

»Mladi za napredek Maribora 2019«

36. srečanje

**ANTIMIKROBNI UČINKI AKTIVNEGA OGLJA IN NJEGOVA VLOGA V
MEDICINI IN KOZMETIKI**

Raziskovalno področje: ZDRAVSTVO

RAZISKOVALNA NALOGA

Avtor: REBEKA AMBROŽIČ, SOFIA KALININA

Mentor: TAMARA ŠIŠKO

Šola: II. GIMNAZIJA MARIBOR

Število točk: 141

Mesto: 5

Priznanje: srebrno

2019, Maribor

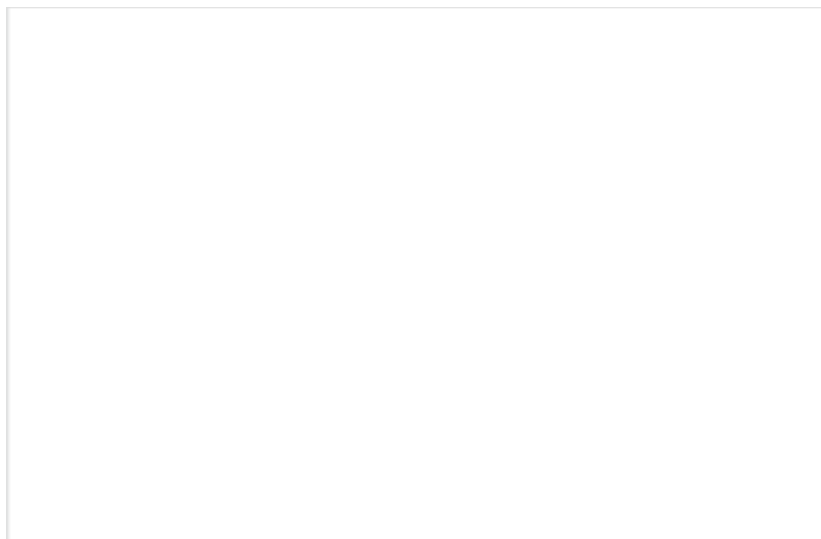
»Mladi za napredek Maribora 2019«

36. srečanje

**ANTIMIKROBNI UČINKI AKTIVNEGA OGLJA IN NJEGOVA VLOGA V
MEDICINI IN KOZMETIKI**

Raziskovalno področje: ZDRAVSTVO

RAZISKOVALNA NALOGA



2019, Maribor

KAZALO VSEBINE

Povzetek	8
Zahvala	9
1. UVOD	10
1. 1. Cilji raziskave	11
1. 2. Raziskovalno vprašanje	11
1. 3. Hipoteze in njihove razlage	11
1. 4. Metode dela	12
2. PREGLED LITERATURE	13
2. 1. Aktivno oglje	13
2. 2. Uporaba aktivnega oglja	24
2. 3. Zdravstvo in kozmetika	25
2. 4. Delovanje	28
2. 5. Pridobivanje aktivnega oglja	30
3. RAZISKAVA	33
3. 1. Seznam materialov	35
3. 2. Opisi mikroorganizmov	37
3. 3. Priprava gojišč	41
3. 4. Priprava prekonočnih kultur	42
3. 5. "Plate-counting" metoda ali štetje bakterijskih kultur	42
3. 6. Difuzijski antibiogram z diski	43
3. 7. Postopki dela	43
3. 8. Rezultati	44
4. RAZPRAVA	54
5. ZAKLJUČEK	57
6. DRUŽBENA ODGOVORNOST	59
7. VIRI IN LITERATURA	60
8. PRILOGE	65

KAZALO SLIK

Slika 1: Heksagonalni atom ogljika, b) Mikrokrystalinični ogljikov sloj, c) Struktura aktivnega oglja (Chaemsanit et al, 2017)	13
Slika 2: Skupna razporeditev prostornin por v tipičnem aktivnem oglju (O. Cooney, 1995)	17
Slika 3: Struktura por granuliranega aktivnega oglja na osnovi črnega premoga aktiviranega s paro (Chaemsanit et al, 2017)	18
Slika 4: Struktura por aktivnega oglja: adsorpcija v makro-, mikro- in mezopore. (Fares et al, 2018)	19
Slika 5: Molekularna struktura aktivnega oglja s površinskimi funkcionalnimi skupinami (Yahya et al, 2015)	21
Slika 6: Razporeditev skupne ploščine površine za tipično aktivno oglje (O. Cooney, 1995)	22
Slika 7: Adsorpcija* kislin in baz z aktivnim ogljem, pridobljenim iz sladkorja pri različnih aktivacijskih temperaturah (O. Cooney, 1995)	23
Slika 8: Adsorbiranje nečistoč pri aktivnem oglju in pri navadnih površinsko aktivnih snoveh (LabMuffin, 2018)	27
Slika 9: Možnost aktivnega oglja, da adsorbira molekule različnih velikosti (melasa, metilensko modrilo in fenol) v odvisnosti od skupnega časa aktivacije s paro oksidirajočih plinov (O. Cooney, 1995)	31
Slika 10: E. coli (Mundasad, 2014)	38
Slika 11: Bacillus Cereus (Wikipedia, 2019)	39
Slika 12: Struktura celične stene kvasovk (Seo, 2013)	40
Slika 13: S. cerevisiae pod DIC mikroskopom (Wikipedia, 2018).....	41
Slika 14: Rezultati pri bakteriji E. coli pri dodajanju 20 mg aktivnega oglja za čiščenje zob pri redčitvi s faktorjem 10^{-7} (Lastni vir)	47
Slika 15: Rezultati pri bakteriji E. coli pri dodajanju 6 mg medicinskega aktivnega oglja pri redčitvi s faktorjem 10^{-8} (Lastni vir)	47
Slika 16: : Difuzijski antibiogram pri bakteriji E. coli pri dodajanju čistilne vode (Lastni vir)	49
Slika 17: Difuzijski antibiogram ob dodani zobni pasti z aktivnim ogljem pri glivi S. cerevisiae (Lastni vir).....	51
Slika 18: Difuzijski antibiogram pri pozitivni kontroli pri vseh treh mikroorganizmih (Lastni vir)	53
Slika 19: Kolonije E. coli v LB-gojišču ob dodanem aktivnem oglju za čiščenje zob (20 mg) pri faktorju razredčitve 10^{-6} (Lastni vir)	65
Slika 20: Kolonije E. coli v LB-gojišču ob dodanem oglju za čiščenje zob (20 mg) pri faktorju razredčitve 10^{-7} (Lastni vir)	65
Slika 21: Kolonije E. coli v LB-gojišču ob dodanem aktivnem oglju za čiščenje zob (20 mg) pri faktorju razredčitve 10^{-8} (Lastni vir)	66
Slika 22: Kolonije E. coli v LB-gojišču ob dodanem aktivnem oglju za čiščenje zob (12,5 mg) pri faktorju razredčitve 10^{-6} (Lastni vir).....	66
Slika 23: Kolonije E. coli v LB- gojišču ob dodanem aktivnem oglju za čiščenje zob (12,5 mg) pri faktorju razredčitve 10^{-7} (Lastni vir).....	67
Slika 24: Kolonije E. coli v LB-gojišču ob dodanem aktivnem oglju za čiščenje zob (12,5 mg) pri faktorju razredčitve 10^{-8} (Lastni vir).....	67
Slika 25: Kolonije E. coli v LB-gojišču ob dodanem aktivnem oglju za čiščenje zob (6 mg) pri faktorju razredčitve 10^{-7} (Lastni vir)	68
Slika 26: Kolonije E. coli v LB-gojišču ob dodanem medicinskem aktivnem oglju (20 mg) pri faktorju razredčitve 10^{-6} (Lastni vir)	68
Slika 27: Kolonije E. coli v LB-gojišču ob dodanem medicinskem aktivnem oglju (20 mg) pri faktorju razredčitve 10^{-7} (Lastni vir)	69

Slika 28: Kolonije <i>E. coli</i> v LB-gojišču ob dodanem medicinskem aktivnem oglju (20 mg) pri faktorju razredčitve 10^{-8} (Lastni vir)	69
Slika 29: Kolonije <i>E. coli</i> v LB-gojišču ob dodanem medicinskem aktivnem oglju (12,5 mg) pri faktorju razredčitve 10^{-6} (Lastni vir)	70
Slika 30: Kolonije <i>E. coli</i> v LB-gojišču ob dodanem medicinskem aktivnem oglju (12,5 mg) pri faktorju razredčitve 10^{-7} (Lastni vir)	71
Slika 31: Kolonije <i>E. coli</i> v LB-gojišču ob dodanem medicinskem aktivnem oglju (12,5 mg) pri faktorju razredčitve 10^{-8} (Lastni vir)	71
Slika 32: Kolonije <i>E. coli</i> v LB-gojišču ob dodanem medicinskem aktivnem oglju (6 mg) pri faktorju razredčitve 10^{-6} (Lastni vir)	72
Slika 33: Kolonije <i>E. coli</i> v LB-gojišču ob dodanem medicinskem aktivnem oglju (6 mg) pri faktorju razredčitve 10^{-7} (Lastni vir)	73
Slika 34: Kolonije <i>E. coli</i> v LB-gojišču ob dodanem medicinskem aktivnem oglju (6 mg) pri faktorju razredčitve 10^{-8} (Lastni vir)	73
Slika 35: Priprava na drugi eksperiment z difuzijskimi antibiogrami (Lastni vir)	74
Slika 36: Priprava na drugi eksperiment z difuzijskimi antibiogrami - redčitev izdelkov (Lastni vir) ..	75
Slika 37: Priprava na drugi eksperiment z difuzijskimi antibiogrami - petrijevke (Lastni vir)	75
Slika 38: Difuzijski antibiogram - pozitivna kontrola z antibiotikom pri bakteriji <i>E. coli</i> v LB-gojišču (Lastni vir)	76
Slika 39: Difuzijski antibiogram z izdelki, ki ne vsebujejo aktivnega oglja pri bakteriji <i>E. coli</i> v LB-gojišču (ČV - čistilna voda, ZP - zobna pasta, GP - losjon za prhanje, GO - gel za umivanje obraza) (Lastni vir)	77
Slika 40: Difuzijski antibiogram z dodanim medicinskim aktivnim ogljem z bakterijo <i>E. coli</i> v LB-gojišču (Lastni vir)	77
Slika 41: Difuzijski antibiogram z dodano zobno pasto z aktivnim ogljem z bakterijo <i>E. coli</i> v LB-gojišču (Lastni vir)	78
Slika 42: Difuzijski antibiogram z dodanim gelom za umivanje obraza z aktivnim ogljem z bakterijo <i>E. coli</i> v LB-gojišču (Lastni vir)	78
Slika 43: Difuzijski antibiogram z dodanim losjonom za prhanje z aktivnim ogljem z bakterijo <i>E. coli</i> v LB-gojišču (Lastni vir)	79
Slika 44: Difuzijski antibiogram- pozitivna kontrola z antibiotikom pri bakteriji <i>B. cereus</i> v LB-gojišču (Lastni vir)	79
Slika 45: Difuzijski antibiogram z izdelki, ki ne vsebujejo aktivnega oglja pri bakteriji <i>B. cereus</i> v LB-gojišču (ČV - čistilna voda, ZP - zobna pasta, GP - losjon za prhanje, GO - gel za umivanje obraza) (Lastni vir)	80
Slika 46: Difuzijski antibiogram z dodanim gelom za umivanje obraza z aktivnim ogljem z bakterijo <i>B. cereus</i> v LB-gojišču (Lastni vir)	81
Slika 47: Difuzijski antibiogram z dodanim losjonom za prhanje z aktivnim ogljem z bakterijo <i>B. cereus</i> v LB-gojišču (Lastni vir)	81
Slika 48: Difuzijski antibiogram z dodano čistilno vodo z aktivnim ogljem z bakterijo <i>B. cereus</i> v LB-gojišču (Lastni vir)	82
Slika 49: Difuzijski antibiogram z dodanim medicinskim ogljem z bakterijo <i>B. cereus</i> v LB-gojišču (Lastni vir)	82
Slika 50: Difuzijski antibiogram z dodano zobno pasto z aktivnim ogljem z bakterijo <i>B. cereus</i> v LB-gojišču (Lastni vir)	83

