везивање микроцистина на активном угљеничном материјалу може се остварити и преко електростатичке интеракције између негативно наелектрисаног MC-LR у воденом раствору и позитивно наелектрисаних група на површини материјала као што је NH_2 група, чије је присуство у А_АС доказано FTIR анализом. Присуство формиране NH_2 групе на површини материјала се може објаснити на основу физико-хемијски параметара раствора, тачније присуство значајних концентрација слободног амонијума (NH_3) и (NH_4^+) јона присутних у води који при додатку А_АС могу са њим реаговати и формирати површинску NH_2 групу. Поред наведеног, присуство Ca^{2+} јона у оваквом систему може имати двоструко позитивно дејство на степен везивања цијанотоксина. Конкретно, Ca^{2+} може довести до повећаног степена адсорпције услед промена на конфигурацији MC-LR, тако да се може лакше адсорбовати (Campinas и Rosa, 2006), а додатни ефекти присуства Ca^{2+} јона могу бити у смањењу интра- и интермолекуларних одбијања или стварању нових адсорпционих места (Anđelković и сар. 2004; Campinas и Rosa, 2006).



Слика 48. Потенцијални механизам везивања микроцистина на материјал A_AC.

Употреба материјала добијеног од плода црне јове (A_AC) се показало као обећавајуће решење за ефикасно уклањање цијанобактерија и цијанотоксина без штетних ефеката на здравље људи и животну средину. Будућа истраживања би се могла фокусирати на усавршавање производног процеса и истраживање начина да се његов учинак још више побољша. На основу добијених резултата може се закључити да овај материјал пружа потенцијална иновативна решења, од могућности коришћења отпадне биомасе за производњу активних угљеничних материјала до њихове примене за скоро потпуно уклањање цијанобактерија и цијанотоксина кроз адсорпцију из воде у којој је присутно цијанобактеријско „цветање“.

Ова студија представља значајан корак ка решавању све већег проблема прекомерног присуства цијанобактерија и цијанотоксина у воденим екосистемима, што представља озбиљну претњу по квалитет воде, здравље људи и животну средину. Развијени нови материјали, а посебно A_AC, показали су изузетан потенцијал у уклањању ових штетних микроорганизама и њихових токсина. Материјал A_AC је не само ефикасан у пречишћавању воде, већ је и еколошки прихватљив, без негативних ефеката по здравље људи и околину. Његова примена може допринети очувању биодиверзитета и одрживом коришћењу водних ресурса, што га чини обећавајућим решењем за будуће изазове у управљању водом и заштити екосистема.

5. Закључци

У циљу превазилажења проблема присуства цијанобактерија у воденим екосистемима, успешно је обављена синтеза потпуно нових активних угљеничних материјала и њихова потенцијална примена у третману контаминираних вода. Коришћење отпадне биомасе, посебно листа урмине палме (P_AC) и плода црне јове (A_AC), дало је изванредне резултате са далекосежним применама.

- Синтетисани материјали су поузданих физичко-хемијских карактеристика. Њихова детаљна карактеризација је спроведена коришћењем XRD, FTIR, N₂ физиорпције и FESEM метода. Да би се употпунила поређења, испитан је и комерцијални активни угљенични материјал (C_AC). На основу физичко-хемијских карактеристика установљено је да материјали поседују карактеристике пожељних адсорбената.
- Анализа адсорпционих својстава свих материјала спроведена је на узорцима воде из Александровачког језера, еутрофног језера, у циљу уклањања цијанобактерија и цијанотоксина из воде. Материјали су показали ефикасност уклањања за P_AC, A_AC и C_AC од 99.99 %, 99.99 % и 89.79 % након 24 h третмана.
- Резултати утицаја времена контакта показали су брзо уклањање цијанобактерија и високу ефикасност уклањања за P_AC и A_AC > 99 % после 15 min, док за C_AC >84 % после 15 min и >90 % после 12 h.
- Различити кинетички модели су примењени на добијене резултате. Најбоље уклапање добијено је моделом Псеудо-II реда за сва три материјала. ($R^2 > 0,999$). Добијени резултати са моделом псеудо-другог реда указују на сложен механизам уклањања цијанобактерија који укључује физиорпцију као доминантну и хемисорпцију.
- Испитивање утицаја A_AC масе на уклањање цијанобактерија у различитим реакционим запреминама открива јасну везу између масе и ефикасности. За мање количине, потребно је само 20 mg A_AC да би се постигла ефикасност од преко 90 %. Како се запремина повећава, пропорционална повећања масе A_AC, као што је 75 mg за 250 mL, 50 mg за 500 mL и 200 mg за 750 mL, одржавају жељену ефикасност уклањања цијанобактерија. Чак и у већим количинама попут 1,000 mL, значајно смањење цијанобактерија за приближно 80 % се може постићи са 250 mg A_AC.
- FTIR анализе спроведене на узорцима A_AC пре и после третмана воде контаминираних цијанобактеријама дале су вредан увид у основне интеракције. Уочене промене у интензитетима трака сугеришу да није дошло до значајнијег формирања нових хемијских веза на површини узорка A_AC након уклањања цијанобактерија. Ово указује или на одсуство значајних хемијских трансформација или на присуство минималног броја новонасталих веза.
- Наведени FTIR налази усклађени су са резултатима кинетичких експеримената, поспешујући разумевање да се примарни механизам уклањања приписује физичкој адсорпцији на површини A_AC. Овај доминантни процес, вођен привлачним силама између активног угљеника и ћелија цијанобактерија, наглашава ефикасност A_AC као адсорбента у уклањању цијанобактерија из воде.
- Један од кључних аспеката било је испитивање квалитета пречишћене воде након примене угљеничних материјала. Узорци воде који су третирани са материјалима A_AC и C_AC су задовољили параметре на основу регулатива за коришћење вода за пиће и наводњавање које су поставила регулаторна тела Република Србија и Светска здравствена организација. Ово уверење о безбедности воде додатно учвршћује

потенцијалну практичну примену испитиваних материјала. Међутим, P_AC је показао одређену токсичност, што значи да су потребна даља прилагођавања пре него што се може директно користити. A_AC и C_AC, с друге стране, показали су се безбедним за употребу.

- На основу резултата процене здравственог ризика од тешких метала материјали P_AC и A_AC су се показали као безбедни, док с друге стране вредност за C_AC је превазишла дозвољену граничну вредност.
- Резултати испитивања токсичности материјала показали су да P_AC испољава значајну цитотоксичност према MRC-5 ћелијама. Резултати добијени за A_AC и C_AC нису указивали на било какву цитотоксичност према MRC-5 ћелијама. Такође, P_AC је индуковао значајна оштећења на ДНК молекулу чак и при ниским концентрацијама. С друге стране A_AC и C_AC нису испољили значајан генотоксични ефекат у тестирањим условима.
- Резултати испитивања антибиофилм ефекта A_AC указују на високу осетљивост *Escherichia coli* и *Enterobacter cloacae* при чему је инхибиција формирања биофилма износила 62.63 % и 73.86 % при највишој тестираној концентрацији. С друге стране, слабији и одсуство антибиофилм ефекта је забележено за *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella Typhimurium*, *Acinetobacter baumannii* и *Enterococcus faecalis*.
- Резултати испитивања уклањања микроцистина су показала да је материјал A_AC са доминантном микропорозном структуром изузетно ефикасан у уклањању три форме микроцистина (MC-RR, MC-LR и MC-YR), захваљујући интеракцијама токсина са активним центрима на његовој површини.

6. Литература

1. Abbas A. F., Ahmed, M. J. (2016). Mesoporous activated carbon from date stones (*Phoenix dactylifera* L.) by one-step microwave assisted K_2CO_3 pyrolysis. *Journal of Water Process Engineering*, 9, 201-207.
2. Abbas, T., Kajjumba, G. W., Ejada, M., Masrura, S. U., Marti, E. J., Khan, E., Jones-Lepp, T. L. (2020). Recent advancements in the removal of cyanotoxins from water using conventional and modified adsorbents—A contemporary review. *Water*, 12(10), 2756.
3. Agbovi, H. K., Wilson, L. D. (2021). Adsorption processes in biopolymer systems: fundamentals to practical applications. In Susheel Kalia (Ed.) *Natural Polymers-Based Green Adsorbents for Water Treatment*, Elsevier, 1-51.
4. Agency for toxic substances and diseases registry (ATSDR) <https://www.atsdr.cdc.gov/cssem/cadmium/Where-Cadmium-Found.html> (приступљено сајту 11.09. 2021).
5. Akasha I., Campbell L., Lonchamp J., Euston S. R. (2016). The major proteins of the seed of the fruit of the date palm (*Phoenix dactylifera* L.): Characterisation and emulsifying properties. *Food Chemistry*, 197, 799-806.
6. Aktaş, N., Tanyolaç, A. (2003). Kinetics of laccase-catalyzed oxidative polymerization of catechol. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 22(1-2), 61-69.
7. Alabadi A., Razzaque S., Yang Y., Chen S., Tan B. (2015). Highly porous activated carbon materials from carbonized biomass with high CO_2 capturing capacity. *Chemical Engineering Journal*, 281, 606-612.
8. Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Walter, P. (2002). The shape and structure of proteins. In Alberts Bruce (Ed.) *Molecular Biology of the Cell (4th edition)*. Garland Science.
9. Albuquerque Júnior, E. C. D., Méndez, M. O. A., Coutinho, A. D. R., Franco, T. T. (2008). Removal of cyanobacteria toxins from drinking water by adsorption on activated carbon fibers. *Materials Research*, 11, 371-380.
10. Alotaibi M. D., Alshammari B. A., Saba N., Alothman O. Y., Sanjay M. R., Almutairi Z., Jawaid M. (2019). Characterization of natural fiber obtained from different parts of date palm tree (*Phoenix dactylifera* L.). *International journal of biological macromolecules*, 135, 69-76.
11. Aloud, S. S., Alharbi, H. A., Hameed, B. H., Giesy, J. P., Almady, S. S., Alotaibi, K. D. (2023). Production of activated carbon from date palm stones by hydrothermal carbonization and microwave assisted KOH/NaOH mixture activation for dye adsorption. *Scientific Reports*, 13(1), 19064.
12. Ampiauw, R. E., Yaqub, M., Lee, W. (2019). Adsorption of microcystin onto activated carbon: A review. *Membr. Water Treat*, 10(6), 405-415.
13. Anđelković, T., Perović, J. M., Purenović, M. M., Anđelković, D. (2004). Destabilization and aggregation of aqueous humic acids solution by metal ions. *Facta universitatis-series: Physics, Chemistry and Technology*, 3(1), 79-85.
14. Antonietti, C. C., Ginoris, Y. P. (2022). Removal of cylindrospermopsin by adsorption on granular activated carbon, selection of carbons and estimated fixed-bed breakthrough. *Water*, 14(10), 1630.
15. Antoniou MG, de la Cruz AA, Dionysiou DD (2005) Cyanotoxins: new generation of water contaminants. *J Environ Eng* 131(9), 1239-1243.
16. Athinarayanan J., Periasamy V. S., Alshatwi A. A. (2019). *Phoenix dactylifera* lignocellulosic biomass as precursor for nanostructure fabrication using integrated process. *International journal of biological macromolecules*, 134, 1179-1186.