Slika 51: Difuzijski antibiogram z dodano zobno pasto z aktivnim ogljem z bakterijo <i>B. cereus</i> v LB-gojišču (Lastni vir).....	83
Slika 52: Difuzijski antibiogram z izdelki, ki ne vsebujejo aktivnega oglja pri glivi <i>S. cerevisiae</i> v YEPD-gojišču (ČV - čistilna voda, ZP - zobna pasta, GP - losjon za prhanje, GO - gel za umivanje obraza) (Lastni vir)	84
Slika 53: Difuzijski antibiogram z dodanim gelom za umivanje obraza z aktivnim ogljem z glivo <i>S. cerevisiae</i> v YEPD-gojišču (Lastni vir).....	84
Slika 54: Difuzijski antibiogram z dodanim gelom za umivanje obraza y aktivnim ogljem z glivo <i>S. cerevisiae</i> v YEPD-gojišču (Lastni vir).....	85
Slika 55: Difuzijski antibiogram z dodano čistilno vodo z aktivnim ogljem z glivo <i>S. cerevisiae</i> v YEPD-gojišču (Lastni vir).....	85
Slika 56: Difuzijski antibiogram z dodano čistilno vodo z aktivnim ogljem z glivo <i>S. cerevisiae</i> v YEPD-gojišču (Lastni vir).....	86

KAZALO TABEL

Tabela 1: Razlaga pojmov uporabljenih v nalogi (ScienceStruck Staff, 2018)	7
Tabela 2: Uporaba aktivnega oglja v zgodovini (Sheila P., Danyetta Davis, 2017; Erickson, 2004) ..	14
Tabela 3: Klasifikacija in uporaba aktivnega oglja (Chaemsanit et al, 2017).....	15
Tabela 4: Snovi potrebne za pripravo LB-gojišča in njihove količine (Lastni vir)	41
Tabela 5: Snovi potrebne za priprave YEPD-gojišča in njihove količine (Lastni vir).....	42
Tabela 6: Število kolonij <i>E. coli</i> pri 1. delu praktičnega dela (Lastni vir).....	44
Tabela 7: Rezultati drugega eksperimenta pri bakteriji <i>E. coli</i> (Lastni vir).....	48
Tabela 8: Rezultati drugega eksperimenta pri bakteriji <i>B. Cereus</i> (Lastni vir)	49
Tabela 9: Rezultati drugega eksperimenta pri glivi <i>S. cerevisiae</i> (Lastni vir)	50
Tabela 10: Premeri inhibicijskih con pri dodajanju izdelkov brez dodanega aktivnega oglja (v mm) (Lastni vir)	52

KAZALO GRAFOV:

Graf 1: Število kolonij <i>E. coli</i> pri dodajanju aktivnega oglja za čiščenje zob (Lastni vir)	46
Graf 2: Število kolonij <i>E. coli</i> pri dodajanju medicinskega aktivnega oglja (Lastni vir)	46
Graf 3: Največje pridobljeno povprečje premerov inhibicijskih con pri bakteriji <i>E. Coli</i> (Lastni vir) .	48
Graf 4: Največje pridobljeno povprečje premerov inhibicijskih con pri bakteriji <i>B. Cereus</i> (Lastni vir)	50
Graf 5: Največje pridobljeno povprečje premerov inhibicijskih con pri glivi <i>S. Cerevisiae</i> (Lastni vir)	51
Graf 6: Primerjava povprečij premerov inhibicijskih con pri izdelkih pri vseh treh mikroorganizmih (Lastni vir)	52
Graf 7: Primerjava povprečij premerov inhibicijskih con (v mm) pri izdelkih z dodanim aktivnim ogljem in brez (Lastni vir)	53

KAZALO ORGANIGRAMOV:

Organigram 1: Izpis po stopnjah za prvi del praktičnega dela	33
--	----

UPORABLJENE OKRAJŠAVE:

- LB - gojišče (LB - Luria broth, Lennox broth, Lysogeny broth... (Sigma-Aldrich, 2019))
- YEPD - gojišče (Yeast Extract Peptone Dextrone, tudi YTD (Bd, 2019))

Tabela 1: Razlaga pojmov uporabljenih v nalogi (ScienceStruck Staff, 2018)

Pojem	Razlaga
Adsorpcija vs. absorpcija	Adsorpcija: vezava atomov, ionov ali molekul na površino trdnine, tekočine ali plina. Absorpcija: vsrkavanje atomov, ionov ali molekul v tekočino, trdnino ali plin. (ScienceStruck Staff, 2018)
Aktivno oglje ali aktivirano oglje	V Sloveniji je ustaljen izraz “aktivno oglje” in ne “aktivirano oglje”. Izraz “aktivirano oglje” je dobeseden prevod iz angleščine (activated carbon) in se je začel uporabljati po prihodu novih izdelkov z aktivnim ogljem na slovensko tržišče.

Povzetek

Že v preteklosti so aktivno oglje uporabljali pri raznih okužbah, saj adsorbira toksine iz želodca. S to raziskavo smo želeli preučiti vpliv njegove vsebnosti v medicinskih in kozmetičnih izdelkih na različne vrste mikroorganizmov, zato smo opravili eksperiment z metodo plate-counting, kjer smo v gojišča z bakterijama *E. coli* in *B. cereus* dodali tri koncentracije dveh vrst oglja v fiziološki raztopini. Naredili smo eksperiment z difuzijskim antibiogramom, kjer smo mikroorganizmom v gojiščih dodali diske z raztopino destilirane vode z različnimi izdelki z ogljem. Rezultati so potrdili antimikrobne sposobnosti aktivnega oglja, saj so okoli diskov nastale inhibicijske cone in da imajo različni izdelki različen antimikrobni učinek, ter da ima oglje za čiščenje zob večji antimikrobni učinek kot medicinsko oglje.

Glavna hipoteza o antimikrobnem učinku aktivnega oglja je potrjena. Mislimo, da raziskava pripomore k boljšemu razumevanju te lastnosti in spodbudi nadaljnje raziskave na to temo.

Ključne besede: aktivno oglje, adsorpcija, antimikrobni učinki, zdravstvo, kozmetika

Zahvala

Radi bi se zahvalili naši mentorici za napotke in nasvete pri delu, pomoč in še posebej za spodbude. Prav tako bi se radi zahvalili aktivu biologov, kemikov in fizikov za omogočeno delo v laboratoriju in za vse pripomočke, materiale in izdelke, ki smo jih potrebovali pri izvedbi naših eksperimentov.

1. UVOD

Aktivno oglje najdemo na seznamu pomembnih zdravil objavljenih na strani Svetovne zdravstvene organizacije (WHO). Eden izmed razlogov je ta, da lahko učinkovito adsorbira veliko snovi zaradi velike plosčine notranje površine in sistema različno velikih por. To so s pridom izkoriščali že v času Egipčanov. (Sheila P., Danyetta Davis, 2017) Njegova sposobnost adsorpcije je odvisna predvsem od razporeditve velikosti por (mikro-, mezo- in makropore). (Chaemsanit et al, 2017, Dubnin, 1989)

Zadnje čase vse pogosteje vidimo aktivno oglje na policah trgovin med sestavinami različnih kozmetičnih izdelkov: v sredstvih za beljenje zob, zobni pasti, različnih maskah za obraz, losjoni za prhanje, itd. Najdemo pa ga tudi v obliki tablet, ki jih uporabljajo v zdravstvene namene. Veliko ljudi ga pozna ravno po tem, da je zmožen odstraniti organske snovi iz tekočin in plinov z adsorpcijo, s čemer zdravijo marsikatero zastrupitev. (Sheila P., Danyetta Davis, 2017)

Poznamo več vrst aktivnega oglja, ki jih najdemo v različnih oblikah, ki imajo tudi različno uporabo. Nekatere so poleg vsrkavanja zmožne tudi ločitve tekočin in plinov in shranjevanja snovi. (Chaemsanit et al, 2017)

Raziskave potrjujejo, da ima aktivno oglje protimikrobni učinek, zaradi narave svoje površine in možnosti adsorpcije organskih snovi. (Karnib et al., 2013, Sheila P., Danyetta Davis, 2017)

Z aktivnim ogljem smo se velikokrat srečali v vsakdanjem življenju, kar nas je spodbudilo k raziskovanju te snovi. Zanimalo nas je namreč njegovo delovanje (predvsem njegova sposobnost adsorpcije in njegovi protimikrobni učinki). V naši raziskovalni nalogi bomo opisali lastnosti aktivnega oglja, njegovo pridobitev, izgled, strukturo, delovanje in še posebej njegove sposobnosti adsorpcije. Opisali bomo tudi njegovo uporabo v preteklosti in danes, predvsem v medicini in kozmetiki. V okviru raziskovalne naloge bomo opravili različne eksperimente, s katerimi bomo preverjali učinke aktivnega oglja.

1. 1. Cilji raziskave

Namen in cilj raziskave je primerjava vplivov različnih koncentracij aktivnega oglja in izdelkov, ki ga vsebujejo, na bakterije *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* in glive *Saccharomyces cerevisiae* v gojiščih, da bi tako ugotovili protimikrobno učinkovitost aktivnega oglja.

1. 2. Raziskovalno vprašanje

Zastavljeno je bilo naslednje raziskovalno vprašanje: *Ali aktivno oglje in izdelki, ki ga vsebujejo, imajo kakršnekoli protimikrobne učinke na bakterije E. coli, B. cereus in glive S. cerevisiae?*

1. 3. Hipoteze in njihove razlage

H1: Protimikrobno učinkovitost aktivnega oglja na bakterije *B. cereus*, *E. coli* in glive kvasovke (*S. cerevisiae*) bomo potrdili z izvedbo izbranih metod. (Karnib et al., 2013, Sheila P., Danyetta Davis, 2017)

Ne glede na elektrostatski odboj med negativno nabitimi mikroorganizmi in površino aktivnega oglja se mikroorganizmi pritrdijo na aktivno oglje preko močnih Van der Waalsovih sil. Elektrostatska privlačnost med negativno nabitimi površinami celic mikroorganizmov in pozitivno nabitimi delci aktivnega oglja je močna. (Karnib et al., 2013) Mislimo tudi, da lahko adsorbira hranila, ki so potrebna za preživetje mikroorganizmov, kar je razlog, da mikroorganizmi ne preživijo. Do adsorpcije pride, ker je aktivno oglje zaradi svoje hidrofobne strukture zmožno odstraniti organske snovi iz raznih tekočin in plinov na način adsorpcije njihovih organskih kompleksov. (Sheila P., Danyetta Davis, 2017)

H2: Največjo protimikrobno učinkovitost pri metodi štetja kultur bo pokazala največja koncentracija uporabljenega aktivnega oglja redčena z najmanjšim faktorjem redčitve. (Zhang et al., 2004)

Z dokazovanjem druge hipoteze hočemo izvedeti, ali je protimikrobni učinek aktivnega oglja premo sorazmeren s količino dodanega oglja. Pri različnih raziskavah, ki so proučevale učinek aktivnega oglja z dodatki, se je to potrdilo. To je bilo dokazano v raziskavi protimikrobnih učinkov aerogelov iz aktivnega oglja in srebra (Zhang et al., 2004), kjer je večja količina aerogela dosegla večji protimikrobni učinek. Na podlagi te raziskave smo sklepali, da se bodo podobni rezultati pojavili tudi pri našem poskusu.

H3: Medicinsko oglje je v primerjavi s kozmetičnim ogljem bolj adsorptivno, zato je njegov protimikrobni učinek na vse tri mikrobe večji. (Chaemsanit et al., 2017)

Mislimo, da ima medicinsko aktivno oglje večji protimikrobni učinek kot aktivno oglje za čiščenje zob zaradi večje adsorptivnosti. Do tega lahko pride zaradi večje notranje površine medicinskega oglja in večjega sistema različno velikih por, ki povzročijo fizično in kemijsko

adsorpcijo (pri fizični nastajajo Van der Waalsove sile med adsorbentom in adsorbatom, pri kemični pa pride do prehajanja elektronov med adsorbirano snovjo in aktivnim ogljem). Razporeditev velikosti por aktivnega oglja je neposredno povezana z adsorpcijsko površino aktivnega oglja. Čim večja je poroznost, tem večja bo površina aktivnega oglja in s tem tudi večja adsorpcijska kapaciteta. (Chaemsanit et al, 2017)

H4: Kozmetični in zdravstveni izdelki, ki vsebujejo aktivno oglje imajo različne antimikrobne učinke. (Lekarnar, 2014)

Mislimo, da imajo različni kozmetični in zdravstveni izdelki različne sestavine, ki lahko zavirajo ali spodbujajo rast mikroorganizmov v različni meri. Medicinsko aktivno oglje vsebuje natrijev karmelozat, laktoza monohidrat, magnezijev stearat in saharozo, kar lahko predstavlja ugodno okolje za mikroorganizme in zato lahko pripelje do slabšega antimikrobnega učinka v primerjavi s kozmetičnimi izdelki, ki teh štirih dodatkov nimajo. (Lekarnar, 2014)

1. 4. Metode dela

Raziskavo bomo izvedli s pomočjo dveh metod, in sicer: "plate-counting" metodo in metodo difuzijskih antibiogramov.