17. Bajpai, V.K., Shukla, S., Kang, S.M., Hwang, S.K., Song, X., Huh, Y.S., Han, Y.K. (2018) Developments of cyanobacteria for nano-marine drugs: Relevance of nanoformulations in cancer therapies. *Mar. Drugs*, 16, 179.
18. Bansal, R. C., Goyal, M. (2005). *Activated carbon adsorption*. CRC press.
19. Beasley, V. R. (2020). Harmful Algal Blooms (Phycotoxins). Elsevier, ISBN 9780124095489,
- Begum W., Rai S., Banerjee S., Bhattacharjee S., Mondal M. H., Bhattarai A., Saha, B. (2022). A comprehensive review on the sources, essentiality and toxicological profile of nickel. *RSC advances*, 12(15), 9139-9153.
20. Belykh, O. I., Gladkikh, A. S., Sorokovikova, E. G., Tikhonova, I. V., Potapov, S. A., Butina, T. V. (2015). Saxitoxin-producing cyanobacteria in Lake Baikal. *Contemporary Problems of Ecology*, 8, 186-192.
21. Bendahou A., Dufresne A., Kaddami H., Habibi Y. (2007). Isolation and structural characterization of hemicelluloses from palm of *Phoenix dactylifera* L. *Carbohydrate polymers*, 68(3), 601-608.
22. Bera M., Chandravati; Gupta, P.; Maji, P.K. (2018), Facile One-Pot Synthesis of Graphene Oxide by Sonication Assisted Mechanochemical Approach and Its Surface Chemistry. *J. Nanosci. Nanotechnol.* 18, 902-912.
23. Bhagowati, B., Ahamad, K. U. (2019). A review on lake eutrophication dynamics and recent developments in lake modeling. *Ecohydrology & Hydrobiology*, 19(1), 155-166.
24. Bilibana, M. P., Feleni, U., Williams, A. R., Iwuoha, E. (2021). Impedimetric microcystin-LR aptasensor prepared with sulfonated poly (2, 5-dimethoxyaniline)–silver nanocomposite. *Processes*, 9(1), 179.
25. Blagojević Ponjavić, A. (2021). Dinamika fitoplanktona i fenomen cvetanja cijanobakterije *Planktothrix rubescens* u akumulaciji Vrutci. Doktorska disertacija, Univerzitet u Beogradu: Biološki fakultet.
26. Blahova, L., Sehnal, L., Lepsova-Skacelova, O., Szmucova, V., Babica, P., Hilscherova, K., Teikari, J., Sivonen K., Blaha, L. (2021). Occurrence of cylindrospermopsin, anatoxin-a and their homologs in the southern Czech Republic–Taxonomical, analytical, and molecular approaches. *Harmful Algae*, 108, 102101.
27. Boeriu, C. G., Bravo, D., Gosselink, R. J., van Dam, J. E. (2004). Characterisation of structure-dependent functional properties of lignin with infrared spectroscopy. *Industrial crops and products*, 20(2), 205-218.
28. Boukir, A., Mehyaoui, I., Fellak, S., Asia, L., Doumenq, P. (2019). The effect of the natural degradation process on the cellulose structure of Moroccan hardwood fiber: a survey on spectroscopy and structural properties. *Mediterranean Journal of Chemistry*, 8(3), 179-190.
29. Bourmaud A., Dhakal H., Habrant A., Padovani J., Siniscalco D., Ramage M. H., Beaugrand J., Shah D. U. (2017). Exploring the potential of waste leaf sheath date palm fibres for composite reinforcement through a structural and mechanical analysis. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, 103, 292-303.
30. Browning B.L. (1967). Methods of wood chemistry. Volumes I & II. *Methods of wood chemistry. Volumes I & II*.
31. Buniatian N. D., Chikitkina V. V., Iakovleva L. V. (1998). The hepatoprotective action of ellagotannins. *Eksperimental'naia i Klinicheskaia Farmakologija*, 61(5), 53-55.
32. Buratti, F. M., Manganelli, M., Vichi, S., Stefanelli, M., Scardala, S., Testai, E., Funari, E. (2017). Cyanotoxins: producing organisms, occurrence, toxicity, mechanism of action and human health toxicological risk evaluation. *Archives of toxicology*, 91, 1049-1130.
33. Campinas, M., Rosa, M. J. (2006). The ionic strength effect on microcystin and natural organic matter surrogate adsorption onto PAC. *Journal of Colloid and Interface Science*, 299(2), 520-529.

34. Cagnon, B., Py, X., Guillot, A., Stoeckli, F., Chambat, G. (2009). Contributions of hemicellulose, cellulose and lignin to the mass and the porous properties of chars and steam activated carbons from various lignocellulosic precursors. *Bioresource Technology*, 100(1), 292-298.
35. Carrel, M., Morales, V. L., Beltran, M. A., Derlon, N., Kaufmann, R., Morgenroth, E., Holzner, M. (2018). Biofilms in 3D porous media: Delineating the influence of the pore network geometry, flow and mass transfer on biofilm development. *Water research*, 134, 280-291.
36. Castelijns, G. A., van der Veen, S., Zwietering, M. H., Moezelaar, R., Abee, T. (2012). Diversity in biofilm formation and production of curli fimbriae and cellulose of *Salmonella Typhimurium* strains of different origin in high and low nutrient medium. *Biofouling*, 28(1), 51-63.
37. Chafidz A., Astuti W., Augustia V., Novira D. T., Rofiah N. (2018). Removal of methyl violet dye via adsorption using activated carbon prepared from Randu sawdust (*Ceiba pentandra*). In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 167, No. 1, p. 012013). IOP Publishing.
38. Cheng S., Huang A., Wang S., Zhang Q. (2016). Effect of different heat treatment temperatures on the chemical composition and structure of Chinese fir wood. *BioResources*, 11(2), 4006-4016.
39. Chorus, I. Bartram, J. (1999). *Toxic Cyanobacteria in Water: a Guide to their Public Health Consequences, Monitoring and Management*. E. & F.N. Spoon, London.
40. Chorus, I., Cavalieri, M. (2000). *Cyanobacteria and algae. Monitoring Bathing Waters: a practical guide to the design and implementation of assessments and monitoring programmes*. World Health Organization Report. E & FN Spon, London and New York, 219-271.
41. Chorus I., Welker M. (2021). *Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management*. Taylor & Francis.
42. Chorus, I., McKeown, R. M. (2021). Assessing and managing cyanobacterial risks in water-use systems. In Ingrid Chorus, Martin Welker (Eds.) *Toxic Cyanobacteria in Water*, CRC Press, 401-432.
43. Claessens, H., Oosterbaan, A., Savill, P., Rondeux, J. (2010). A review of the characteristics of black alder (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.) and their implications for silvicultural practices. *Forestry*, 83(2), 163-175.
44. Codd G. A., Meriluoto J., Metcalf, J. S. (2016). Introduction: Cyanobacteria, cyanotoxins, their human impact, and risk management. *Handbook of cyanobacterial monitoring and cyanotoxin analysis*, 1-8.
45. Codd, G. A., Pliński, M., Surosz, W., Hutson, J., Fallowfield, H. J. (2015). Publication in 1672 of animal deaths at the Tuchomskie Lake, northern Poland and a likely role of cyanobacterial blooms. *Toxicon: official journal of the International Society on Toxinology*, 108, 285-286.
46. Cohen, Z. (1997) The chemical of *Spirulina*. In A Vongsak (Ed.) *Spirulina platensis (Arthrospira) Physiology, Cell-Biology and Biotechnology*, Taylor and Francis Ltd, 175-204.
47. Combarros, R. G., Rosas, I., Lavín, A. G., Rendueles, M., Díaz, M. (2014). Influence of biofilm on activated carbon on the adsorption and biodegradation of salicylic acid in wastewater. *Water, Air, & Soil Pollution*, 225, 1-12.
48. Cook, D., Newcombe, G. (2002). Removal of microcystin variants with powdered activated carbon. *Water Science and Technology: Water Supply*, 2(5-6), 201-207.
49. Cook, D., Newcombe, G. (2008). Comparison and modeling of the adsorption of two microcystin analogues onto powdered activated carbon. *Environmental technology*, 29(5), 525-534.
50. Costa, N. B., Kolman, M. A., Giani, A. (2016). Cyanobacteria diversity in alkaline saline lakes in the Brazilian Pantanal wetland: a polyphasic approach. *Journal of Plankton Research*, 38(6), 1389-1403.
51. Cvetković, S. (2021). Antimikrobni i antigenotoksični efekat ekstrakata lincure (*Gentiana lutea* L.) gajene u plantažnim i laboratorijskim uslovima. Doktorska disertacija, Univerzitet u Beogradu: Biološki fakultet.

52. Cvetković, S., Tenji, D., Mitić-Ćulafić, D., Vuletić, S., Ganić, T., Djekić, I., Nikolić, B. (2023). Potential of yellow gentian aqueous-ethanolic extracts to prevent *Listeria monocytogenes* biofilm formation on selected food contact surfaces. *Food Bioscience*, 54, 102857.
53. Cvijan M. (2013). *Algologija*. Biološki fakultet Univerziteta u Beogradu. Beograd: Alta Nova.
54. Cvijan, M., Fužinato, S. (2011). The first finding of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszińska) Seenayya et Subba raju, 1972 (cyanoprokaryota) in Serbia. *Archives of Biological Sciences*, 63(2), 507-510.
55. CyanoAlert - <https://www.cyanoalert.com/tools-en/alerts-en>, приступљено датума 11.11.2022.
56. Danish M., Hashim R., Ibrahim M. M., Sulaiman, O. (2014). Optimized preparation for large surface area activated carbon from date (*Phoenix dactylifera* L.) stone biomass. *Biomass and bioenergy*, 61, 167-178.
57. Danish, M., Hashim, R., Ibrahim, M. M., Rafatullah, M., Sulaiman, O. (2012). Surface characterization and comparative adsorption properties of Cr (VI) on pyrolysed adsorbents of *Acacia mangium* wood and *Phoenix dactylifera* L. stone carbon. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 97, 19-28.
58. Dalmacija, B. (2012). *Parametri kvaliteta vode i sedimenta i tumačenje standarda (imisioni standardi)*. Novi Sad: Univerzitet u Novom Sadu, Prirodno-matematički fakultet, Departman za hemiju biohemiju i zaštitu životne sredine.
59. Delgado L. F., Charles P., Glucina K., Morlay, C. (2012). The removal of endocrine disrupting compounds, pharmaceutically activated compounds and cyanobacterial toxins during drinking water preparation using activated carbon—a review. *Science of the total environment*, 435, 509-525.
60. Delgado, L. F., Charles, P., Glucina, K., Morlay, C. (2015). Adsorption of ibuprofen and atenolol at trace concentration on activated carbon. *Separation Science and Technology*, 50(10), 1487-1496.
61. Dhyani, V., Bhaskar, T. (2019). Pyrolysis of biomass. In Ashok, Pandey, Larroche, Christian, Calude-Gilles Dussap, Edgard Gnansounou, Samir Kumar Khanal, Steven Ricke (Eds.) *Biofuels: alternative feedstocks and conversion processes for the production of liquid and gaseous biofuels*. Academic Press, 217-244.
62. Djemmo, L. G., Njanja, E., Tchieno, F. M., Ndinteh, D. T., Ndungu, P. G., Tonle, I. K. (2020). Activated *Hordeum vulgare* L. dust as carbon paste electrode modifier for the sensitive electrochemical detection of Cd^{2+} , Pb^{2+} and Hg^{2+} ions. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 100(13), 1429-1445.
63. Dodevski V., Janković B. Ž., Mirković M.M., Kragović M.M., Radović I., Veljković F.M., Stojmenović M. (2020) Carbon dioxide activation of the plane tree seeds derived bio-char: Kinetic properties and application. *Thermal Science*, 24(6 (Part A)), 3807-3821.
64. Dodevski V., Janković B., Stojmenović M., Krstić S., Popović J., Pagnacco M.C., Popović M., Pašalić S. (2017) Plane tree seed biomass used for preparation of activated carbons (AC) derived from pyrolysis. Modeling the activation process. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 522, 83-96.
65. Dodevski, V. M. (2018). Sinteza, karakterizacija i primena aktivnih ugljeničnih materijala dobijenih od ploda platana. Doktorska disertacija, Univerzitet u Beogradu: Biološki fakultet.
66. Donati, C.D., Drikas, M., Hayes, R., Newcombe, G. (1993) Adsorption of microcystin-LR by powdered activated carbon. *Journal – American Water Works Association*, 20, 25-28.
67. Dong W., Zhang Y., Quan, X. (2020). Health risk assessment of heavy metals and pesticides: A case study in the main drinking water source in Dalian, China. *Chemosphere*, 242, 125113.
68. Đorđević N. B., Simić, S. B. (2014). Cyanobacterial Blooms in Oligosaline and Alkaline Microaccumulation Before and After Rehabilitation. *Polish Journal of Environmental Studies*, 23(6).

69. Dorđević, N. B., Simić, S. B., Ćirić, A. R. (2015). First identification of the cylindrospermopsin (CYN) producing by cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenayya & Subba Raju in Serbia. *Fresenius Environ. Bull.*, 24(11a), 3736-3742.
70. Drikas, M. (1994). Removal of cyanobacterial toxins by water treatment processes. *Toxic cyanobacteria-a global perspective*, 30-44.
71. Drobac, D. (2015). Putevi izloženosti čoveka cijanotoksinima i njihov uticaj na zdravlje. Doktorska disertacija, Univerzitet u Novom Sadu: Prirodno-matematički fakultet.
72. Drobac, D., Tokodi, N., Simeunović, J., Baltić, V., Stanić, D., Svirčev, Z. (2013). Human exposure to cyanotoxins and their effects on health. *Arhiv za higijenu rada i toksikologiju*, 64(2), 305-315.
73. Dubinin M. I. (1975). Physical adsorption of gases and vapors in micropores. In *Progress in surface and membrane science Vol. 9*, Elsevier, 1-70.
74. Durall, C.; Lindblad, P. Mechanisms of carbon fixation and engineering for increased carbon fixation in cyanobacteria. *Algal Res.* 2015, 11, 263-270.
75. Dvořák, P., Pouličková, A., Hašler, P., Belli, M., Casamatta, D. A., Papini, A. (2015). Species concepts and speciation factors in cyanobacteria, with connection to the problems of diversity and classification. *Biodiversity and Conservation*, 24, 739-757.
76. Erabee, I. K., Ethaib, S. J. I. J. (2018). Performane of activated carbon adsorption in removing of organic pollutants from river water. *International Journal of Engineering & Technology*, 7(4.20), 356-358.
77. Etiégni L., Campbell A. G. (1991). Physical and chemical characteristics of wood ash. *Bioresource technology*, 37(2), 173-178.
78. Falconer, I.R., Runnegar, M., Buckley, T. et al. (1989) Using activated carbon to remove toxicity from drinking water containing cyanobacterial blooms. *Journal – American Water Works Association*, 81, 102-105.
79. Fasake, V., Dashora, K. (2020). Characterization and morphology of natural dung polymer for potential industrial application as bio-based fillers. *Polymers*, 12(12), 3030.
80. Fernández-Delgado, M., Duque, Z., Rojas, H., Suárez, P., Contreras, M., García-Amado, M. A., Alciaturi, C. (2015). Environmental scanning electron microscopy analysis of *Proteus mirabilis* biofilms grown on chitin and stainless steel. *Annals of microbiology*, 65, 1401-1409.
81. Figueiras, F.G., Pitcher, G.C., Estrada, M. (2006). Harmful Algal Bloom Dynamics in Relation to Physical Processes. In Edna Garneli, Jefferson T. Turner (Eds). *Ecology of Harmful Algae*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 127-138.
82. Flores, E., Herrero, A. (2005) Nitrogen assimilation and nitrogen control in cyanobacteria. *Biochem. Soc. Trans.* 33, 164-167.
83. Gan, Y. X. (2021). Activated carbon from biomass sustainable sources. *C: Journal of Carbon Research*, 7(2), 39.
84. Gayathiri, M., Pulingam, T., Lee, K. T., Sudesh, K. (2022). Activated carbon from biomass waste precursors: Factors affecting production and adsorption mechanism. *Chemosphere*, 294, 133764.
85. Gibert, O., Lefèvre, B., Fernández, M., Bernat, X., Paraira, M., Calderer, M., Martínez-Lladó, X. (2013). Characterising biofilm development on granular activated carbon used for drinking water production. *Water Research*, 47(3), 1101-1110.
86. Giblin, S. M., Gerrish, G. A. (2020). Environmental factors controlling phytoplankton dynamics in a large floodplain river with emphasis on cyanobacteria. *River Res. Appl.* 36, 1137-1150.
87. González-García, P. (2018). Activated carbon from lignocellulosics precursors: A review of the synthesis methods, characterization techniques and applications. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 82, 1393-1414.

88. Gros-Balthazard, M. (2013). Hybridization in the genus *Phoenix*: A review. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 831-842.
89. Guerreiro-Tanomaru, J. M., de Faria-Júnior, N. B., Duarte, M. A. H., Ordinola-Zapata, R., Graeff, M. S. Z., Tanomaru-Filho, M. (2013). Comparative analysis of *Enterococcus faecalis* biofilm formation on different substrates. *Journal of endodontics*, 39(3), 346-350.
90. Gupta, R.K., Chaudhary, K.K., Kumar, M., Negi, A., Rai, H. (2012) Bioremediation and cyanobacteria: An overview. *BioNano Front.* 9, 190-196.
91. Habtemariam, H.; Kifle, D.; Leta, S.; Mucci, M.; Lüring, M. (2021) Removal of cyanobacteria from a water supply reservoir by sedimentation using flocculants and suspended solids as ballast: Case of Legedadi Reservoir (Ethiopia), *PloS one*, 16(4), e0249720.
92. Hall, D.O., Markov, S.A., Watanabe, Y., Rao, K.K. (1995) The potential applications of cyanobacterial photosynthesis for clean technologies. *Photosynth. Res.* 46, 159-167.
93. Hao, H., Wu, M., Chen, Y., Tang, J., Wu, Q. (2004). Cyanobacterial bloom control by ultrasonic irradiation at 20 kHz and 1.7 MHz. *Journal of Environmental Science and Health, Part A: Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*, 39(6), 1435-1446.
94. Hassan, M. F., Sabri, M. A., Fazal, H., Hafeez, A., Shezad, N., Hussain, M. (2020). Recent trends in activated carbon fibers production from various precursors and applications—A comparative review. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 145, 104715.
95. Henrikson, R. (2010) A nutrient rich supper food for super health. In Robert Henrikson (Ed.) *Spirulina World Food*, Ronore Enterprises, Inc. 25-42.
96. Hitzfeld B. C., Höger S. J., Dietrich D. R. (2000). Cyanobacterial toxins: removal during drinking water treatment, and human risk assessment. *Environmental health perspectives*, 108(suppl 1), 113-122.
97. Ho L., Lambling P., Bustamante H., Duker P., Newcombe G. (2011). Application of powdered activated carbon for the adsorption of cylindrospermopsin and microcystin toxins from drinking water supplies. *Water Research*, 45(9), 2954-2964.
98. Hoiczky, E.; Hansel, A. (2000). Cyanobacterial cell walls: news from an unusual prokaryotic envelope, *Journal of bacteriology*, 182(5), 1191-1199.
99. Horváth G., Kawazoe K. (1983). Method for the calculation of effective pore size distribution in molecular sieve carbon. *Journal of Chemical Engineering of Japan*, 16(6), 470-475.
100. Hospodarova V., Singovszka E., Stevulova N. (2018). Characterization of cellulosic fibers by FTIR spectroscopy for their further implementation to building materials. *American journal of analytical chemistry*, 9(6), 303-310.
101. Huang, I. S., Zimba, P. V. (2019). Cyanobacterial bioactive metabolites—A review of their chemistry and biology. *Harmful algae*, 86, 139-209.
102. Huang, W. J., Cheng, B. L., Cheng, Y. L. (2007). Adsorption of microcystin-LR by three types of activated carbon. *Journal of Hazardous Materials*, 141(1), 115-122.
103. Huber-Pestalozzi G.; Komárek J.; Fott, B. (1983). Das Phytoplankton des Süßwasser. Band XVI, 7. Teil, 1. Hälfte. Chlorophyceae, Ordnung: Chlorococcales. U: Elster, H. J., Ohle, W. (Eds.). *Die Binnengewässer. E. Schweizerbartsche Verlagsbuchhandlung*, Stuttgart, 914.
104. Humbert, J. F. (2009). Toxins of cyanobacteria. In Ramesh C. Gupta (Ed.) *Handbook of toxicology of chemical warfare agents*, Academic Press, 371-379.
105. Ibelings, B. W., Backer, L. C., Kardinaal, W. E. A., Chorus, I. (2014). Current approaches to cyanotoxin risk assessment and risk management around the globe. *Harmful Algae*, 40, 63-74.
106. Ilmiati, S., Hafiza, J., Fatriansyah, J. F., Kustiyah, E., Chalid, M. (2018). Synthesis and characterization of lignin-based polyurethane as a potential compatibilizer. *Indonesian Journal of Chemistry*, 18(3), 390-396.

107. Invernizzi, C., Rovetta, T., Licchelli, M., Malagodi, M. (2018). Mid and near-infrared reflection spectral database of natural organic materials in the cultural heritage field. *International Journal of Analytical Chemistry*.
108. Jang, J., Hur, H. G., Sadowsky, M. J., Byappanahalli, M. N., Yan, T., Ishii, S. (2017). Environmental Escherichia coli: ecology and public health implications—a review. *Journal of applied microbiology*, 123(3), 570-581.
109. Jha, M. K., Joshi, S., Sharma, R. K., Kim, A. A., Pant, B., Park, M., Pant, H. R. (2021). Surface modified activated carbons: Sustainable bio-based materials for environmental remediation. *Nanomaterials*, 11(11), 3140.
110. John M. D., Whitton A. B., Brook, J. A. (2002). *The freshwater algal flora of the British Isles: an identification guide to freshwater and terrestrial algae*. The Nautaral History Museum, Cambridge.
111. Jovanović, J. Ž. (2020). Rasprostranjenje cijanobakterija u površinskim vodama namenjenim za vodosnabdevanje i rekreaciju u Srbiji. Doktorska disertacija, Univerzitet u Beogradu: Biološki fakultet.
112. Jovanović, J., Popović, S., Subakov-Simić, G., Jovanović, V., Predojević, D., Jovanović, D., Karadžić, V. (2022). Freshwater cyanobacteria in waters intended for human consumption in Serbia: two decades of changes in diversity. *Archives of Biological Sciences*, 74(3), 217-226.
113. Jovanović, J., Trbojević, I., Simić, G. S., Popović, S., Predojević, D., Blagojević, A., Karadžić, V. (2017). The effect of meteorological and chemical parameters on summer phytoplankton assemblages in an urban recreational lake. *Knowledge & Management of Aquatic Ecosystems*, (418), 48.
114. Kajba, D., Gracan, J. (2003). *EUFORGEN Technical Guidelines for genetic conservation and use for Black Alder (Alnus glutinosa)*. Bioversity International.
115. Kalenić, S., Abram, M., Batinić, D., Beader, N., Bedenić, B., Bošnjak, Z., Budimir, A., Drenjančević, D., Katalinić-Janković, V., Lukić-Grlić, A., Ljubin-Sternak, S., Mareković, I., Mlinarić-Galinović, G., Mlinarić-Missoni, E., Plečko, V., Presečki-Stanko, A., Presečki, V., Punda-Polić, V., Rukavina, T., Sviben, M., Tambić-Andrašević, A., Tićac, B., Vilibić-Čavlek, T., Vraneš, J., Vučković D., Tmak, Lj. (2013). *Medicinska mikrobiologija*. Medicinska naklada, Zagreb.
116. Kandić, I., Kragović, M., Gulicovski, J., Cvetković, S., Marinković, A., Stanković, S., Stojmenović, M. (2024). Examination of the Anti-Biofilm Properties of Lignocellulose-Based Activated Carbon from Black Alder for Water Treatment Applications. *Processes*, 12(11), 2383.
117. Kandić, I., Kragović, M., Gulicovski, J., Nikolić, K., Nišić, N., Karadžić, V., Stojmenović, M. (2023b). Removal of potentially toxic cyanobacteria by using activated carbons obtained from biowaste. In *MEP-23: 9th International Conference Mining and Environmental Protection: Proceedings book*. Belgrade: University of Belgrade: Faculty of Mining and Geology, 286-290.
118. Kandić, I., Kragović, M., Krstić, J. B., Gulicovski, J., Popović, J., Rosić, M., Karadžić, V., Stojmenović, M. (2022). Natural Cyanobacteria Removers Obtained from Bio-Waste Date-Palm Leaf Stalks and Black Alder Cone-Like Flowers. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(11), 6639.
119. Kandić, I., Kragović, M., Petrović, J., Janačković, P., Gavrilović, M., Momčilović, M., Stojmenović, M. (2023a). Heavy metals content in selected medicinal plants produced and consumed in Serbia and their daily intake in herbal infusions. *Toxics*, 11(2), 198.
120. Kanikonna, K. (2023). Significance of Bacteria in Various Ecological Processes. *Perspective*, 9(3).
121. Karadžić V., Simić G. S., Natić D., Ržanićanin A., Ćirić M., Gačić Z. (2013). Changes in the phytoplankton community and dominance of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Wolosz.) Subba Raju in a temperate lowland river (Ponjavica, Serbia). *Hydrobiologia*, 711(1), 43-60.
122. Katabami, K., Hayakawa, M., Gando, S. (2016). Severe methemoglobinemia due to sodium nitrite poisoning. *Case reports in emergency medicine*, 2016(1), 9013816.