Pri prvi metodi bomo pripravili LB gojišča za prekonočne kulture *E. coli*, nanje pa s spatulo drigalski razmazali fiziološko raztopino z bakterijami in določeno koncentracijo določenega izdelka aktivnega oglja. Nato bomo po enodnevnem inkubiranju prešteli nastale kolonije bakterij izpostavljene različnim koncentracijam prisotnega aktivnega oglja z različnimi faktorji redčenja.

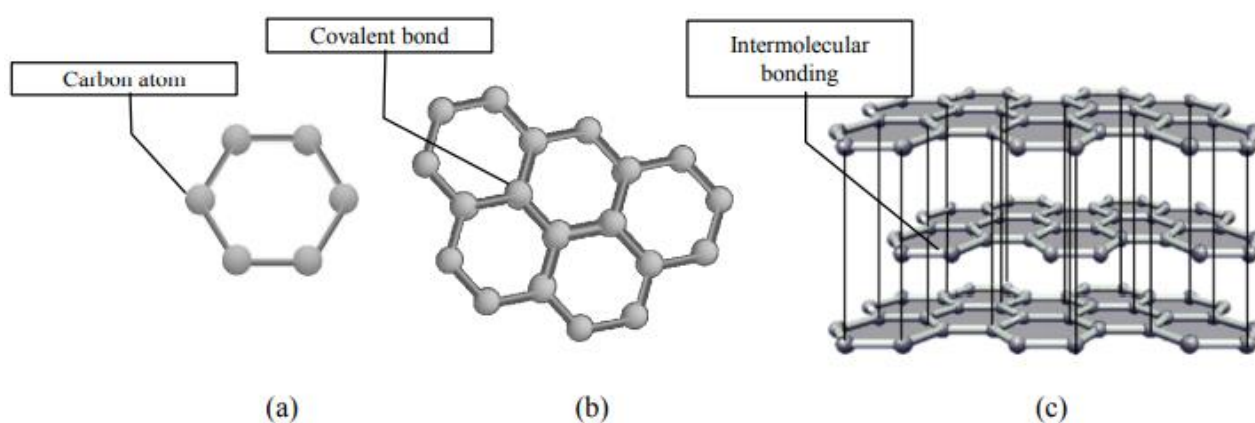
Kot drugo metodo bomo uporabili difuzijski antibiogram, ki ga bomo opravili v skladu z zmožnostmi šolskega laboratorija.

Pri tem bomo pripravili LB in YEPD gojišče, na katera bomo dodali mikroorganizme *E. coli*, *B. cereus* in *S. cerevisiae* ter v narejene luknje/diske v gojišču dodali, v destilirani vodi razredčene izdelke in po inkubaciji (enodnevni pri *E. coli* in *B. cereus*, dvodnevni pri *S. cerevisiae*) izmerili inhibicijske cone z digitalnim kaliperjem.

2. PREGLED LITERATURE

2. 1. Aktivno oglje

Aktivno oglje je porozna snov, obdana z ogljikovimi atomi, pridobljena iz različnih ogljikovih snovi za različne namene. Je črn, nestrupen, trd, amorfen mikrokristalni adsorbent, opredeljen z visoko stopnjo poroznosti, možnostjo adsorpcije in veliko površino. Sestavljeno je iz heksagonalnih ogljikovih atomov (Slika 1a), ki so kovalentno vezani med seboj v mikrokristalinične ogljikove plasti (Slika 1b), ki omogočajo površini nepolarno oz. hidrofobno lastnost. Molekularne vezi med mikrokristaliničnimi plasti aktivnega oglja tvorijo v strukturi posamezne prostore med sloji, ki se razvijejo v poroznost (Slika 1c). Vezi med funkcionalnimi skupinami na robu ogljikove plasti, kot so kisik in vodik, vplivajo na površinske lastnosti, velikost por ter ustvarijo manj urejene plasti. (Chaemsanit et al, 2017) Količina in velikost por vpliva na površino, kar tudi vpliva na adsorpcijo aktivnega oglja. Aktivno oglje lahko najdemo na seznamu pomembnih zdravil, ki ga je objavila Svetovna zdravstvena organizacija (WHO). (Sheila P., Danyetta Davis, 2017)



Slika 1: Heksagonalni atom ogljika, b) Mikrokristalinični ogljikov sloj, c) Struktura aktivnega oglja (Chaemsanit et al, 2017)

Aktivno oglje je najstarejši adsorbent v človeški zgodovini, ki je doživel napredek vse od zoglenega lesa v času starih Egipčanov pred več kot 5700 leti, do vlaken aktivnega oglja danes. Zaradi svoje hidrofobne strukture je zmožno odstraniti organske snovi iz raznih tekočin in plinov na način adsorpcije njihovih organskih kompleksov. Uporabljali so ga tudi zaradi njegovih zdravilnih značilnostih, ki so zapisane v spodnji tabeli. (Sheila P., Danyetta Davis, 2017)

Tabela 2: Uporaba aktivnega oglja v zgodovini (Sheila P., Danyetta Davis, 2017; Erickson, 2004)

Leto	Uporaba aktivnega oglja
3700 pred našim štetjem	Egipčani in Sumeri so uporabljali zogljeni les v proizvodnji bron iz cinka, kositrne rude in bakra.
1500 pred našim štetjem	Egipčanski papirus je pričeval o zmožnosti oglja, da adsorbira pare z vonjem iz gnojnih ran v vnetem želodcu in črevesju.
400 pred našim štetjem	Hipokrat je uporabljal oglje za zdravljenje bolezni kot so epilepsija, kloroza ¹ in antraksa.
157 našega štetja	Klaudij Galen, je napisal 500 zdravstvenih razprav, ki so opisovale uporabo živalskega in rastlinskega oglja za širok spekter bolezni.
okoli 1700	Po obdobju zatiranja znanosti, se je uporaba aktivnega oglja znova pojavila okoli 17. stoletja.
1785	Lowitz testira značilnosti adsorpcije oglja za uporabo v zdravstvu in učinkovitost aktivnega oglja v razbarvanju izbranih vodnih raztopin. Aktivno oglje kasneje uporabljajo za razbarvanje surovega sladkorjevega sirupa.
1854	Stenhouse poroča o uspešni uporabi oglenega filtra pri odstranjevanju par in plinov odtočnih kanalov v Londonu.
1914- 1918	Aktivno oglje narejeno iz kokosovih lupin je bilo uporabljeno v plinskih maskah ameriških vojakov za adsorpcijo strupenih plinov.

¹ Bolezen rastlin, ki posega v tvorbo klorofila. (Glasset, B. et al. 2018)

začetek 20. stoletja	Ostrejko dokaže, da super gretje aktivnega oglja s paro poveča njegovo adsorpcijsko kapaciteto.
1960	Aktivno oglje znova uporabljajo klinično.
zadnja 2 desetletja	Razvoj multidozne terapije, hemoperfuzije ² aktivnega oglja, novih superaktivnih izdelkov.

2. 1. 1. Lastnosti

Aktivno oglje vsebuje različne anorganske snovi, ki izvirajo iz snovi, ki se uporablja kot osnova za aktivno oglje, ali drugih sestavin dodanih pri proizvodnji (ogljik, vodik, žveplo, dušik).

Ostanek prahu nastane po tem, ko vzorec oglja nameščen na porcelanasti talilni lonec segret v peči pri 600 ° C izgori v celoti. 1-5% teže prvotnega oglja je običajno prahu. Oglje v prahu lahko vsebuje anorganske snovi, kot so železo, kalcij, natrij, baker, sulfati, kloridi in fosfati. USP³ aktivno oglje spere s kislino (običajno s HCl) pri višjih temperaturah, da odstrani večino anorganskih primesi.

(O. Cooney, 1995)

Adsorpcija snovi je povezana s strukturo por aktivnega oglja, koncentracije funkcionalne skupine oglja, adsorpcijske strukture in adsorpcijskega mehanizma. Objavljeno je veliko raziskav, v katerih so znanstveniki razvili različne oblike aktivnega oglja s pomočjo različnih snovi in metod za specifične namene uporabe, kot je predstavljeno v spodnji tabeli. Aktivna oglja so ločili po njihovih fizikalnih lastnostih. (Chaemsanit et al, 2017)

Tabela 3: Klasifikacija in uporaba aktivnega oglja (Chaemsanit et al, 2017)

Vrste aktivnega oglja	Oblika/velikost delcev	Uporaba
Aktivno oglje v prahu (drobni prah)	Zdrobljeno oglje/manj kot 0.18 mm	Vsrkavanje tekočin in plinov
Granulirano aktivno oglje (grobi delci)	Nepravilna oblika/0.6 - 4.0 mm	Vsrkavanje, ločitev tekočin in plinov

² Eden izmed izven telesnih načinov odstranjevanja strupov. (Szim, 2015)

³ US Pharmacopoeia – Farmakopeja (Zaloga zdravil v lekarni) Združenih držav Amerike. (USP, 2019)

Stisnjeno aktivno oglje (valjasti delci)	Valjasta oblika/večje kot 4.0 mm	Shramba plinov, kontrola izpustov odpadne vode
Vlkninsko aktivno oglje	Fleksibilnost v izdelavi/tesnejša razporeditev velikosti por	Odstranitev nestabilne organske komponente
Blago iz aktivnega oglja	Fleksibilnost v izdelavi/stalna poroznost	Odstranitev nestabilne organske komponente

2. 1. 2. Gostota

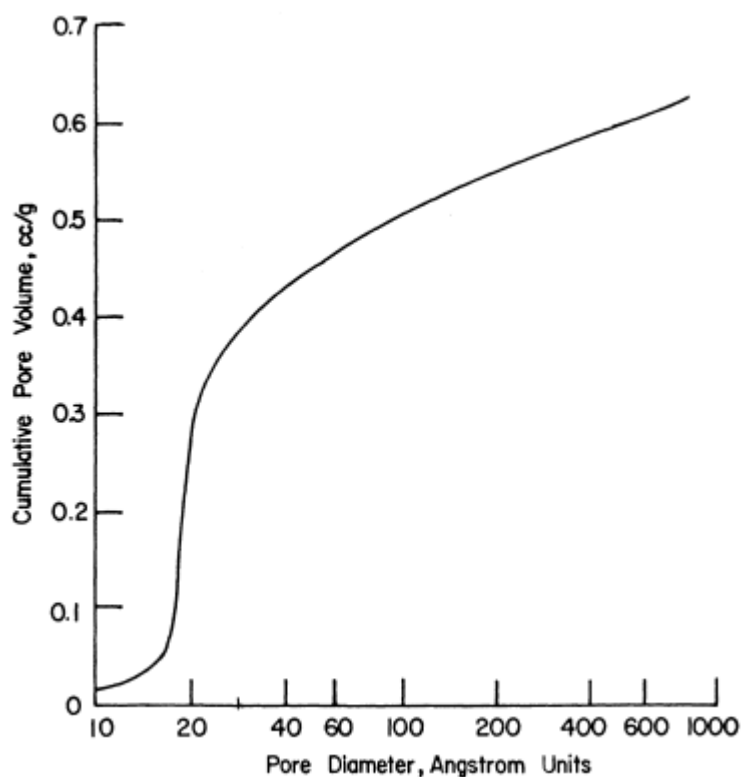
Obstajajo različne gostote, na katere se lahko nanašamo, ko govorimo o določenih snoveh. Masna gostota je masa na enoto prostornine. Prostornina, na kateri je ta gostota zasnovana, vključuje špranje med delci in prostornino samih delcev. Ponavadi je od 0.3 - 0.5 g/mL. Gostota delcev je gostota enega delca. Prostornina, na kateri je ta gostota zasnovana, je sestavljena iz prostornine por in trde ogljikove snovi. Ponavadi znaša 0.7 - 1.0 g/mL. Realna gostota je gostota samo trde ogljikove snovi. Znaša približno 2.2 g/mL. (O. Cooney, 1995)

2. 1. 3. Prostornina por

Prostornina por predstavlja prostornino por v delcu oglja na enoto teže oglja. Ponavadi je okrog 1.0 - 1.8 mL/g. (O. Cooney, 1995)