123. Keijola, A.M., Himberg, K., Esala, A.L. et al. (1988) Removal of cyanobacterial toxins in water treatment processes: Laboratory and pilot-scale experiments. *Toxicity Assessment*, 3, 643-656.
124. Khiari, R., Mhenni, M. F., Belgacem, M. N., Mauret, E. (2010). Chemical composition and pulping of date palm rachis and *Posidonia oceanica*—A comparison with other wood and non-wood fibre sources. *Bioresource Technology*, 101(2), 775-780.
125. Khristova, P., Kordsachia, O., Khider, T. (2005). Alkaline pulping with additives of date palm rachis and leaves from Sudan. *Bioresource technology*, 96(1), 79-85.
126. Kim, S., Kim, S., Mehrotra, R., Sharma, A. (2020). Predicting cyanobacteria occurrence using climatological and environmental controls. *Water Research*, 175, 115639.
127. Kobanova, G. I., Takhteev, V. V., Rusanovskaya, O. O., Timofeyev, M. A. (2016). Lake Baikal ecosystem faces the threat of eutrophication. *International Journal of Ecology*, 2016(1), 6058082.
128. Kojima Y., Miyaoka H., Ichikawa T., (2013). Hydrogen storage materials, In Steven L. Suib (Ed.) *New and Future Developments in Catalysis: Batteries, Hydrogen Storage and Fuel Cells*, Elsevier, 131.
129. Komárek J., Anagnostidis K. (1998) Cyanoprokaryota 1. Chroococcales. In Ettl H., Gärtner G., Heynig H. & Mollenhauer D. (Eds), *Süßwasserflora von Mitteleuropa 19/1*, Gustav Fischer, Jena-Stuttgart-Lübeck-Ulm.
130. Komárek J., Anagnostidis K. (2005) Cyanoprokaryota 2. Teil Oscillatoriales. In Büdel, B., Gärtner, G., Krienitz, L., Schagerl, M. (Eds.) *Süßwasserflora von Mitteleuropa 19/2*. Gustav Fisher Verlag, Jena.
131. Komárek, J. (2013). Cyanoprokaryota 3. Teil: Heterocytous Genera. U: Büdel, B., Gärtner, G., Krienitz, L., Schagerl, M. (eds.) *Süßwasserflora von Mitteleuropa*; Bd. 19/3. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
132. Kragović, M. M. (2014). Uklanjanje jona olova iz vodenih rastvora upotrebom prirodnog i Fe (III)-modifikovanog zeolita. Универзитет у Београду.
133. Krammer K. Lange-Bertalot H. (1991) Bacillariophyceae. 3. Teil: Centrales, Fragilariaceae, Eunotiaceae. In Ettl, H., Gerloff, J., Heynig, H., Mollenhauer, D. (Eds.). *Süßwasserflora von Mitteleuropa 2/3*. Elsevier GmbH, Munchen.
134. Krammer K., Lange-Bertalot H. (1986). Bacillariophyceae.1. Teil: Naviculaceae. In Ettl, H., Gerloff, J., Heynig, H., Mollenhauer, D. (Eds.). *Süßwasserflora von Mitteleuropa 2*. G. Fischer Verlag, Jena.
135. Krammer K., Lange-Bertalot H. (1988). Bacillariophyceae. 2. Teil: Bacillariaceae, Epithemiaceae, Surirellaceae. In Ettl, H., Gerloff, J., Heynig, H., Mollenhauer, D. (Eds.). *Süßwasserflora von Mitteleuropa 2/2*. G. Fischer Verlag, Stuttgart & Jena.
136. Kraus, W., Nolze, G. (1996). POWDER CELL—a program for the representation and manipulation of crystal structures and calculation of the resulting X-ray powder patterns. *Journal of applied Crystallography*, 29(3), 301-303.
137. Kruk M., Jaroniec M., Gadkaree, K. P. (1997). Nitrogen adsorption studies of novel synthetic active carbons. *Journal of Colloid and interface Science*, 192(1), 250-256
138. Kulkarni, S., Kaware, J. (2014). Regeneration and recovery in adsorption-a review. *Int. J. Innov. Sci. Eng. Technol*, 1(8), 61-64.
139. Kumar, K., Mella-Herrera, R.A., Golden, J.W. (2010) Cyanobacterial heterocysts. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, 2, 1-20.
140. Kyotani T., Ma Z., Tomita A. (2003). Template synthesis of novel porous carbons using various types of zeolites. *Carbon*, 41(7), 1451-1459.
141. Lecloux A., Pirard J. P. (1979). The importance of standard isotherms in the analysis of adsorption isotherms for determining the porous texture of solids. *Journal of Colloid and Interface Science*, 70(2), 265-281.

142. Lee, T., Ooi, C. H., Othman, R., Yeoh, F. Y. (2014). Activated carbon fiber-the hybrid of carbon fiber and activated carbon. *Rev. Adv. Mater. Sci*, 36(2), 118-136.
143. Lewoyehu, M. (2021). Comprehensive review on synthesis and application of activated carbon from agricultural residues for the remediation of venomous pollutants in wastewater. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 159, 105279.
144. Li, J., Hansson, L. A., Persson, K. M. (2018). Nutrient control to prevent the occurrence of cyanobacterial blooms in a eutrophic lake in Southern Sweden, used for drinking water supply. *Water*, 10(7), 919.
145. Li, X., Zhang, X., Yao, S., Chang, H., Wang, Y., Zhang, Z. (2020). UV-blocking, transparent and hazy cellulose nanopaper with superior strength based on varied components of poplar mechanical pulp. *Cellulose*, 27, 6563-6576.
146. Liao, J., Schurr, M. J., & Sauer, K. (2013). The MerR-like regulator BrlR confers biofilm tolerance by activating multidrug efflux pumps in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Journal of bacteriology*, 195(15), 3352-3363.
147. Lindman, B., Medronho, B., Alves, L., Costa, C., Edlund, H., Norgren, M. (2017). The relevance of structural features of cellulose and its interactions to dissolution, regeneration, gelation, and plasticization phenomena. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 19(35), 23704-23718.
148. Liu, Z., Qi, N., Luan, Y., Sun, X. (2015). Thermogravimetry-infrared spectroscopy analysis of the pyrolysis of willow leaves, stems, and branches. *Advances in Materials Science and Engineering*.
149. Lopičić, Z. R., Stojanović, M. D., Radoičić, T. S. K., Milojković, J. V., Petrović, M. S., Mihajlović, M. L., Kijevčanin, M. L. (2017). Optimization of the process of Cu (II) sorption by mechanically treated *Prunus persica* L.-Contribution to sustainability in the food processing industry. *Journal of Cleaner Production*, 156, 95-105.
150. Luo, L., Lan, Y., Zhang, Q., Deng, J., Luo, L., Zeng, Q., Gao, H., Zhao, W. (2022). A review on biomass-derived activated carbon as electrode materials for energy storage supercapacitors. *Journal of Energy Storage*, 55, 105839.
151. Ma Z., Kyotani T., Tomita A. (2002). Synthesis methods for preparing microporous carbons with a structural regularity of zeolite Y. *Carbon*, 40(13), 2367-2374.
152. Mališová, E., Fašková, L., Pavúková, D., Hiveš, J., Benkőová, M. (2021) Removal of cyanobacteria and cyanotoxins by ferrate from polluted lake water, *Environmental Science and Pollution Research*, 28(21), 27084-27094.
153. Mallick, A. K., Jha, A., Pokharel, B. P., Rajbhandari, R., Shrestha, R. M. (2019). Activated carbons derived from date (*Phoenix dactylifera*) seeds with excellent iodine adsorption properties. *Journal of the Institute of Engineering*, 15(2), 165-170.
154. Mariana, M., HPS, A. K., Mistar, E. M., Yahya, E. B., Alfatah, T., Danish, M., Amayreh, M. (2021). Recent advances in activated carbon modification techniques for enhanced heavy metal adsorption. *Journal of Water Process Engineering*, 43, 102221.
155. Marinović, Z. (2021). Cvetanje cijanobakterija, prisustvo cijanotoksina i njihov uticaj na ribe u pojedinim jezerskim ekosistemima Srbije i Mađarske. Doktorska disertacija, Univerzitet u Novom Sadu: Prirodno-matematički fakultet.
156. Marinović, Z., Tokodi, N., Backović, D. D., Šćekić, I., Kitanović, N., Simić, S. B., Đorđević N.B., Ferincz, Á., Staszn, Á., Dulić, T., Meriluoto, J., Urbányi, B., Lujić, J., Svirčev, Z. (2021). Does the Kis-Balaton Water Protection System (KBWPS) Effectively Safeguard Lake Balaton from Toxic Cyanobacterial Blooms?. *Microorganisms*, 9(5), 960.
157. Marsh, H., Reinoso, F. R. (2006). *Activated carbon*. Elsevier.
158. Mehdizadeh Allaf, M., Peerhossaini, H. (2022). Cyanobacteria: Model microorganisms and beyond. *Microorganisms*, 10(4), 696.

159. Melliti, A., Yilmaz, M., Sillanpää, M., Hamrouni, B., Vurm, R. (2023). Low-cost date palm fiber activated carbon for effective and fast heavy metal adsorption from water: Characterization, equilibrium, and kinetics studies. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 672, 131775.
160. Meng L. Y., Ma M. G., Ji X. X. (2019). Preparation of lignin-based carbon materials and its application as a sorbent. *Materials*, 12(7), 1111.
161. Merel S., Walker D., Chicana R., Snyder S., Baurès E., Thomas O. (2013). State of knowledge and concerns on cyanobacterial blooms and cyanotoxins. *Environment international*, 59, 303-327.
162. Metcalf, J. S., Dunlop, R. A., Banack, S. A., Souza, N. R., Cox, P. A. (2021). Cyanotoxin analysis and amino acid profiles of cyanobacterial food items from Chad. *Neurotoxicity Research*, 39(1), 72-80.
163. Milošković, A., Đuretanović, S., Radenković, M., Kojadinović, N., Veličković, T., Milošević, Đ., Simić, V. (2022). *Pollution of small lakes and ponds of the Western Balkans—assessment of levels of potentially toxic elements. In Small Water Bodies of the Western Balkans*. Springer, Cham. 419-435.
164. Moghaddam, L., Rencoret, J., Maliger, V. R., Rackemann, D. W., Harrison, M. D., Gutierrez, A., del Río José C., Doherty, W. O. (2017). Structural characteristics of bagasse furfural residue and its lignin component. An NMR, Py-GC/MS, and FTIR study. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 5(6), 4846-4855.
165. Mokrzycki, J., Gazińska, M., Fedyna, M., Karcz, R., Lorenc-Grabowska, E., Rutkowski, P. (2020). Pyrolysis and torrefaction of waste wood chips and cone-like flowers derived from black alder (*Alnus glutinosa* L. Gaertn.) for sustainable solid fuel production. *Biomass and Bioenergy*, 143, 105842.
166. Mobasser, S., Wager, Y., Dittrich, T. M. (2022). Indoor air purification of volatile organic compounds (VOCs) using activated carbon, zeolite, and organosilica sorbents. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 61(20), 6791-6801.
167. Møller, P., Azqueta, A., Boutet-Robinet, E., Koppen, G., Bonassi, S., Milić, M., Gajski, G., Costa, S., Teixeira, J.P., Pereira C.C., Dusinska, M., Godschalk, R., Brunborg, G., Gutzkow, K.B., Giovannelli, L., Cooke, M.S., Richling, E., Laffon, B., Valdiglesias, V., Basaran, N., Del Bo', C., Zegura, B., Novak, M., Stopper, H., Vodicka, P., Vodenkova, S., de Andrade, V.M., Sramkova, M., Gabelova, A., Collins, A., Langie, S. A. (2020). Minimum Information for Reporting on the Comet Assay (MIRCA): recommendations for describing comet assay procedures and results. *Nature protocols*, 15(12), 3817-3826.
168. Moore, J., Jayakumar, A., Soldatou, S., Mašek, O., Lawton, L. A., Edwards, C. (2023). Nature-Based Solution to Eliminate Cyanotoxins in Water Using Biologically Enhanced Biochar. *Environmental Science & Technology*, 57(43).
169. Mucci, M., Guedes, I. A., Faassen, E. J., Lüring, M. (2020). Chitosan as a coagulant to remove cyanobacteria can cause microcystin release. *Toxins*, 12(11), 711.
170. Munoz-Guillena, M. J., Illan-Gomez, M. J., Martin-Martinez, J. M., Linares-Solano, A., Salinas-Martinez de Lecea, C. (1992). Activated carbons from Spanish coals. 1. Two-stage carbon dioxide activation. *Energy & Fuels*, 6(1), 9-15.
171. Murshid, S., Antonysamy, A., Dhakshinamoorthy, G., Jayaseelan, A., Arivalagan, P. (2023). A review on biofilm-based reactors for wastewater treatment: Recent advancements in biofilm carriers, kinetics, reactors, economics, and future perspectives. *Science of The Total Environment*, 164796.
172. Nandanwar, R. A., Chaudhari, A. R., Ekhe, J. D. (2016). Nitrobenzene oxidation for isolation of value-added products from industrial waste lignin. *Journal of Chemical Biology and Physical Science*, 6(63), 501-513.
173. Nandiyanto, A. B. D., Oktiani, R., Ragadhita, R. (2019). How to read and interpret FTIR spectroscopy of organic material. *Indonesian Journal of Science and Technology*, 4(1), 97-118.

174. Ndlela, L. L., Oberholster, P. J., Van Wyk, J. H., Cheng, P. H. (2018). Bacteria as biological control agents of freshwater cyanobacteria: is it feasible beyond the laboratory?. *Applied microbiology and biotechnology*, 102, 9911-9923.
175. Niamien-Ebrottie, J. E., Bhattacharyya, S., Deep, P. R., Nayak, B. (2015). Cyanobacteria and cyanotoxins in the World. *Ijar*, 1(8), 563-569.
176. Nikolić, M., Nikolić, D. (2010). Model povećanja sorpcionih karakteristika filtera. *IMK-14-Istraživanje i razvoj*, 16(3), 92-96.
177. NIST Chemistry WebBook, SRD69, (<https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C7647145&Contrib=IARPA-IR-S&Type=IR-SPEC&Index=0>) приступљено датума 11.10.2021.
178. Nor, N. M., Lau, L. C., Lee, K. T., Mohamed, A. R. (2013). Synthesis of activated carbon from lignocellulosic biomass and its applications in air pollution control—a review. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 1(4), 658-666.
179. Olokotum, M., Mitroi, V., Troussellier, M., Semyalo, R., Bernard, C., Montuelle, B., Okello, W., Quiblier, C., Humbert, J. F. (2020). A review of the socioecological causes and consequences of cyanobacterial blooms in Lake Victoria. *Harmful algae*, 96, 101829.
180. Ono, E., Cuello, J.L. (2007). Carbon dioxide mitigation using thermophilic cyanobacteria. *Biosyst. Eng.* 96, 129-134.
181. Ouzzine, M., Romero-Anaya, A. J., Lillo-Rodenas, M. A., Linares-Solano, A. (2014). Spherical activated carbon as an enhanced support for TiO₂/AC photocatalysts. *Carbon*, 67, 104-118.
182. Özer, T., Yalçın, D., Erkaya, I. A., Udoh, A. U. (2016). Identification and characterization of some species of cyanobacteria, chlorophyta, and bacillariophyta using fourier-transform infrared (FTIR) spectroscopy. *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 11, 20-27.
183. Paerl H.W., Gardner W.S., Havens K.E., Joyner A.R., McCarthy M.J., Newell S.E., Qin B., Scott J.T. (2016). Mitigating cyanobacterial harmful algal blooms in aquatic ecosystems impacted by climate change and anthropogenic nutrients. *Harmful Algae* 54:213-222.
184. Paerl H.W., Hall N.S., Calandrino E.S. (2011). Controlling harmful cyanobacterial blooms in a world experiencing anthropogenic and climatic-induced change. *Sci Total Environ.*, 409(10), 1739-1745.
185. Paerl, H. W., Otten, T. G. (2013). Harmful cyanobacterial blooms: causes, consequences, and controls. *Microbial ecology*, 65(4), 995-1010.
186. Paerl, H. W., Paul, V. J. (2012). Climate change: links to global expansion of harmful cyanobacteria. *Water research*, 46(5), 1349-1363.
187. Paerl, H.W., Huisman, J. (2009). Climate change: a catalyst for global expansion of harmful cyanobacterial blooms. *Environmental microbiology reports*, 1(1), 27-37.
188. Pallarés, J., González-Cencerrado, A., Arauzo, I. (2018). Production and characterization of activated carbon from barley straw by physical activation with carbon dioxide and steam. *Biomass and Bioenergy*, 115, 64-73.
189. Park, J. A., Jung, S. M., Yi, I. G., Choi, J. W., Kim, S. B., Lee, S. H. (2017). Adsorption of microcystin-LR on mesoporous carbons and its potential use in drinking water source. *Chemosphere*, 177, 15-23.
190. Park, Y. H., Kim, H. S., Kim, H., Park, J., Kim, S., Choi, Y. E. (2022a). Direct removal of harmful cyanobacterial species by adsorption process and their potential use as a lipid source. *Chemical Engineering Journal*, 427, 131727.
191. Park, Y. H., Kim, S.; Choi, Y. E. (2022b). Remediation of Harmful Cyanobacteria-Contaminated Water Using Reusable Polyethyleneimine-Modified Polyvinyl Chloride Adsorbent.
192. Park, J. A., Kang, J. K., Jung, S. M., Choi, J. W., Lee, S. H., Yargeau, V., Kim, S. B. (2020). Investigating Microcystin-LR adsorption mechanisms on mesoporous carbon, mesoporous silica, and

- their amino-functionalized form: Surface chemistry, pore structures, and molecular characteristics. *Chemosphere*, 247, 125811.
193. Pavagadhi, S., Tang, A. L. L., Sathishkumar, M., Loh, K. P., & Balasubramanian, R. (2013). Removal of microcystin-LR and microcystin-RR by graphene oxide: adsorption and kinetic experiments. *Water research*, 47(13), 4621-4629.
194. Pendleton, P., Schumann, R., Wong, S. H. (2001). Microcystin-LR adsorption by activated carbon. *Journal of Colloid and Interface Science*, 240(1), 1-8.
195. Piletić, K., Kovač, B., Planinić, M., Vasiljev, V., Karačonji, I. B., Žigon, J., Gobin, I., Oder, M. (2022). Combined biocidal effect of gaseous ozone and citric acid on acinetobacter baumannii biofilm formed on ceramic tiles and polystyrene as a novel approach for infection prevention and control. *Processes*, 10(9), 1788.
196. Powdercell - <http://powdercell-for-windows.software.informer.com/2.4/> , приступљено датума 12.11.2021.
197. Prasanna, R., Sharma, E., Sharma, P., Kumar, A., Kumar, R., Gupta, V., Pal, R.K., Singh Shivay, Y., Nain, L. (2013) Soil fertility and establishment potential of inoculated cyanobacteria in rice crop grown under non-flooded conditions. *Paddy and Water Environment*, 11, 175-183.
198. Prauchner, M. J., Rodríguez-Reinoso, F. (2012). Chemical versus physical activation of coconut shell: A comparative study. *Microporous and Mesoporous Materials*, 152, 163-171.
199. Prokić S., Popović N., Trebješanin B., Simić Z. Babić P. (2008) *Rehabilitation of Lake Aleksandrovac – main project*. Jaroslav Černi Institute for the Development of Water Resources, Belgrade.
200. Protić Đ. (1935). Hidrobiološke studije na Kanalu Kralja Petra i Kanalu Kralja Aleksandra. Drugi deo. *Spomenik Srpske kraljevske Akademije* 80, 1-35.
201. Pui, W. K., Yusoff, R. A., Mohamed K. (2019). A review on activated carbon adsorption for volatile organic compounds (VOCs). *Reviews in Chemical Engineering*, 35(5), 649-668.
202. Pyo, D. J., Moon, D. C. (2005). Adsorption of microcystin LR by activated carbon fibers. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 26(12), 2089-2092.
203. Quintana, N., Van der Kooy, F., Van de Rhee, M.D., Voshol, G.P., Verpoorte, R. (2011) Renewable energy from cyanobacteria: Energy production optimization by metabolic pathway engineering. *Appl. Microbiol. Biot*, 91, 471-490.
204. Raspolli Galletti A. M., D'Alessio A., Licursi D., Antonetti C., Valentini G., Galia A., Nassi o Di Nasso N. (2015). Midinfrared FT-IR as a tool for monitoring herbaceous biomass composition and its conversion to furfural. *Journal of Spectroscopy*.
205. Reasoner, D. J. (1988). Microbiological Studies of Granular Activated Carbon Point-Of-Use. *Proceedings, Conference on Point-of-Use Treatment of Drinking Water: Cincinnati, Ohio, October 6-8, 1987*. Water Engineering Research Laboratory, Office of Research and Development, US Environmental Protection Agency.
206. Recknagel, F., Orr, P., Cao, H. (2014). Inductive reasoning and forecasting of population dynamics of *Cylindrospermopsis raciborskii* in three sub-tropical reservoirs by evolutionary computation. *Harmful Algae*, 31, 26-34.
207. Reynolds, C.S. (2006). *The ecology of phytoplankton*. Cambridge University Press.
208. Rocha Diaz de Leon, G. R. (2021). Impact of Anaerobic Biofilm Formation on Sorption Characteristics of Powdered Activated Carbon (Master's thesis, University of Waterloo).
209. Rodriguez-Reinoso, F. (1997). Activated Carbon. In Harry Marsh (Ed.) *Introduction to Carbon Technologies*. Rodriguez-Reinoso F. Univ. Alicante, 35-61.
210. Roeselers, G., van Loosdrecht, M.C.M., Muyzer, G. (2008) Phototrophic biofilms and their potential applications. *J. Appl. Phycol.* 20, 227-235.