2. 1. 4. Razporeditev velikosti por aktivnega oglja

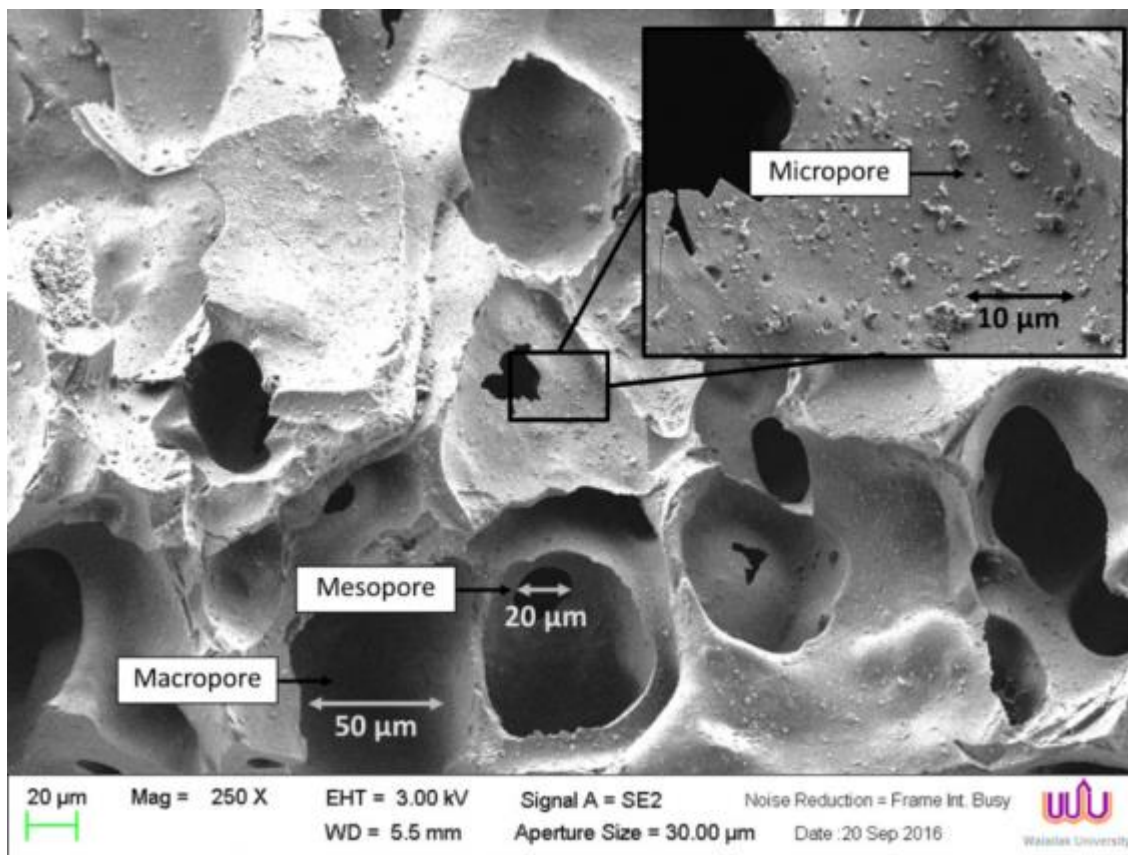
Aktivno oglje vsebuje kompleksen splet por različnih oblik in velikosti. Pore imajo nepravilno geometrijo, so razvejane in povezane med seboj s potmi ali prehodi, ki so lahko omejeni ali neomejeni. S pomočjo dobro razvitih metod je možno določiti relativno število por. Ta informacija je ponavadi izražena kot skupna prostornina por na premer pore. Slika predstavlja tipično razporeditev. Najbolj strm del krivulje predstavlja razpon premerov por, s katerim je povezana večina prostornine por. (O. Cooney, 1995)



Slika 2: Skupna razporeditev prostornin por v tipičnem aktivnem oglju (O. Cooney, 1995)

Razporeditev velikosti por aktivnega oglja je najpomembnejši faktor, ki mora biti določen pred uporabo aktivnega oglja in procesom adsorpcije. Razporeditev velikosti por aktivnega oglja je neposredno povezana z adsorpcijsko površino aktivnega oglja. Čim večja je poroznost, tem večja bo površina aktivnega oglja. Glede na klasifikacijo IUPAC⁴ so lahko strukture por aktivnega oglja razvrščene v 3 tipe: makropore, z velikostjo por več kot 50 nm; mezopore, 2 - 50 nm in mikropore, manjše od 2 nm.

⁴ International Union of Pure and Applied Chemistry- Mednarodna zveza za čisto in uporabno kemijo (IUPAC, 2019)



Slika 3: Struktura por granuliranega aktivnega oglja na osnovi črnega premoga aktiviranega s paro. (Chaemsanit et al, 2017)

Vsaka vrsta aktivnega oglja vsebuje različno razporeditev velikosti por glede na naravno strukturo izhodne snovi in proces aktivacije. Vrsta biomase uporabljene za proizvodnjo aktivnega oglja ima pomembno vlogo pri razporeditvi velikosti por in ploščini površine aktivnega oglja. Aktivno oglje iz biomase bogate s celulozo ima veliko površino v primerjavi z ogljem iz ksilana⁵ in lignita.

Aktivno oglje v prahu (premer delcev manjši od 0,2 mm) vsebuje več mikropor in nima makropor, medtem ko granulirano aktivno oglje vsebuje mešanico vseh velikosti por v različnih razmerjih. Izbirna adsorpcija adsorbirane molekule na notranji porozni strukturi aktivnega oglja je nadzorovana z velikostjo por. Adsorbirane molekule ne morejo priti skozi določene velikost por preden poteče proces adsorpcije. Najbolj učinkovita adsorpcija poteka pri molekulah, ki so velike okoli 2 - 6 angstromov⁶ (lahko se adsorbirajo v mezopore), in tistih, ki so zmožne priti skozi mikropore. Bakterijske celice, ki so večje od 104 angstroma, ne morejo priti skozi mezopore in se zataknejo na steni vhoda v poro.

⁵ Glavna hemicelulozna sestavina trdega lesa in se nahaja v 30% celičnih sten lesa. (Awano in Fujita, 2001)

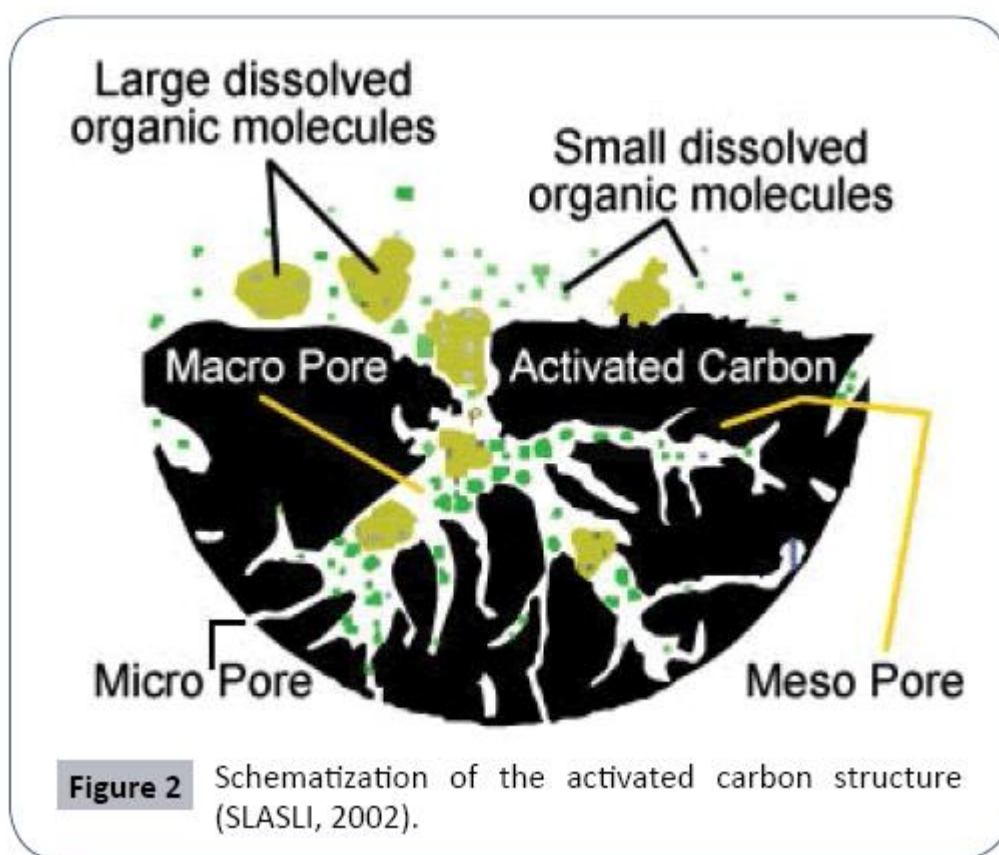
⁶ Enota za merjenje dolžine. Enaka je 0.0000000001 meter (10^{-10} m). (Anne Marie Helmetine, 2018)

Makropore so bolj ustrezne pri adsorpciji tekočin, mikropore pa pri adsorpciji plinov.

Adsorpcija v mikropore je ponavadi proces polnjenja mikropor, pri katerem je zmožnost adsorpcije nadzorovana s prostornino por. Ta proces lahko poteče zaradi disperzijskih sil med atomi aktivnega oglja in adsorbiranih snovi ter disperzijskih sil med atomi adsorbirane snovi. Posledica primerljive velikosti por in velikosti adsorbiranih molekul je proces polnjenja dostopnega prostora por (področja adsorpcijskih sil).

Pri mezoporah je proces adsorpcije osnovan na privlačnih silah med molekulo in površino pore in polnjenju por. Pri makroporah poteka adsorpcija poteka samo na površini stene pore (zaradi velike prostornine por), kar je zanemarljivo, saj je adsorpcijska površina zelo majhna v primerjavi z mezoporo.

Makropora deluje kot kanal za molekule pri transportu v mezopore in mikropore. Torej je lahko uporaba napačne velikosti por rezultat slabe adsorpcijske kapacitete aktivnega oglja. (Chaemsanit et al, 2017, Dubnin, 1989)



Slika 4: Struktura por aktivnega oglja: adsorpcija v makro-, mikro- in mezopore. (Fares et al, 2018)

2. 1. 5. Struktura aktivnega oglja

Adsorpcija molekul v aktivno oglje poteka na aktivnih mestih površine por aktivnega oglja. Kemični učinek površine aktivnega oglja na adsorpcijsko kapaciteto je zelo prepoznaven. Funkcionalne skupine aktivnega oglja lahko izvirajo iz izhodne snovi. Z veliko poskusi so poskušali modificirati originalno strukturo površine aktivnega oglja, ki je vsebovala npr. samo ogljikove atome in je imela nepolarne oz. hidrofobne značilnosti. Poskušali so tudi z uporabo različnih vrst kemijskih spojin, kot so cinkov klorid (ZnCl_2), fosforjeva kislina (H_3PO_4), natrijev hidroksid (NaOH), kalijev hidroksid (KOH) in amoniak (NH_3) ter fizikalnih procesov, da bi izboljšali možnost adsorpcije organskih ali anorganskih spojin.

Aktivno oglje povzroča dve vrsti adsorpcije: fizično adsorpcijo in kemično adsorpcijo. Adsorpcija aktivnega oglja je v glavnem fizična adsorpcija, ki jo povzročajo šibke medmolekulske sile, kot so vodikove vezi, van der Waalsove sile, hidrofobne vezi oz. dipolno-dipolne interakcije, pri katerih je adsorpcijska energija manjša od 40 kJ/mol. Ta interakcija se lahko zgodi hitro pri nizkih temperaturah in ravnovesje je lahko porušeno pri visokih temperaturah ($> 200^\circ \text{C}$). Pri kemijski adsorpciji je potrebna neka kemijska reakcija (ionska - sprejemanje/oddajanje elektronov ali atomska - tvorjenje skupnih elektronskih parov). (Biteks, 2019)

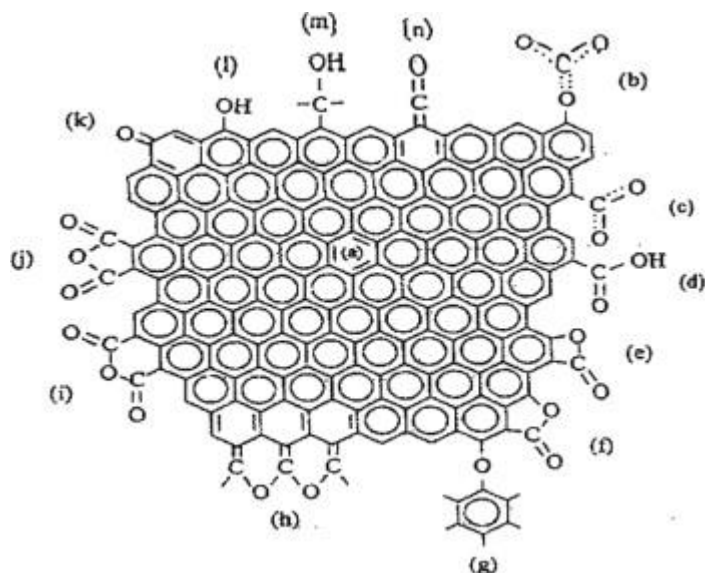
Prisotnost funkcionalnih skupin na površini aktivnega oglja vpliva na kemijsko adsorpcijo. Kemična adsorpcija se zgodi s prenosom elektrona ali atoma iz adsorbirane molekule na površino funkcionalne skupine aktivnega oglja. To po navadi poteka pri visokih temperaturah in je v glavnem ireverzibilna adsorpcija. Proces kemijske aktivacije z 10% žveplovo kislino lahko izboljša zmožnost adsorpcije organskih komponent, kot so benzen in toluen, za 18 oz. 47%. Zmožnost adsorpcije perklorata v pitni vodi se lahko izboljša s pomočjo kemijske aktivacije aktivnega oglja z raztopino organskih kislin, kot so fosforjeva kislina in klorovodikova kislina, ki povečujeta adsorpcijsko kapaciteto aktivnega oglja od 3.5 mg g⁻¹ do 9.7 - 9.8 mg g⁻¹. Uporaba kemične aktivacije ne poveča samo poroznost površine aktivnega oglja, ampak tudi povzroči prisotnost hetero atomov na površinskih funkcionalnih skupinah na robu mikrokristaliničnih ogljikovih plasti, kar lahko poveča interakcijo z adsorbiranimi molekulami.

Prevladujejo funkcionalne skupine, ki vsebujejo kisik in vodik, kar lahko vpliva na kislinske, bazične ali nevtralne značilnosti površine.

Kislinsko aktivno oglje, ki je oblikovano z večanjem ogljiko-kisikovih skupin, je polarno in hidrofilno. Bazično aktivno oglje, ki vsebuje ogljiko-kisikove in dušikove skupine, je bolj hidrofobno kot kislo aktivno oglje.

Aktivno oglje s skupinami, ki vsebujejo kisik, je hidrofilno in ima večjo kapaciteto menjavanja ionov zaradi svoje ogljikovo-kisikove strukture, kar pomeni, da ima aktivno oglje pomembno

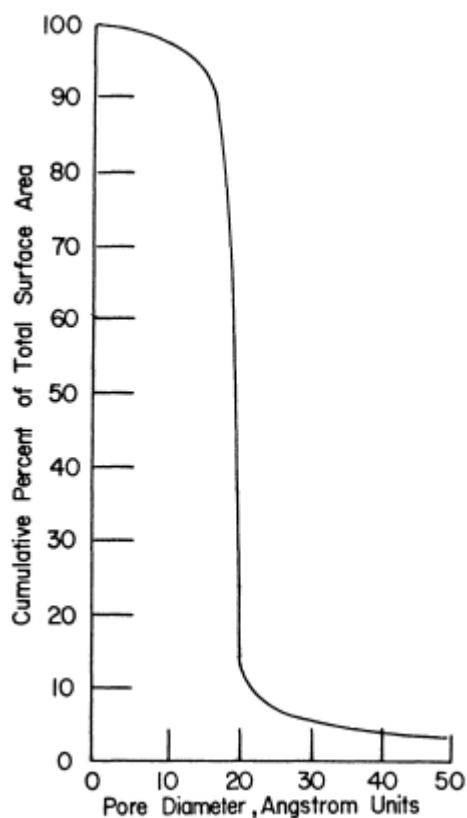
vlogo pri adsorpciji kovin, kot je npr. adsorpcija kadmijevih(II) ionov. Navadno aktivno oglje bolje adsorbira hidrofobne organske snovi. Če dodamo NH_3 aktivnemu oglju iz kokosovih lupin, bo oglje boljše adsorbiralo benzen in toluen. Če modificiramo površino aktivnega oglja z dušikovimi funkcionalnimi skupinami, kot so aminske, imidske in pridilne skupine, bo oglje boljše adsorbiralo CO_2 . (Chaemsanit et al, 2017, Hughmanick Berger in S. Bhowan, 2011)



Slika 5: Molekularna struktura aktivnega oglja s površinskimi funkcionalnimi skupinami (Yahya et al, 2015)

2. 1. 6. Površina aktivnega oglja

Spodnja slika prikazuje odnos med velikostmi por in skupno ploščino površine aktivnega oglja. Skupna ploščina je ploščina površine razporejena na vse pore danega premera. Večina ploščine notranje površine je povezana z manjšimi porami. (O. Cooney, 1995)



Slika 6: Razporeditev skupne ploščine površine za tipično aktivno oglje (O. Cooney, 1995)

Pomembno je poudariti, da tudi, če je aktivno oglje dobro zdrobljeno, je ploščina zunanje površine večja kot ploščina notranje. (O. Cooney, 1995)

Starejši pripravki oglja imajo vezavno površino približno 1000 m²/g, novejši pa še večjo (2500 do 3500 m²/g). (Možina in Grenc, 2009) Površino lahko povečamo z vključevanjem primernih funkcionalnih skupin (npr. ligandov⁷, ki vsebujejo kisik). (Świderska-Dąbrowska et al, 2018)

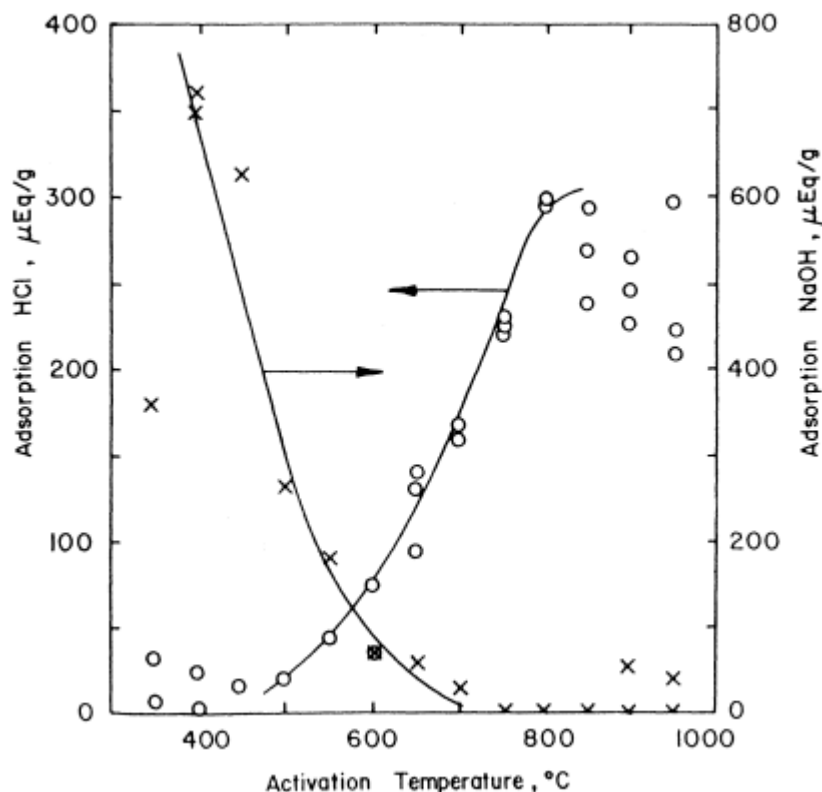
2.1.7. Narava površine

Aktivno oglje lahko razdelimo v dve vrsti glede na naravo reakcij delne oksidacije, ki poteče med aktivacijo oglja. H-vrsta je pridobljena pri normalnih aktivacijskih pogojih, pri katerih se uporablja visoka temperatura (>750 °C) in je vključeno izpostavljanje paru CO₂ in nato sobni temperaturi. H-vrsta je najpogostejša v proizvodnji. Takšno aktivno oglje je hidrofbno in dobi pozitivni naboj, ko je nameščeno v vodo, z adsorpcijo H⁺ ionov naredi vodo bazično. Frumkin je odstranil vse površinske okside iz aktivnega oglja H-vrste z izpostavljanjem visokemu vakuumu pri 1000 °C in je odkril, da je adsorpcija kislin s pomočjo tega oglja odvisna od količine kisika, kateremu je bilo oglje izpostavljeno.

⁷ Snovi, ki prispevajo ne vezne elektronske pare s katero tvorijo koordinativne vezi (Eučbeniki, 2016)

L-vrsta aktivnega oglja je lahko pridobljena pri aktivaciji pri nizki temperaturi (200 - 400 °C) v zraku. Takšno aktivno oglje je hidrofilno in v vodi dobi negativen naboj, z adsorpcijo* OH⁻ ionov naredi vodo kislo.

Spodnja slika predstavlja zmožnost adsorpcije HCl in NaOH s pomočjo aktivnega oglja pridobljenega iz sladkorja. Slika jasno ponazarja, da oglje, ki je bilo aktivirano pri nižji temperaturi (L-vrsta), adsorbira hidroksilne ione, in da oglje, ki je bilo aktivirano pri višji temperaturi (H-vrsta), adsorbira hidrogene ione. (O. Cooney, 1995)



Slika 7: Adsorpcija* kislin in baz z aktivnim ogljem, pridobljenim iz sladkorja pri različnih aktivacijskih temperaturah (O. Cooney, 1995)

Razlike med L-vrsto in H-vrsto lahko utemeljimo z oksidacijskimi procesi, ki se pojavljajo pri aktivaciji kot rezultat različnih površinskih funkcionalnih skupin (ogljikovih ali kisikovih). V H-vrsti oglja prevladujejo bazični površinski oksidi, medtem ko pri L-vrsti kislinški površinski oksidi. Pri L-vrsti se oblikujejo karboksilne, fenolske, hidroksilne, karbonilne, karboksilnokislinske, anhidridne, laktonske in ciklično peroksidne skupine. Pri H-vrsti pa prevladujejo laktoni, kinoni, hidroksili in karboksilati. (O. Cooney, 1995)

Če zanemarimo kovinske nečistoče lahko rečemo, da se pojavljata dve vrsti površin pri ogljiku: ploskovne površine ogljikovih mikrokristalov in robovi ogljikovih ploskev, ki sestavljajo stranske ploskve mikrokristalov. Ploskovne površine so dokaj enotne in vsebujejo malo funkcionalnih skupin, saj so elektroni ogljikovih atomov kovalentno vezani na sosednji atomi.

Vendar stranske ploskve mikrokristalov niso enotne in vsebujejo različne funkcionalne skupine. Adsorpcija organskih komponent je močno odvisna od narave in količine površinskih oksidnih skupin. Na primer fenol oblikuje močan kompleksen mehanizem “donor-akceptor”, ki vključuje karbonilne okside na površini oglja, ki delujejo kot donor elektronov in aromatični prstan fenola, ki deluje kot akceptor. (O. Cooney, 1995)

2. 2. Uporaba aktivnega oglja

Prvo oglje (tehnično znano kot porozno oglje) je bilo pridobljeno iz lesa in uporabljeno kot gorivo. Čez nekaj stoletij so Egipčani ugotovili antimikrobne in adsorpcijske učinke aktivnega oglja. V zadnjem času je bilo aktivno oglje izboljšano in je postalo zelo znan adsorbent. Več kot milijon ton aktivnega oglja se proizvede in porabi vsako leto. Zaradi sposobnosti učinkovitega odstranjevanja širokega spektra snovi (organskih kot tudi anorganskih) od plinov do tekočin in madežev s pomočjo adsorpcije, se uporablja na različnih področjih, kot so kemijski inženiring, farmacija, okolje, čiščenje ter industrija živil in pijač. Veliko raziskovalcev trdi, da je lahko uporabljeno za adsorpcijo barv, organskih sestavin in različnih onesnaževalcev iz okolja. (Chaemsanit et al, 2017)

Dandanes aktivno oglje dodajajo v različne vrste živilskih izdelkov, kot so pekovski izdelki, sladoledi, pijače. Uporabljajo ga tudi kot živilski dodatek za izboljšanje teksture, barve in zdravih lastnosti živil. Poleg tega ga uporabljajo za odstranjevanje kofeina pri proizvodnji brezkofeinske kave. Zmožno je izločiti rjavo sestavino iz sojine omake. (Chaemsanit et al, 2017)

Aktivno oglje se uporablja za čiščenje onesnažene vode. Za odstranjevanje nečistoč iz vode se uporabljata dva različna procesa adsorpcije. Prvi se izvaja v filtracijski koloni, napolnjeni z aktivnim ogljem v granularni obliki GAC (ang. Granular Activated Carbon). Uporablja se za zelo onesnažene odpadne vode ter za razbarvanje odpadnih voda. Ko je aktivno oglje nasičeno, ga je treba zamenjati. Nasičeno aktivno oglje se lahko zaradi visoke cene regenerira. Ta proces se uporablja v primerih, ko je poraba oglja majhna. Oglje v obliki prahu se navadno dozira v odpadno vodo z drugimi kemikalijami, kot so npr. koagulant, flokulanti. Na ta način iz vode odstranimo tudi nečistoče, ki jih s flokulacijo in koagulacijo ne moremo. Cena aktivnega oglja v prašni obliki predstavlja le 30 - 50 % cene oglja v granularni obliki. Aktivnega oglja zato ne regeneriramo, ampak ga iz vode izločimo ter nato predelujemo skupaj s preostalimi goščami in blatom. (Frim, 2006)