211. Romero-Anaya, A. J., Lillo-Ródenas, M. A., Linares-Solano, A. (2010). Spherical activated carbons for low concentration toluene adsorption. *Carbon*, 48(9), 2625-2633.
212. Rotim, K. (2018). Model rasta bakterijskog biofilma u stacionarnim uvjetima (Doctoral dissertation, University of Zagreb. Faculty of Science. Department of Biology).
213. RRUFF - <https://rruff.info/Sylvite>, приступљено датума 11.10.2021.
214. Sanjay, M. R., Madhu, P., Jawaid, M., Sentharamaikkannan, P., Senthil, S., Pradeep, S. (2018). Characterization and properties of natural fiber polymer composites: A comprehensive review. *Journal of Cleaner Production*, 172, 566-581.
215. Sati, S. C., Sati, N., Sati, O. P. (2011). Bioactive constituents and medicinal importance of genus *Alnus*. *Pharmacognosy reviews*, 5(10), 174.
216. Scholz, S. N., Esterhuizen-Londt, M., Pflugmacher, S. (2017). Rise of toxic cyanobacterial blooms in temperate freshwater lakes: Causes, correlations and possible countermeasures. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 99(4), 543-577.
217. Seleem, E. M., Mostafa, A., Mokhtar, M., Salman, S. A. (2021). Risk assessment of heavy metals in drinking water on the human health, Assiut City, and its environs, Egypt. *Arabian Journal of Geosciences*, 14(6), 1-11.
218. Serbian Cyanobacterial Database, <https://cloud.pmf.uns.ac.rs/index.php/s/v6tErVCVcAuaXQN>, приступљено 26.02.2022.
219. Sevilla, M., Mokaya, R., (2014). Energy storage applications of activated carbons: supercapacitors and hydrogen storage. *Energy Environ. Sci.* 7 (4), 1250-1280.
220. Seyedzadeh, A., Mwafy, A., Ahmed, W. K., Pandurangan, K., Hilal-Alnaqbi, A. (2017). Activating carbon fibers and date pits for use in liver toxin adsorption. In Ntambwe Malangu (Ed.) *Poisoning-From Specific Toxic Agents to Novel Rapid and Simplified Techniques for Analysis*.
221. Shafeeyan, M.S., Daud, W.M.A.W., Houshmand, A., Shamiri, A. (2010). A review on surface modification of activated carbon for carbon dioxide adsorption. *J. Anal. Appl. Pyrol.* 89 (2), 143-151.
222. Shafizadeh, F. (1968). Pyrolysis and combustion of cellulosic materials. In *Advances in carbohydrate chemistry* (Vol. 23). Academic press, 419-474.
223. Sharma, S., Mohler, J., Mahajan, S. D., Schwartz, S. A., Bruggemann, L., Aalinkeel, R. (2023). Microbial biofilm: a review on formation, infection, antibiotic resistance, control measures, and innovative treatment. *Microorganisms*, 11(6), 1614.
224. Simić, S., Mišević, M., Đorđević, N., Popović, N. (2011). Cyanobacteria in Aleksandrovac Lake, before and after revitalisation. *16th Academy of Studenica: Cyanobacteria and Human Health, Novi Sad, Serbia. Abstract book*, 17-18.
225. Simões, L. C., Simões, M. (2013). Biofilms in drinking water: problems and solutions. *Rsc Advances*, 3(8), 2520-2533.
226. Simpson, D. R. (2008). Biofilm processes in biologically active carbon water purification. *Water research*, 42(12), 2839-2848.
227. Singh, H., Choden, S. (2016). Comparison of adsorption behaviour and kinetic modeling of bio-waste materials using basic dye as adsorbate. *Indian Journal of Chemical Technology (IJCT)*, 21(5-6), 359-367.
228. Singh, J.S.; Kumar, A.; Rai, A.N.; Singh, D.P. (2016). Cyanobacteria: A precious bio-resource in agriculture, ecosystem, and environmental sustainability. *Front. Microbiol.*, 7, 529.
229. Singh, S.P., Montgomery, B.L. (2011). Determining cell shape: Adaptive regulation of cyanobacterial cellular differentiation and morphology. *Trends. Microbiol.*, 19, 278-285.
230. Sinha, P., Banerjee, S., Kar, K. K. (2020). Characteristics of activated carbon. *Handbook of Nanocomposite Supercapacitor Materials I: Characteristics*, 125-154.
231. Smith, V. H., Schindler, D. W. (2009). Eutrophication science: where do we go from here?. *Trends in ecology & evolution*, 24(4), 201-207.

232. Soares, M. C. S., Lüring, M., Huszar, V. L. (2013). Growth and temperature-related phenotypic plasticity in the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii*. *Phycological Research*, 61(1), 61-67.
233. Sorlini, S., Collivignarelli, C. (2011). Microcystin-LR removal from drinking water supplies by chemical oxidation and activated carbon adsorption. *Journal of Water Supply: Research and Technology—AQUA*, 60(7), 403-411.
234. Sorlini, S., Collivignarelli, C., Carnevale Miino, M., Caccamo, F. M., Collivignarelli, M. C. (2020). Kinetics of microcystin-LR removal in a real lake water by UV/H₂O₂ treatment and analysis of specific energy consumption. *Toxins*, 12(12), 810.
235. Spector, M. P., Kenyon, W. J. (2012). Resistance and survival strategies of *Salmonella enterica* to environmental stresses. *Food Research International*, 45(2), 455-481.
236. SRPS EN 15204:2008 (2008). Kvalitet vode - Uputstvo za prebrojavanje fitoplanktona pomoću invertne mikroskopije (postupak po Utermolu). Institut za standardizaciju Srbije (Standard je identičan sa: EN 15204:2006), 42 pp
237. Starmach, K. Euglenophyta (1983). In Starmach, K., Sieminska, J. (Eds.) *Flora Slodkowodna Polski, 3. Państwowe wydawnictwo naukowe*, Warszawa-Krakow.
238. Steffen, M. M., Li, Z., Effler, T. C., Hauser, L. J., Boyer, G. L., Wilhelm, S. W. (2012). Comparative metagenomics of toxic freshwater cyanobacteria bloom communities on two continents. *PloS one*.
239. Steffen, M. M., Belisle, B. S., Watson, S. B., Boyer, G. L., Wilhelm, S. W. (2014). Status, causes and controls of cyanobacterial blooms in Lake Erie. *Journal of Great Lakes Research*, 40(2), 215-225.
240. Stepanović, S., Vuković, D., Dakić, I., Savić, B., Švabić-Vlahović, M., (2000). A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. *J. Microbiol. Methods*, 40, 175-179.
241. Stojmenović, M., Kandić, I., Gulicovski, J., Nišić, N., Lišanin, R., Nikolić, K., Kragović, M. (2023). Education of the population about potential risks the cyanobacteria bloom during ten years – study case of Aleksandrovac Lake Modern education - accessibility, quality, recognition, Kramatorsk-Vinnytsia-Ternopil, Ukraine. p. 43.
242. Su, F., Zeng, J., Yu, Y., Lv, L., Lee, J. Y., Zhao, X. S. (2005). Template synthesis of microporous carbon for direct methanol fuel cell application. *Carbon*, 43(11), 2366-2373.
243. Suhas, V.K., Gupta, P.J.M., Carrott, P.J., Singh, R., Chaudhary, M., Kushwaha, S. (2016). Cellulose: A review as natural, modified and activated carbon adsorbent. *Bioresour. Technol.*, 216, 1066-1076.
244. Šuikaitė, I., Vansevičiūtė, G., Koreivienė, J. (2023). An overview of the distribution and ecology of the alien cyanobacteria species, and in Europe. *Oceanological and Hydrobiological Studies*, 52(3), 312-332.
245. Sultana, M., Rownok, M. H., Sabrin, M., Rahaman, M. H., Alam, S. N. (2022). A review on experimental chemically modified activated carbon to enhance dye and heavy metals adsorption. *Cleaner Engineering and Technology*, 6, 100382.
246. Sun, Y., Iris, K. M., Tsang, D. C., Fan, J., Clark, J. H., Luo, G., Zhang, S., Khan, E., Graham, N. J. (2020). Tailored design of graphitic biochar for high-efficiency and chemical-free microwave-assisted removal of refractory organic contaminants. *Chemical Engineering Journal*, 398, 125505.
247. Svirčev, Z., Lalić, D., Bojadžija Savić, G., Tokodi, N., Drobac Backović, D., Chen, L., Meriluoto, J., Codd, G. A. (2019). Global geographical and historical overview of cyanotoxin distribution and cyanobacterial poisonings. *Archives of toxicology*, 93(9), 2429-2481.
248. Svirčev, Z., Obradović, V., Codd, G. A., Marjanović, P., Spoof, L., Drobac, D., Tokadi N., Petković A., Nenin T., Simeunivuč J., Važić T., Meriluoto, J. (2016). Massive fish mortality and *Cylindrospermopsis raciborskii* bloom in Aleksandrovac Lake. *Ecotoxicology*, 25, 1353-1363.

249. Svirčev, Z., Tokodi, N., Drobac, D. (2017). Review of 130 years of research on cyanobacteria in aquatic ecosystems in Serbia presented in a Serbian Cyanobacterial Database. *Advances in Oceanography and Limnology*, 8(1).
250. Sweetman, M. J., May, S., Mebberson, N., Pendleton, P., Vasilev, K., Plush, S. E., Hayball, J. D. (2017). Activated carbon, carbon nanotubes and graphene: materials and composites for advanced water purification. *C: Journal of Carbon Research*, 3(2), 18.
251. Tan, X. F., Liu, S. B., Liu, Y. G., Gu, Y. L., Zeng, G. M., Hu, X. J., Wang, X., Liu, S., Jiang, L. H. (2017). Biochar as potential sustainable precursors for activated carbon production: multiple applications in environmental protection and energy storage. *Bioresource technology*, 227, 359-372.
252. Tay, T., Ucar, S., Karagöz, S. (2009). Preparation and characterization of activated carbon from waste biomass. *Journal of Hazardous Materials*, 165(1-3), 481-485.
253. Teixeira, M. R., Rosa, M. J., Sorlini, S., Biasibetti, M., Christophoridis, C., Edwards, C. (2020). Removal of Cyanobacteria and Cyanotoxins by Conventional Physical-chemical Treatment. *Water treatment for purification from cyanobacteria and cyanotoxins*, 69-97.
254. Tejada C. N., Almanza D., Villabona A., Colpas F., Granados, C. (2017). Characterization of activated carbon synthesized at low temperature from cocoa shell (*Theobroma cacao*) for adsorbing amoxicillin. *Ingeniería y competitividad*, 19(2), 45-54.
255. Thommes M., Kaneko K., Neimark A. V., Olivier J. P., Rodriguez-Reinoso, F., Rouquerol, J., Sing K. S. (2015). Physisorption of gases, with special reference to the evaluation of surface area and pore size distribution (IUPAC Technical Report). *Pure and applied chemistry*, 87(9-10), 1051-1069.
256. Ukanwa, K.S., Patchigolla, K., Sakrabani, R., Anthony, E., Mandavgane, S. (2019). A review of chemicals to produce activated carbon from agricultural waste biomass. *Sustainability*, 11(22), 6204.
257. USEPA (United States Environmental Protection Agency). (1985) Practical guide to ground-water sampling. Environmental Research Laboratory. Ada, OK. EPA 600/2-85/104.
258. USEPA (United States Environmental Protection Agency). (1989a) Office of Water Regulations and Standard: guidance manual for assessing human health risks from chemically contaminated, fish and shellfish, Washington, DC; EPA-503/8-89-002
259. USEPA (United States Environmental Protection Agency). (1989b) Ground-water sampling for metals analyses. Office of Solid Waste and Emergency Response. EPA/540/4-89-001.
260. USEPA (United States Environmental Protection Agency). (1991) Lead in drinking water. Public Education, National Primary Drinking Water Regulations, Control of Lead and Copper, 40CFR part 141.85 Federal Registrar 56: 26553.
261. USEPA (United States Environmental Protection Agency). (2001) Protocol for developing pathogen TMDL's, Washington, DC, U.S. Environmental Protection Agency report EPA841-R-00-002.
262. USEPA (United States Environmental Protection Agency). (2004) Risk assessment guidance for superfund (RAGS), Volume I: Human health evaluation manual (part E, supplemental guidance for dermal risk assessment). EPA- 540/R/99/005. Office of Superfund Remediation and Technology Innovation, Washington, DC, USA. 2004.
263. USEPA IRIS (United States Environmental Protection Agency's Integrated Risk Information System). (2011). Region I, Washington DC 20460. US EPA. <http://www.epa.gov/iris/>.
264. Utermöhl, H. (1958). Zur vervollkommnung der quantitativen phytoplankton-methodik: Mit 1 Tabelle und 15 abbildungen im Text und auf 1 Tafel. Internationale Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie: Mitteilungen, 9(1), 1-38.
265. Uyeda, J. C., Harmon, L. J., Blank, C. E. (2016). A comprehensive study of cyanobacterial morphological and ecological evolutionary dynamics through deep geologic time. *PloS one*, 11(9), e0162539.

266. Vasistha, P., Ganguly, R. (2020). Water quality assessment of natural lakes and its importance: An overview. *Materials Today: Proceedings*, 32, 544-552.
267. Važić, T. (2020). Smanjenje Ukupnog Kapaciteta Vodenih Ekosistema i Primena Vodonič-Peroksida u Regulaciji Ubrzane Eutrofizacije i Cvetanja Cijanobakterija. Doktorska disertacija, Univerzitet u Novom Sadu: Prirodno-matematički fakultet.
268. Veličković, A., Avramović, J., Kostić, M., Krstić, J., Stamenković, O., Veljković, V. (2021). Modeling the biodiesel production using the wheat straw ash as a catalyst. *Chemical Industry*, 75(5), 257-276.
269. Verma, S., Kumar, P., Lavrenčić Štanger, U. (2023). A Perspective on Removal of Cyanotoxins from Water Through Advanced Oxidation Processes. *Global Challenges*, 7(9), 2300125.
270. Vidal, L., Ballot, A., Azevedo, S.M.F.O., Padisák, J., Welker, M. (2021) Introduction to cyanobacteria. In Ingrid Chorus, Martin Welker (Eds.) *Toxic Cyanobacteria in Water, 2nd ed.* CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 163-211.
271. Vijayaraghavan K., Yun Y. S. (2008). Bacterial biosorbents and biosorption. *Biotechnology advances*, 26(3), 266-291.
272. Villars, K., Huang, Y., Lenhart, J. J. (2020). Removal of the cyanotoxin microcystin-LR from drinking water using granular activated carbon. *Environmental Engineering Science*, 37(9), 585-595.
273. Vraneš, J., Leskovic, V. (2009). Značenje nastanka mikrobnog biofilma u patogenezi i liječenju kroničnih infekcija. *Med Glas.*, 6, 147-165.
274. Walker, H.W. (2014). *Harmful algae blooms in drinking water: removal of cyanobacterial cells and toxins*. CRC Press.
275. Wang S., Ji B., Cui B., Ma Y., Guo D., Liu Y. (2021) Cadmium-effect on performance and symbiotic relationship of microalgal-bacterial granules. *J Clean Prod*, 282, 125383.
276. Wang, G., Zhao, G., Chao, X., Xie, L., Wang, H. (2020). The characteristic of virulence, biofilm and antibiotic resistance of *Klebsiella pneumoniae*. *International journal of environmental research and public health*, 17(17), 6278.
277. Wang, Y., He, Q., Tang, H., Han, Y., Li, M. (2021). Two-year moving aeration controls cyanobacterial blooms in an extremely eutrophic shallow pond: Variation in phytoplankton community and *Microcystis* colony size. *Journal of Water Process Engineering*, 42, 102192.
278. Wang, Z., Akbar, S., Sun, Y., Gu, L., Zhang, L., Lyu, K., Huang Y., Yang, Z. (2021). Cyanobacterial dominance and succession: Factors, mechanisms, predictions, and managements. *Journal of Environmental Management*, 297, 113281.
279. Wanprakhon, S., Sukcharoen, P., Krongchai, S. (2022). A comparative study of one-step and two-step activated carbon from longan seeds by dry chemical activation with NaOH. *Journal of Materials Science and Applied Energy*, 11(1), 9-15.
280. Waterbury, J. B. (2006). The cyanobacteria— isolation, purification and identification. *The Prokaryotes*, 4, 1053-1073.
281. Watson, S. B., Whitton, B. A., Higgins, S. N., Paerl, H. W., Brooks, B. W., Wehr, J. D. (2015). Harmful algal blooms. In John D, Wehr, Robert G. Sheath, J. Patrick Kociolek (Eds.) *Freshwater Algae of North America*. Academic Press, 873-920.
282. Wei, L., Lu, J. (2021). Adsorption of microcystin-LR by rice straw biochars with different pyrolysis temperatures. *Environmental Technology & Innovation*, 23, 101609.
283. White, R. J., Budarin, V., Luque, R., Clark, J. H., Macquarrie, D. J. (2009). Tuneable porous carbonaceous materials from renewable resources. *Chemical Society Reviews*, 38(12), 3401-3418.
284. Whitton B.A. (2012). *Ecology of Cyanobacteria II: Their Diversity in Space and Time*, Springer, Dordrecht/Heidelberg/New York/London.
285. Wingender, J. (2011). Hygienically relevant microorganisms in biofilms of man-made water systems. *Biofilm highlights*, 189-238.

286. Wingender, J., Flemming, H. C. (2011). Biofilms in drinking water and their role as reservoir for pathogens. *International journal of hygiene and environmental health*, 214(6), 417-423.
287. Yaciuk, P. A., Colombo, F., Lecomte, K. L., De Micco, G., Bohé, A. E. (2022). Cadmium sources, mobility, and natural attenuation in contrasting environments (carbonate-rich and carbonate-poor) in the Capillitas polymetallic mineral deposit, NW Argentina. *Applied Geochemistry*, 136, 105152.
288. Yahya, M. A., Al-Qodah, Z., Ngah, C. Z. (2015). Agricultural bio-waste materials as potential sustainable precursors used for activated carbon production: A review. *Renewable and sustainable energy reviews*, 46, 218-235.
289. Yu, J., Zhang, D., Ren, W., Liu, B. (2019). Transport of *Enterococcus faecalis* in granular activated carbon column: Potential energy, migration, and release. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 183, 110415.
290. Yu, S., Zhu, X., Zhou, J., Cai, Z. (2018). Biofilm inhibition and pathogenicity attenuation in bacteria by *Proteus mirabilis*. *Royal Society open science*, 5(4), 170702.
291. Yang, Z., Xia, Y., Mokaya, R. (2007). Enhanced hydrogen storage capacity of high surface area zeolite-like carbon materials. *Journal of the American Chemical Society*, 129(6), 1673-1679.
292. Zellner, T., Prasa, D., Färber, E., Hoffmann-Walbeck, P., Genser, D., Eyer, F. (2019). The use of activated charcoal to treat intoxications. *Deutsches Aerzteblatt International*, 116(18), 311.
293. Zeng, S., Kan, E. (2021). Adsorption and regeneration on iron-activated biochar for removal of microcystin-LR. *Chemosphere*, 273, 129649.
294. Zhang, L., Tu, L. Y., Liang, Y., Chen, Q., Li, Z. S., Li, C. H., Wang, Z.H., Li, W. (2018). Coconut-based activated carbon fibers for efficient adsorption of various organic dyes. *RSC advances*, 8(74), 42280-42291.
295. Zhang, T., Walawender, W. P., Fan, L. T., Fan, M., Daugaard, D., Brown, R. C. (2004). Preparation of activated carbon from forest and agricultural residues through CO₂ activation. *Chemical Engineering Journal*, 105(1-2), 53-59.
296. Zhou, B., Cai, X., Wang, S., Yang, X. (2020). Analysis of the causes of cyanobacteria bloom: a review. *J. Resour. Ecol*, 11, 405-413.
297. Zhou, F., Wang, D., Hu, J., Zhang, Y., Tan, B. K., Lin, S. (2022). Control measurements of *Escherichia coli* biofilm: A review. *Foods*, 11(16), 2469.
298. Zhou, G., Taylor, G., Polle, A. (2011). FTIR-ATR-based prediction and modelling of lignin and energy contents reveals independent intra-specific variation of these traits in bioenergy poplars. *Plant methods*, 7, 1-10.
299. Zhuang, Z. X., Shen, Y., Shen, H. M., Ng, V., Ong, C. N. (1996). DNA strand breaks and poly (ADP-ribose) polymerase activation induced by crystalline nickel subsulfide in MRC-5 lung fibroblast cells. *Human & experimental toxicology*, 15(11), 891-897.
300. Zieliński, B., Miądlicki, P., & Przepiórski, J. (2022). Development of activated carbon for removal of pesticides from water: case study. *Scientific Reports*, 12(1), 20869.
301. Zimba, P. V., Moeller, P. D., Beauchesne, K., Lane, H. E., Triemer, R. E. (2010). Identification of euglenophycin—A toxin found in certain euglenoids. *Toxicon*, 55(1), 100-104.
302. Правилник о дозвољеним количинама опасних и штетних материја у земљишту и води за наводњавање и начинима њиховог испитивања „Службени гласник РС” број 23 од 18.03.1994.
303. Правилник о параметрима еколошког и хемијског статуса површинских вода и параметрима хемијског и квантитативног статуса подземних вода, Службени гласник Републике Србије (2011) 74/11.
304. Правилник о хигијенској исправности воде за пиће, 2019 („Службени лист СРЈ”, бр. 42/98 и 44/99 и „Службени гласник РС”, бр. 28/2019).

305. Светска здравствена организација (СЗО) (2020). Cyanobacterial toxins: Anatoxin-a and analogues; Cylindrospermopsins; Microcystins; Saxitoxins. Background documents for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality and Guidelines for Safe Recreational Water Environments. Geneva: World Health Organization. <https://www.who.int/teams/environment-climate-change-and-health/water-sanitation-and-health/water-safety-and-quality/publications>
306. СЗО (WHO), 2006. Смернице за квалитет воде за пиће. Први додатак трећем издању, књ. 1, Препоруке, 3. изд. Светска здравствена организација, Женева.
307. СЗО (WHO) - Nordic Council of Ministers. Cadmium Review, Geneva, Switzerland, 2003; p. 11. https://www.who.int/ifcs/documents/forums/forum5/nmr_cadmium (приступљено 18.11.2021).
308. СЗО (WHO) - Nordic Council of Ministers. Cadmium Review; WHO: Geneva, Switzerland, (2003); p. 11. - https://www.who.int/ifcs/documents/forums/forum5/nmr_cadmium.pdf (приступљено датума 18.11.2021).
309. Светска здравствена организација СЗО. 2011. Смернице за квалитет воде за пиће, 2011, 38(4), 104-8.

7. Прилози

Прилог 1. Лигноцелуозни састав урмине палме, и удео пепела и влаге (w/w у односу на сировину сушену у пећници, %).

Део палме	Целулоза	Хемицелулоза	Лигнин	Пепео	Влага	Екстрактиви у врућој води	Литература
Лист	30.30	н.д.	31.20	9.60	н.д.	10.80	Khristova и сар. 2005
Лисна петелјка	43.10	н.д.	23.8	5.60	н.д.	8.7	
Лист	33.50	59.50	27.00	6.50	н.д.	н.д.	Bendahou и сар. 2007
Лисна петелјка	44.00	72.00	14.00	2.50	н.д.	н.д.	
Лисна петелјка	45.00	74.80	27.20	5.00	н.д.	8.10	Khiari и сар. 2010
Лисна петелјка	35.00	15.40	20.13	12.60	15.60	н.д.	Alotaibi и сар. 2019
Стабљика плода	44.00	26.00	11.45	1.85	9.60	н.д.	
Омотач листа	43.50	24.00	18.00	7.73	6.80	н.д.	
Стабла	40.00	9.75	29.48	3.67	5.70	н.д.	

н.д. – није детерминисано.

Прилог 2. Лигноцелулозни састав црне јове (Mokrzycki и сар. 2020). Количине у % (w/w у односу на сировину сушену у пећници).

Део биљке	Целулоза	Хемицелулоза	Лигнин	Пепео	Екстрактиви
Плод	20.9	29.3	29.7	2.6	17.4
Стабљика плода	27.6	35.2	21.2	0.5	15.5

Прилог 3. Дозвољене концентрације одређених елемената у води.

Елемент	Дозвољене концентрације		
	*РС	**РС	***СЗО
	[mg/L]		
Cd	0.003	0.01	0.003
Co	/	/	/
Fe	/	/	0.3
I	0.02	0.1	0.07
Pb	0.01	0.1	0.01
Hg	0.001	0.001	0.006
Be	/	/	/
Zn	3.0	1.0	0.05
Cu	2.0	0.1	2.0
Mo	0.07	/	0.07
As	0.01	0.05	0.01
V	/	/	/
Sb	0.003	/	0.005
Ti	/	/	/
Se	0.01	/	0.04
Sr	/	/	/
Ca	200.0	/	100
Al	/	/	/
B	1.0	1.0	2.4
Cr	0.05	0.5	0.05
Mg	50.0	/	150
Mn	0.05	/	0.5
Ag	/	/	0.005
Sn	/	/	/

*Правилник о хигијенској исправности воде за пиће, 2019 („Службени лист СРЈ”, бр. 42/98 и 44/99 и „Службени гласник РС”, бр. 28/2019).