Med drugim tudi odstrani hišne vonjave in blaži ugrize ter pike žuželk. (Sheila P., Danyetta Davis, 2017)

2. 3. Zdravstvo in kozmetika

2. 3. 1. Zdravstvo

Uporaba aktivnega oglja kot zdravila za razstrupitev se je pojavilo leta 1831, ko je Tovery zaužil smrtno dozo strihnina mešanega z ogljem in ni utrpel niti lažjih posledic. Zdravniki so to mednarodno sprejeli in sprejeli aktivno oglje kot univerzalno antidozo proti strupom. Običajno to zdravilo ni učinkovito pri zastrupitvi s korozijskimi sestavinami, kot so alkali in močne kisline, železo, borova kislina, litij, naftni izdelki (npr. čistilna tekočina, kerozin, bencin, razredčilo za barve) in alkoholom. (MAYO Clinic, 2019)

Aktivno oglje je prvo priporočeno sredstvo, da ga zaužijemo v sedmih urah po zaužitju toksina. (J Alkhatib in Al Zailaey, 2015)

Zmožno je pospešiti izločanje strupa, ki ga je telo že absorbiralo skupaj z žolčem, zaradi česa lahko pride do prekinitve enterohepatičnega obtoka. Tako imenujemo kroženje snovi, ki se izločajo z žolčem (najprej se absorbirajo v črevesju, prispejo s portalnim obtokom v jetra ter se nazadnje izločijo). Aktivno oglje ob tem nase veže strup, ki se po adsorpciji izloča skozi prebavila. Aktivno oglje zaužijemo nekaj ur po tem, ko zaužijemo potencialno prevelik odmerek strupa. Pri tem uporabljamo aktivno oglje v obliki vodne suspenzije, če pa je zastrupljenec nezavesten, mu dovajamo oglje po nazogastrični sondi. Razmerje med ogljem in vodo bi naj bilo vsaj 1:4, torej mora aktivnega oglja v telesu biti 10-krat več od zaužitega strupa. Za odraslega je priporočen začetni odmerek oglja 1 g na 1 kg telesne teže, ki ne sme vsebovati več kot 100 ml suspenzije, saj bi obratno povzročilo bruhanje in aspiracijo želodčne vsebine. Pri resnejših zastrupitvah je v prvih urah po zastrupitvi priporočljivo neprekinjeno dajanje aktivnega oglja. 10 - 40 g oglja lahko dajemo vsakih 4 - 6 ur dokler se klinično stanje ne izboljša oz. dokler se koncentracija strupa v plazmi ne zniža pod toksično raven. Z nenehnim dodajanjem aktivnega oglja povzročimo izločanje strupa iz organizma v krajšem času, učinkovito odstranimo ostanke zdravil s podaljšanim sproščanjem, znižamo koncentracijo strupa v krvi. Povzročimo tudi prekinitev ali vsaj zmanjšanje enterohepatičnega obtoka strupa oz. toksinov, preprečimo nasičenost aktivnega oglja po zaužitju večjih količin strupa in povzročimo zadostno adsorpcijo strupov (npr. salicilati, paracetamol, diklordifeniltrikloretan (DDT), malation, karbamazetin, digitoksin, glutetimid, fenobarbital, fenilbutazon, teofilin, itd.).(J Alkhatib in Al Zailaey, 2015).

Aktivno oglje se uporablja pri zdravljenju kroničnih bolezni ledvic, ker je zmožno adsorbirati potratne produkte (sečnino, induksilni sulfat in druge urinarne produkte) in izboljšati proces dialize. (J Alkhatib in Al Zailaey, 2015)

Aktivno oglje je kontraindicirano pri zaužitju močnih kislin in baz oz. ob zaužitju močnih kislin in baz ne dovoljuje določenih medicinskih ukrepov, kar lahko povzroči nevarnost aspiracije pri bruhanju in posledično slabo adsorpcijo. Aktivno oglje ne uporabljamo pri zastrupitvah s toksini, ki jih slabo veže (npr. etanol, litij, pripravki železa). Peroralne antidote veže le deloma (npr. N-acetilcistein pri zastrupitvi s paracetamolom), zato jih ne dajemo sočasno, ampak damo

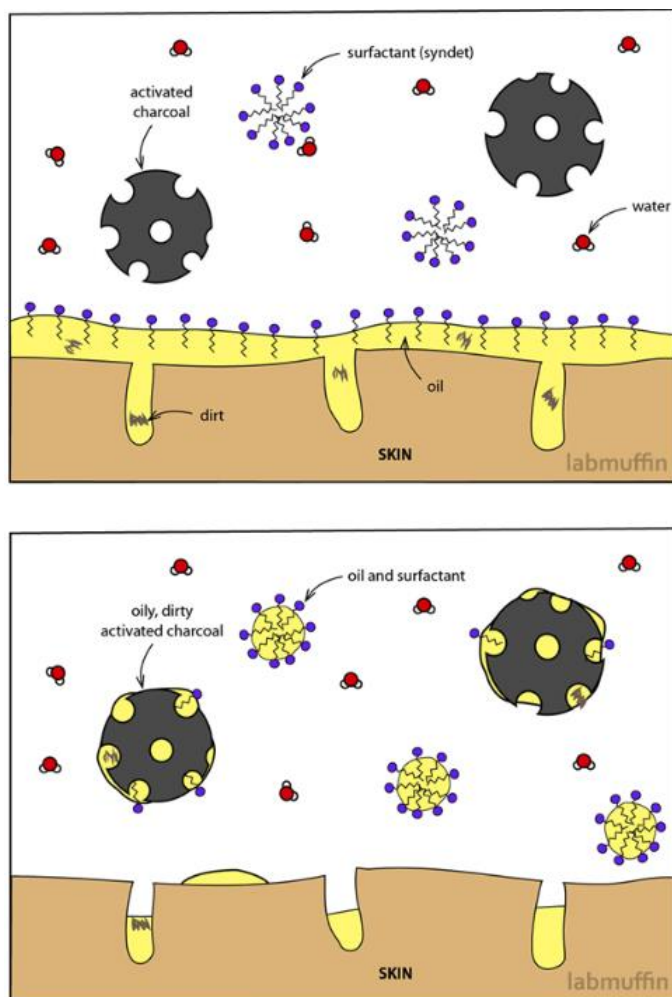
specifični antidot parenteralno. Izločanje strupa s pomočjo oglja je še učinkovitejše, če hkrati damo zastrupljencu salnično odvajalo ali sorbitol, ki pa se ne vežeta na oglje.

Izločeno blato je črne barve in ga ne smemo zamenjati z meleno, čeprav je možna tudi sočasna melena. Če izpraznitev želodca ni možna takoj, lahko damo bolniku najprej aktivno oglje, izpiranje pa opravimo naknadno. (Možina, Grenc, 2009)

2. 3. 2. Kozmetika

Aktivno oglje se v kozmetiki uporablja kot odstranjevalec nečistoč, kot so olje in razni toksini. Pojavijo se na koži, zobeh, laseh. Od navadnih površinsko aktivnih snovi se aktivno oglje razlikuje po tem, da adsorbira nečistoče znotraj por, medtem ko navadne površinsko aktivne snovi adsorbirajo le površinske nečistoče. Do adsorpcije pride hitreje, če zmešamo aktivno oglje v prahu, kot pa če uporabimo izdelke, ki vsebujejo aktivno oglje in dodatne primesi.

Težava aktivnega oglja je v tem, da ne loči med patogenimi in nepatogenimi bakterijami, vendar se nepatogene bakterije na koži dovolj hitro razmnožujejo, torej je uporaba aktivnega oglja na koži neškodljiva. (LabMuffin, 2018)



Slika 8: Adsorbiranje nečistoč pri aktivnem oglju in pri navadnih površinsko aktivnih snoveh (LabMuffin, 2018)

Aktivno oglje privlači bakterije, toksine, kemikalije, umazanije in druge mikrodelce, ki se nahajajo na koži. V maski za obraz adsorbira umazanije iz por na koži. Pore na videz izgledajo večje zaradi olja in umazanij, kar lahko aktivno oglje prepreči. Sposobno je odstraniti mrtve celice s površine kože. Ima lastnosti, ki olajšajo vnetje, s katerimi zmanjša prekomerno pigmentacijo in zdravi vneto kožo. Pomaga tudi pri posvetlitvi kože. Uporablja se tudi za nego las, saj povrne njihov volumen. Pod lasmi se zadržuje olje, ki ga aktivno oglje površinsko in globinsko odstrani. (Kalpaka Chemicals, 2015)

Uporablja se tudi za beljenje zob, saj adsorbira organske substance, ki se pojavijo kot madeži na zobeh. Organske substance na zobeh predstavljajo kava, rdeče vino, nikotin, itd. Z zob odstrani tudi zobni kamen. Aktivno oglje je prisotno tudi v ličilih kot sta maskara in črtalo za oči. (Beautymunsta, 2018)

Zobna pasta za aktivnim ogljem lahko odstrani tudi slab zadah. (Sheila P., Danyetta Davis, 2017)

2. 4. Delovanje

2. 4. 1. Adsorpcija

Adsorpcija je proces, ko se neka snov (trdnina, plin, tekočina) veže na površino neke druge snovi. Vezi med to snovjo so lahko fizikalne ali kemijske. Pri kemijskih vezeh je potrebna neka kemijska reakcija (ionska- sprejemanje/oddajanje elektronov ali atomska - tvorjenje skupnih elektronskih parov), medtem ko so pri fizikalnih vezeh pomembni le privlaki med dipoli. (Biteks, 2019)

Ko je aktivno oglje aktivirano, njegova notranja površina privlači določene molekule v tekočem stanju, ki polnijo njegove pore. Med molekulske sile so šibke, zato lahko poteče desorpcija adsorbiranega topljenca. Če oglje adsorbira zdravilo s pomočjo izpostavljanja oglja tekočemu topljencu, ki ima določeno koncentracijo zdravila, je zdravilo lahko desorbirano do neke mere. Do tega pride, ko se oglje izpostavi čisti vodi. (O. Cooney, 1995)

Obstajajo različni faktorji, ki vplivajo na količino snovi, ki jo lahko oglje adsorbira.

2. 4. 1. 1. Učinek temperature

Višanje temperature zmanjšuje adsorpcijsko kapaciteto, saj imajo adsorbirane molekule večjo vibracijsko energijo in je večja možnost, da se desorbirajo s površja. (O. Cooney, 1995)

2. 4. 1. 2. Narava topila

Topilo ima pomemben učinek, saj tekmuje s površino oglja pri privlačevanju topljenca. Zato je adsorpcija organskega topljenca iz organskega topila manjša kot iz vodne raztopine. (O. Cooney, 1995)

2. 4. 1. 3. Adsorpcijska kapaciteta

Kapaciteto adsorpcije aktivnega oglja lahko izražamo na različne načine, saj imajo različne vrste aktivnega oglja različno učinkovitost pri različnih značilnosti odpadnih voda.

Adsorpcijsko kapaciteto izražamo z:

- fenolovim številom, ki je uporabljeno kot indeks zmožnosti odstranjevanja vonja in okusa substanc;
- jodnim številom, ki je merilo za zmožnost adsorbiranja snovi z nizko molsko maso (mikropore, manjše od 2 μm), pri tem aktivno oglje z visokim jodnim številom dobro adsorbira organske spojine z majhno molsko maso iz odpadnih voda;
- molskim številom, ki je merilo za zmožnost adsorbiranja snovi z visoko molsko maso (pore 1 - 50 μm). Aktivno oglje z visokim molskim številom najbolje adsorbira odplake, ki vsebujejo organske snovi z visoko molsko maso. (Yang et al, 2017)

2. 4. 2. Regeneracija aktivnega oglja

Več je adsorbiranih molekul na površini aktivnega oglja, manj površine je na voljo za adsorpcijo. Tako se sposobnost adsorpcije oglja postopno zmanjšuje. Ko je aktivno oglje v koloniji nasičeno, ga je potrebno zamenjati. Izrabljeno aktivno oglje se zaradi visoke cene regenerira. Tako iz por delcev aktivnega oglja odstranimo adsorbirane snovi. Poznamo več načinov regeneracije. Termična regeneracija je proces sušenja, termične disorpcije (obraten proces adsorpcije) in obdelave pri višjih temperaturah (650 - 980 °C), kjer so prisotne omejene količine pare gorilnega plina in kisika. Uporablja se večkratno zgorevanje ali zgorevanje v fluidiziranem sloju. Ko se termična regeneracija konča, je potrebna odstranitev aktivnega oglja iz peči, pri čemer ga direktno ali nedirektno ohladimo do sobne temperature. Termična regeneracija je med vsemi metodami najbolj razširjena za aktivacijo aktivnega oglja (oblika granul). Poznamo pa tudi druge metode kot so obdelava s kislinami in bazami ter kemijska oksidacija.