**Правилник о дозвољеним количинама опасних и штетних материја у земљишту и води за наводњавање и начинима њиховог испитивања „Службени гласник РС” број 23 од 18.03.1994.

***Светска здравствена организација СЗО. 2011. Смернице за квалитет воде за пиће, 2011, 38(4), 104-8.

Прилог 4. Смернице и референтне вредности за одабране цијанотоксине (СЗО, 2020).

Токсин	Изолагање	Вредност [µg/L]	Тип вредности
MC-LR	Пијаћа вода, дугорочно	1	Привремена вредност смерница
MC-LR	Пијаћа вода, краткорочно*	12	Привремена вредност смерница
MC-LR	Вода за рекреацију	24	Привремена вредност смерница
Цилиндроспермопсин	Пијаћа вода, дугорочно	0.7	Привремена вредност смерница
Цилиндроспермопсин	Пијаћа вода, краткорочно*	3	Привремена вредност смерница
Цилиндроспермопсин	Вода за рекреацију	6	Привремена вредност смерница
Анатоксин	Пијаћа вода, акутно	30	Здравствено засновано
Анатоксин	Вода за рекреацију	60	Здравствено засновано
Сакситоксин	Пијаћа вода, акутно	3	Референтна вредност
Сакситоксин	Вода за рекреацију	30	Референтна вредност

*Краткорочно време изложености подразумева период изложености од око две недеље, док се квалитет воде не побољша.

Прилог 5. Смернице Светске здравствене организације за воду (СЗО, 2003).

Тип воде	Бројност цијанобактерија (ћел/мЛ)	Вероватноћа штетних здравствених ефеката
За пиће	< 200	Дозвољено за пиће
	< 2,000	Релативно ниска
За рекреацију	20,000 – 100,000	Умерена
	100,000 – 10,000,000	Висока
	> 10,000,000	Веома висока

Прилог 6. Преглед базе - „Serbian Cyanobacterial Database“ цветања цијанобактерија у лентичким водама у Србији.

Локалитет	Доминантна врста/ род	Документовани цијанотоксин
Баре		
Царска бара	<i>Anabaena flos-aquae</i>	н.д.
Слатина	<i>Aphanizomenon flos-aquae</i> *, <i>Microcystis flos-aquae</i> , <i>Arthrospira fusiformis</i> , <i>Raphidiopsis raciborskii</i> <i>Anabaena sp.</i>	н.д.
Оповачки Дунавац	<i>Microcystis sp.</i> <i>Aphanizomenon flos-aquae</i> <i>Phormidium sp.</i>	н.д.
Језера		
Велики Затон	<i>Limnotherix redekei</i> , <i>Pseudanabaena limnetica</i> , <i>Planktothrix agardhii</i> , <i>Microcystis spp</i>	н.д.
Газиводе	<i>Planktothrix rubescens</i> *	н.д.
Лудош	<i>Anabaena sp.</i> <i>Aphanizomenon flos-aquae</i> *, <i>Cylindrospermopsis sp.</i> , <i>Lyngbya sp.</i> , <i>Microcystis aeruginosa</i> *, <i>Microcystis flos-aquae</i> *, <i>Microcystis wesenbergii</i> *, <i>Oscillatoria sp.</i> , <i>Planktothrix agardhii</i> *	микроцистин
Палићко језеро	<i>Anabaena circinalis</i> *, <i>Anabaena spiroides</i> *, <i>Aphanizomenon flos-aquae</i> *, <i>Dolichospermum spiroides</i> , <i>Microcystis aeruginosa</i> *, <i>Microcystis flos-aquae</i> *, <i>Microcystis wesenbergii</i> *	микроцистин
Савско језеро	<i>Aphanizomenon sp.</i> *, <i>Microcystis sp.</i>	н.д.
Сјеничко језеро	<i>Planktothrix rubescens</i> *	н.д.
Акумулација воде за пиће		
Гружа	<i>Anabaena constricta</i> ,	н.д.

Гарашко језеро	<i>Anabaena flos-aquae</i> *, <i>Anabaena solitaria</i> *, <i>Aphanizomenon flos-aquae</i> *, <i>Aphanizomenon issatschenkoi</i> , <i>Lyngbya limnetica</i> , <i>Oscillatoria tenuis</i> <i>Anabaena affinis</i> , <i>Aphanizomenon flos-aquae</i> *, <i>Microcystis aeruginosa</i> *, <i>Planktothrix agardhii</i>	н.д.
Бован	<i>Anabaena solitaria</i> *, <i>Aphanizomenon flos-aquae</i> *, <i>Aphanizomenon issatschenkoi</i> <i>Pseudanabaena limnetica</i> *, <i>Anabaena circinalis</i> *, <i>Aphanizomenon flos-aquae</i> *, <i>Aphanizomenon issatschenkoi</i> *, <i>Jaaginema subtilissimum</i> *	н.д.
Телије	<i>Microcystis aeruginosa</i> *, <i>Oscillatoria splendida</i>	микроцистин
Акумулација воде за наводњавање		
Александровачко језеро	<i>Raphidiopsis raciborskii</i> *, <i>Pseudoanabaena sp.</i> , <i>Anabaena bergei</i>	н.д.
Борковац	<i>Microcystis aeruginosa</i> *, <i>Aphanizomenon flos-aquae</i> *, <i>Planktothrix agardhii</i> *	микроцистин
Букуља	<i>Planktothrix agardhii</i> , <i>Aphanizomenon flos-aquae</i> *, <i>Anabaena flos-aquae</i> *, <i>Gomphosphaeria aponina</i> *	н.д.
Мртва Тиса	<i>Aphanizomenon flos-aquae</i> *, <i>Planktothrix sp.</i>	микроцистин
Акумулација воде са другом наменом		
Ђердап	<i>Microcystis aeruginosa</i> , <i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	н.д.
Кокин Брод	<i>Planktothrix rubescens</i> *	н.д.
Потпећ	<i>Planktothrix rubescens</i> *	н.д.
Рибњаци		
Живача	<i>Microcystis aeruginosa</i> *	н.д.
Ечка	<i>Microcystis flos-aquae</i> <i>Microcystis marginata</i> <i>Aphanizomenon flos-aquae</i> <i>Anabaena spp.</i> <i>Microcystis aeruginosa</i> *	н.д.

*цветајућа цијанобактерија
н.д. - није детектовано

Прилог 7. Физичко - хемијски параметри Александровачког језера (2008.-2012. године).

Година	Ђорђевић и Simić, 2014			Svirčev и сар. 2016			
	2008		2011		2012		
Месец	Јун	Септембар	Април	Јун	Јул	Септембар	Новембар
Температура воде [°C]	34.4	15.9	12.9	21.0	26.2	21.6	10.5-10.8
pH	10.4	6.68	8.78	8.78	9.23	10.2	8.45-9.08
Кисеоник [mg/L]	10.1	3.60	10.0	6.02	7.24	7.36	8.15-8.69
Сатурација [%]	146	41.2	10	71.5	96.4	85.8	-
Нитрати[mg/L]	2.10	-	0.48	2.52	1.88	1.85	< 0.05-0.79
Фосфати [mg/L]	1.25	0.20	0.08	0.74	0.39	0.33	0.097-0.115
Амонијум [mg/L]	0.23	0.10	0.40	0.23	0.27	0.14	0.08-0.2
Проводљивост [μg/cm]	1238	1234	362	367	377	423	413-439
Транспарентност [m]	0.10	0.10	1.00	1.20	0.80	0.60	-
Замућеност [NTU]	-	-	-	-	-	-	65.4-77.8

Прилог 8. Параметри за израчунавање хроничног дневног уноса (Seleem и сар. 2021).

Параметар	Јединица	Вредност	Литература
Cw	Концентрација метала	mg/L	
Путем ингестије			
IR	Степен ингестије воде	L/дан	USEPA (2001)
EF	Степен изложености	дан/година	USEPA (2001)
ED	Дужина изложености	година	USEPA (1991, 2004)
BW	Телесна маса	kg	USEPA (1989 а)
AT	Просечно време	дан	USEPA (2004)
Путем коже			
SA	Изложена површина коже	cm ²	USEPA (1985,1989 б)
Kp	Специфични коефицијент дермалне пермеабилности	cm/h	Специфично за хемијски елемент USEPA (2001)
CF	Волуметријски фактор конверзије	cm ³ /L	10-3
ET	Време излагања	h/дан	0.67077 USEPA (2001)

Прилог 9. Референтна доза (RfD) за различите метале (USEPA IRIS 2011).

Тешки метали	RfD [mg/kg/дан]
Cd	5.0 × 10 ⁻⁴
Fe	7.0 × 10 ⁻¹
Ni	2.0 × 10 ⁻²
Pb	3.5 × 10 ⁻³
Hg	1.6 × 10 ⁻⁴
Zn	3.0 × 10 ⁻¹
Cu	4.0 × 10 ⁻²
As	3.0 × 10 ⁻⁴
Cr	3.0 × 10 ⁻³
Mn	2.4 × 10 ⁻²

Биографија

Ирина Кандић завршила је основне студије на Биолошком факултету, Универзитета у Београду 2017. године, модул Екологија и заштита животне средине, 2018. године завршила је мастер академске студије Екологија изаштита животне средине и одбранила рад „Специфична активност радионуклида ^{40}K , ^{137}Cs , ^{210}Pb и ефективна доза за уношење изабраног лековитог биља са подручја Копаоника, Сокобање и Златара“ на истом факултету 2018. године започиње докторске академске студије на истом факултету на модулу Биологија микроорганизама. Стекла је звање истраживача приправника у децембру 2018. године. Од јануара 2019. запослена је у Лабораторији за материјале (170) Института за нуклеарне науке „Винча“, Институт од националног значаја за Републику Србију, Универзитета у Београду. Звање истраживач сарадник је стекла у октобру 2021. године. Своја истраживања је такође представила на разним међународним конференцијама, укључујући EcoTer2019, 6CSCS-2022 и MEП 2023. Према бази података SCOPUS, њен број цитата без самоцитата је 15, а њен Хиршов индекс је 3. Тренутно се њена научна истраживања првенствено фокусирају на заштиту животне средине, укључујући припрему, карактеризацију и модификацију природних и еколошких материјала. Поред тога, њен рад се протеже и на процену садржаја тешких метала и радионуклида у лековитом биљу. До сада је објавила 5 радова у часописима међународног значаја (M20), 12 радова у зборницима међународних скупова (M30).

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Потписани-а Ирина А. Кандић

број индекса Б3026/2018

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

Синтеза, карактеризација и биолошка активност угљеничних материјала добијених од листова

урмине палме (*Phoenix dactylifera* L.) и плода црне јове (*Alnus glutinosa* L.)

- 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.

Потпис докторанда

У Београду, 18.12.2024.

Прилог 2.

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Ирина А. Кандић

Број индекса Б3026/2018

Студијски програм Биологија

Наслов рада Синтеза, карактеризација и биолошка активност угљеничних материјала добијених од листова урмине палме (*Phoenix dactylifera* L.) и плода црне јове (*Alnus glutinosa* L.)

Ментори проф. др Славиша Станковић
др Марија Стојменовић

Потписани/а Ирина А. Кандић

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.

Потпис докторанда

У Београду, 18.12.2024.

Прилог 3.

Изјава о коришћењу

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

Синтеза, карактеризација и биолошка активност угљеничних материјала добијених од листова урмине палме (*Phoenix dactylifera* L.) и плода црне јове (*Alnus glutinosa* L.)

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).

Потпис докторанда

У Београду, 18.12.2024.

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 прераде. 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 прераде. 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.