Ob regeneraciji večjih količin aktivnega oglja regeneracija poteče na lokaciji oglja, pri manjših količinah pa oglje odvažajo v centralne regeneracijske naprave. Te so navadno last proizvajalcev aktivnega oglja in regeneracijo ponujajo kot servis.

Posledica regeneracije je izguba teže. Do tega pride zaradi oksidacije ogljika, izgube teže se lahko razlikujejo zaradi različnih vrst oglja in konstrukcije peči. Ena izmed posledic je sprememba adsorpcijske kapacitete med samo regeneracijo, ki se zgodi kot posledica sprememb velikosti por. Do tega pride zaradi znižanja jodnega števila in posledično izgube por zaradi deponiranja preostankov v snovi.

Sprememba kapacitete je pomembna predvsem pri čiščenju odpadnih vod z aktivnim ogljem, kjer pride do zaporednih ciklov regeneriranja. Za maksimalno izgubo kapacitete večinoma zadostujejo trije regeneracijski cikli. (Frim, 2006)

2. 4. 3. Aktivno oglje z dodatki

Za izboljšanje antimikrobnega učinka aktivnega oglja se pogosto uporabljajo dodatke v obliki različnih kovin. Narejeno je bilo nekaj raziskav, ki so proučevali delovanje oglja z dodatki.

V raziskavi (Yoon et al, 2007) so bili pripravljeni filtri iz vlaken aktivnega oglja, ki so vsebovali delce srebra, testirali so njihovo učinkovitost pri odstranjevanju bioaerosolov.

Filtri iz vlaken aktivnega oglja se široko uporabljajo za čiščenje zraka z odstranitvijo nevarnih plinastih onesnaževalcev, kot so plinaste organske komponente, zaradi povečane ploščine, površine in velike adsorpcijske kapacitete. Vendar se bakterije prednostno lepijo na trdno podporo ogljikovih snovi, filtri iz vlaken aktivnega oglja pa imajo visoko biokompatibilnost. Bakterije se množijo na filtrih iz vlaken aktivnega oglja, zato ti lahko postanejo vir bioaerosolov. Da bi se temu problemu izognili, potrebujemo antimikrobne filtre.

Učinkovit antimikrobni agens - srebro vzajemno vpliva na bakterijske membrane in s tem povzroča strukturno spremembo bakterije, zaradi česar se izmenjava protonov zaustavi in celica umre. Zaradi antimikrobne aktivnosti srebra se je razvilo veliko srebrnih materialov za antimikrobiološko uporabo.

Pri raziskavi (Yoon et al, 2007) na filtrih izpostavljenih srebru, se bakterije niso razvile, razvile pa so se na navadnih filtrih. Testni filtri s srebrom vsebujejo srebrne ione, ki imajo antimikrobne učinke v vlažnem okolju. Čim večje je število srebrnih delcev na filtrih, tem več srebrnih ionov se širi dalje zaradi večjega koncentracijskega gradienta srebra. Ugotovili so tudi, da ima srebro boljši antimikrobni učinek na *B. subtilis* kot na *E. coli*. Manjšo občutljivost bakterij *E. coli* lahko utemeljimo z biokemičnimi in fiziološkimi lastnostmi te bakterije. Zunanja membrana *E. coli* je večinoma sestavljena iz tesno pakiranih molekul lipopolisaharidov, ki ponujajo učinkovito pregrado. (Yoon et al, 2007)

Dandanes se veliko raziskovalcev fokusira na antimikrobne in multifunkcionalne učinke srebrnih nanodelcev in aktivnega oglja iz kmetijskih odpadkov. Pri tem je srebro varnejši antimikrobni agens v primerjavi z drugimi organskimi agensi, ki lahko imajo škodljive vplive na človeško telo. Pri raziskavi avtorja Arabaci in Altintig, 2012 so potrdili antimikrobni vpliv praha aktivnega oglja s srebrnimi nanodelci na *E. coli*.

Srebro-dispergirani aerogeli iz aktivnega oglja kažejo močan antimikrobni učinek proti *E. coli* in *S. aureus*. Pri raziskavi avtorja Zhang et al., 2004 je bil ta učinek potrjen na bakteriji *E. coli* in *S. aureus*.

Raziskava avtorjev Kim in Park, 2008 je bila namenjena primerjanju navadnih vlaken aktivnega oglja in vlaken aktivnega oglja z dodanimi kovinami. Pri tem je bilo ugotovljeno, da navadna vlakna niso imela antimikrobnega vpliva na glive *S. aureus* in bakterije *K. pneumoniae*. Vlakna z dodanimi kovinami (srebro in baker) so ubila 99% bakterij, pri tem se je z večanjem deleža kovin večal antimikrobni učinek. Baker je pokazal večjo antimikrobno aktivnost kot srebro.

2. 5. Pridobivanje aktivnega oglja

Pridobivanje aktivnega oglja je za razliko od drugih adsorbentov dražja, zato ga pridobivajo večino iz cenejših materialov (npr. naravnih surovih materialov). (Świdarska-Dąbrowska et al, 2018) Aktivno oglje se pridobiva iz karbonatnih materialov in naravnih obnovljivih surovih snovi, na primer iz rastlinske osnove, kot so les, luščina, bambus, sladkorni trs, riževa lupina, koščice češenj in oliv, smola, papir, oreščki, pšenica, ter iz neobnovljivih snovi, kot so bizmut, premog, lignit, naftni koks, odpadle gume in lignit. Kmetijski bio odpadki kot so rižev pecelj, koruza, riževa slama, mandljeva lupina, neprečiščene odplake, sončnična lupina in odplake sladkornega trsa, se prav tako uporabljajo kot izhodni material. Proizvodnja aktivnega oglja zajema dve stopnji: proces karbonizacije in proces aktivacije, ki ima pomembno vlogo pri razvoju površine in prostornine por aktivnega oglja. Poznamo dve metodi aktivacije: fizična

aktivacija in kemična aktivacija, pri kateri se uporabljajo kemikalije, kot so ZnCl_2 , HNO_3 , NaOH , AlCl_3 , KOH , K_2CO_3 , Na_2CO_3 , H_3PO_4 in H_2SO_4 . (Oguz Erdogan, 2015)

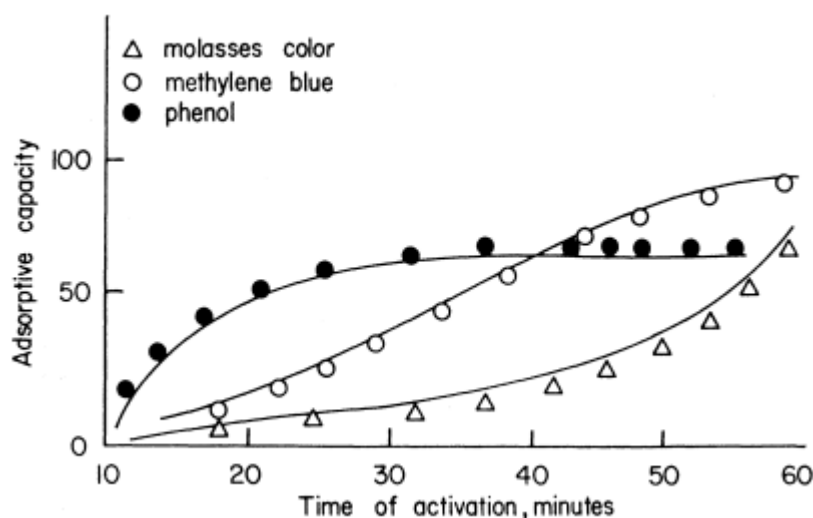
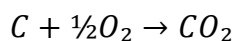
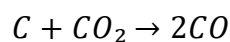
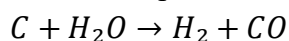
2. 5. 1. Karbonizacija

Proces pirolize oz. karbonizacije je prvi korak aktivacije oglja in ponavadi poteka s segrevanjem izhodnega materiala pri temperaturi 600 - 900 °C ob odsotnosti zraka. Razvoj porozne snovi pri prvem koraku se lahko izboljša z dodajanjem kovinskih kloridov v začetno zmes. Tipičen primer tega je Evropski proces, pri katerem je uporabljena zdrobljena šota ali žagovina zmešana s koncentrirano raztopino cinka in klora, posušena in karbonizirana v sušilni peči pri temperaturi 600 - 700 °C. Med pranjem produkta z razredčeno kislino in vodo se odstrani cinkova sol. Če so zaželeno le velike pore v oglju (npr. za dekolorizacijo sladkorja, kjer so adsorbirane večje molekule) je potreben samo prvi korak. Vendar večina oglja gre še skozi drugi korak: oksidacijo. (O. Cooney, 1995)

2. 5. 2. Aktivacija z oksidirajočimi plini

Pri aktivaciji aktivnega oglja oksidirajoč plin izbirno razjeda notranje površine oglja, kar razvije boljše omrežje por v oglju in preuredi atome na površju v specifične kemične oblike (npr. okside), ki imajo sile izbirne adsorpcije. (O. Cooney, 1995)

Reakcije, ki potечеjo pri oksidaciji so sledečih tipov:

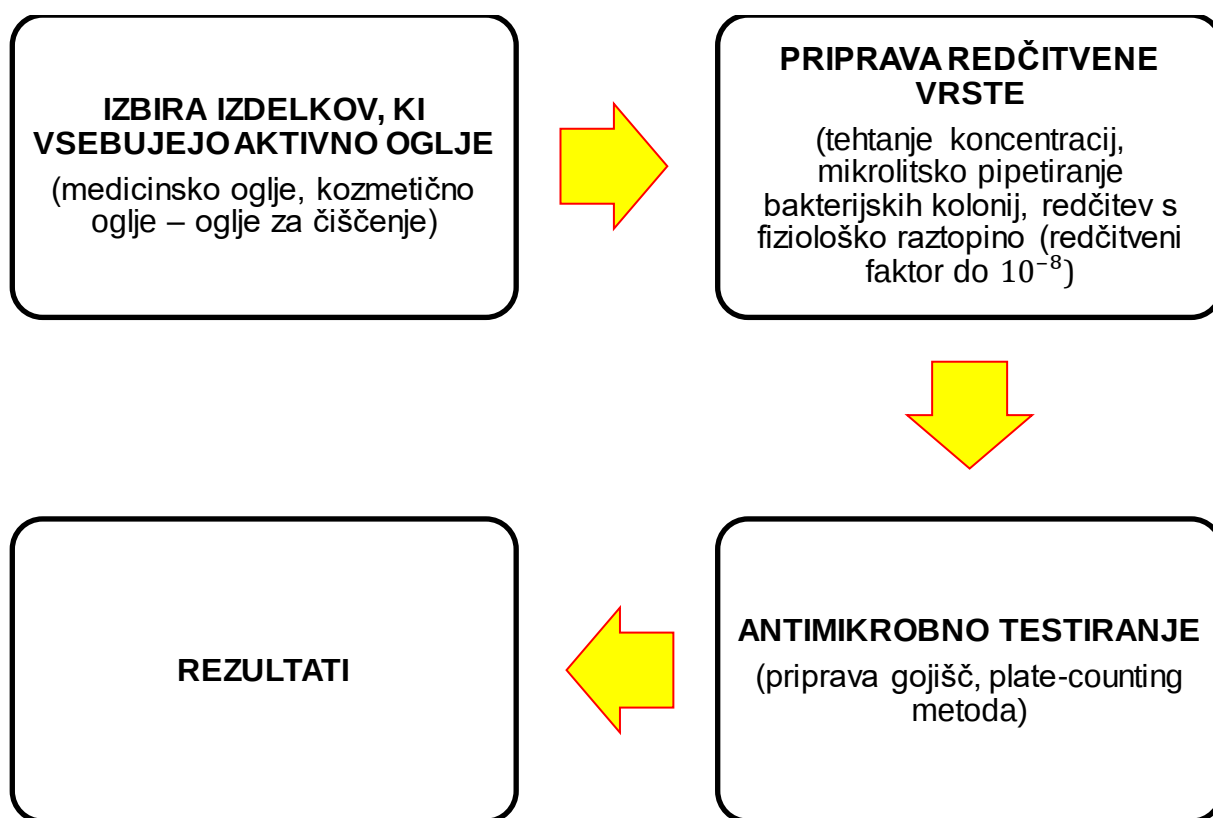


Slika 9: Možnost aktivnega oglja, da adsorbira molekule različnih velikosti (melasa, metilensko modrilo in fenol) v odvisnosti od skupnega časa aktivacije s paro oksidirajočih plinov (O. Cooney, 1995)

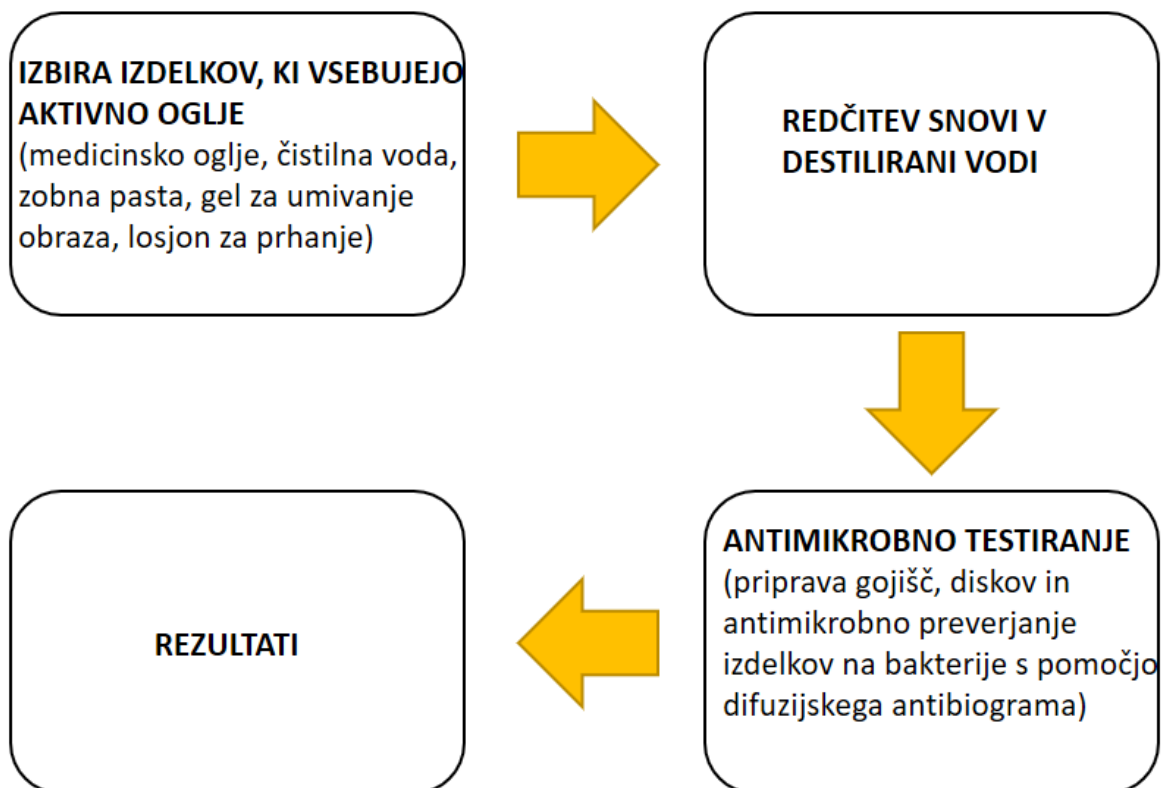
Vidimo, da te reakcije povzročijo, da ogljik preide v plinasto agregatno stanje in s tem ustvari pore v oglju.

Različne spremembe, ki se ob tem pojavijo, ne nastanejo enako hitro. Nekatere se razvijejo zgodaj, druge pa kasneje v procesu. Zaradi različnih želenih lastnosti je skupen čas aktivacije zelo pomemben dejavnik. Kot je prikazano na sliki, je adsorpcijska kapaciteta aktivnega oglja zelo odvisna od časa aktivacije. Glavni učinek časa se kaže v velikosti por, ki se razvijejo. S časom se razvije več por in notranja površina narašča. Graf kaže, da se prvo razvije zmožnost adsorpcije najmanjših molekul (npr. fenola), nato se pa razvije zmožnost adsorpcije srednjih molekul (npr. metilenskega modrila) in na koncu se razvije možnost adsorpcije večjih molekul (npr. melase). (O. Cooney, 1995)

3. RAZISKAVA



Organigram 1: Izpis po stopnjah za prvi del praktičnega dela



Organigram 2: Izpis po stopnjah za drugi del praktičnega dela

Za dokazovanje naših hipotez smo izvedli dva eksperimenta. Pri obeh poskusih smo uporabili antiseptično metodo. Tako smo preprečili kontaminacijo oz. zmanjšali število nezaželenih mikroorganizmov. To smo zagotovili tako, da smo poskus opravljali v laminariju v prisotnosti ognja. (Cokan et al., 2005)

3. 1. Seznam materialov

Opisi testiranih izdelkov:

Medicinsko oglje 1: Carbo medicinalis. To so disperzibilne tablete, vsaka vsebuje po 150 mg aktivnega oglja. Kot pomožne snovi so dodane tudi natrijev karmelozat, laktoza monohidrat, magnezijev stearat in saharoza. (Lekarnar, 2014)

Kozmetično izdelki z aktivnim ogljem:

- aktivno oglje za čiščenje zob;
- Donotodent zobna pasta, Black shine z aktivnim ogljem v prahu;
- Balea čistilna voda z aktivnim ogljem in miceli;
- Balea gel za umivanje obraza z aktivnim ogljem;
- Balea losjon (gel) za prhanje z aktivnim ogljem, z vonjem kokosa z dodanim glicerolom.

Kontrolni izdelki:

- tekoče milo za roke - ORCHID & CASHMERE z izvlečkom divje orhideje in beljakovinami kašmirja;
- zobna pasta Vademecum 2v1: White Fresh - Dvojna moč beljenja;
- Avon čistilni tonik za obraz z vrtnično vodo;
- Garnier čistilni gel 3 v 1+ piling+ maska.

3. 1. 1. Delovni mikroorganizmi

Uporabili smo nepatogeni sev *E. coli*, nepatogeni sev *B. cereus* in mešano kulturo gliv kvasovk *S. cerevisiae*.

3. 1. 2. Zaščitna oprema

- zaščitni plašč
- zaščitne rokavice
- 70 % etanol kot sterilizacijsko sredstvo za razkuževanje rok

3. 1. 3. Kemikalije

- destilirana voda (prevodnost $<5 \mu\text{S/cm}$)
- tripton (bioMérieux)
- kvasni ekstrakt (Fluka Analytical)
- kuhinjska sol (NaCl)
- agar (Biolife)
- kulture bakterij *E. coli*, *B. cereus* zamrznjene v glicerolu
- *S. cerevisiae*

- pepton
- D-glukoza (Sigma-Aldrich)
- 70 % etanol

3. 1. 4. Laboratorijski pribor

- epruvete in stojalo za epruvete
- avtomatska pipeta (10 - 100 µl in 100 - 1000 µl)
- tipsi
- spatula
- spatula Drigalski
- vžigalnik
- plastične petrijevke (90 x 15 mm)
- kovinska pinceta
- čaše (900 mL)
- diski iz filtrirnega papirja (premera 5 mm)
- terilnica s pestilom
- mikrobiološka zanka
- antibiotika Streptomycin 300 mcg in Chloramphenicol 10 mcg (Bioanalyse susceptibilni diski za in vitro diagnostične namene)
- steklena palčka
- mikrocentrifugirke
- merilni valj (1000 mL)

3. 1. 5. Laboratorijske aparature

- laminarij (mikrobiološka zaščitna komora - MC 12-1, Iskra PIO)
- inkubator (Binder)
- analitska tehtnica (Kern, natančnost: 0.01 g)
- vibracijski stresalnik za epruvete (Starlab)
- gorilnik (Campingaz)
- avtoklav (CertoClav)
- grelna plošča (Clatronic)
- digitalni kaliper (Mister Took in Powerfix)

3. 2. Opisi mikroorganizmov

3. 2. 1. *Escherichia coli*

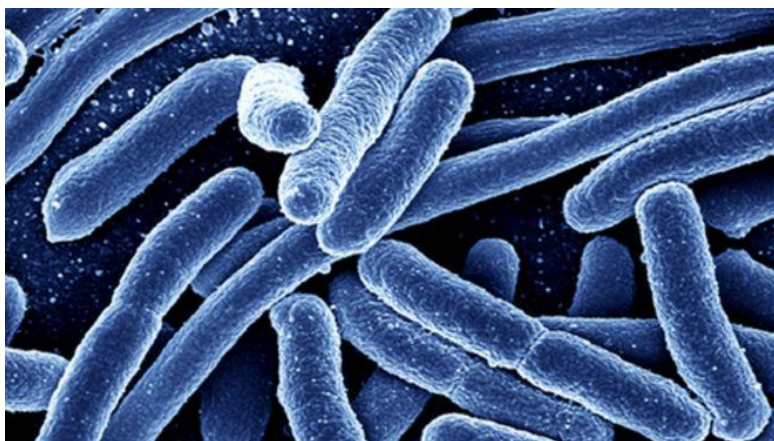
Escherichia coli pripada družini Enterobacteriaceae, ki vključuje Gram-negativne, fakultativno anaerobne paličaste bakterije. Pri teh je prisotno vrenje in celično dihanje, ne proizvajajo encima oksidaze. Celice *E. coli* so ponavadi 1,1-1,5 µm široke, 2-6 µm dolge in se pojavljajo kot posamezne paličaste bakterije. Lahko so gibljive ali negibljive. Gibljive bakterije imajo bočne in nepolarne bičke. Zraven bičkov imajo nekateri sevi pile in fimbrije, ki predstavljajo proteinske strukture in izstopajo iz površine bakterije. Igrajo pomembno vlogo pri vezavi na površine, kot so druge celice ali tkiva gostiteljev. *E. coli* ima specifične O lipopolisaharidne antigene na celični steni (prepoznano je najmanj 188 O antigenov) in H antigene (prepoznano je 53 H tipov). Obstajajo številni kapsularni polisaharidni (K) antigeni. Serotipizacija *E. coli* je osnovana na kombinaciji O, H in K antigenov, vendar se ponavadi navajajo le O in H tipe, na primer, *E. coli* O157:H7. Serotipizacija *E. coli* skupaj z genomom, virulenco in tipizacijo s fagi je pomembno epidemiološko orodje. Zaporedje genoma nepatogene *E. coli* sestoji iz 4,6 milijonov baz, medtem ko imajo patogene okoli 5,4 milijonov baz. Ta genetska informacija zagotavlja osnovo razumevanja odnosov med različnimi patogenimi skupinami *E. coli* in zmožnosti izoliranih bakterij za povzročanje bolezni ter omogoča prenos genskega materiala, kar lahko lahko pripelje do nastanka novih bolj virulentnih tipov *E. coli*. (Desmarchelier in Fegan, 2016)

Primarni habitat *Escherichia coli* je črevo vretenčarjev, kjer je prevladujoč anaerobni organizem, ki živi v simbiozi z gostiteljem. Ne glede na pojav rekombinacije so v strukturi populacij, ki se razvijajo, večinoma kloni, kar omogoča zamejitev večine filogenetskih skupin. Genetsko strukturo priskledniških *E. coli* oblikujejo različni gostitelji in okoljski faktorji in determinante, ki so vključeni v virulenco bakterije, ter se dejansko odražajo v adaptaciji k priskledništvu. Poznamo virulentne in nevirulentne seve *E. coli*. Nevirulentni ne povzročajo bolezni in so normalni del črevesne flore. Virulentni sevi pa lahko povzročijo prebavne in zunajčrevesne okužbe pri ljudeh in živalih. Nekateri sevi pa lahko izločajo toksine (toplotno stabilne ali nestabilne). (Tenaillon et al, 2010)

Bakterije lahko rastejo pri temperaturi 2,5 - 45,5 °C, optimalno rastejo in se razmnožujejo pri 37 °C. Nekateri vrste lahko preživijo v kislem okolju s pH vrednostjo 4,4 ali celo manj. (NIJZ, 2013)

Bakterija po navadi kolonizira znotraj nekega organizma, ko je *E. coli* zaužita skupaj z okuženo vodo, mlekom ali hrano. Lahko se zgodi tudi prenos preko pika muhe oz. druge žuželke. Tako lahko povzroči gastrointestinalne bolezni. Mutacije lahko privedejo k sevu, ki povzroča diarejo zaradi oddajanja toksinov, vdiranja v črevesno sluznico ali prilepljena na steno črevesja. Terapija za te bolezni večinoma sestoji iz nadomeščanja tekočine, vendar so v nekaterih primerih učinkovita tudi določena zdravila. Bolezen je ponavadi samoomejena, brez dolgoročnih učinkov. Vendar nevarni sevi, kot so *E. coli* O157:H7 in *E. coli* O104:H4 lahko

povzročijo krvavo diarejo, okvaro ledvic in smrt v ekstremnih primerih. Ustrezno kuhanje mesa in spiranje izdelkov lahko preprečita infekcijo preko okužene hrane. *E. coli* lahko povzroči okužbe sečil. (Britannica Library, 2018)



Slika 10: *E. coli* (Mundasad, 2014)

3. 2. 2. *Bacillus cereus*

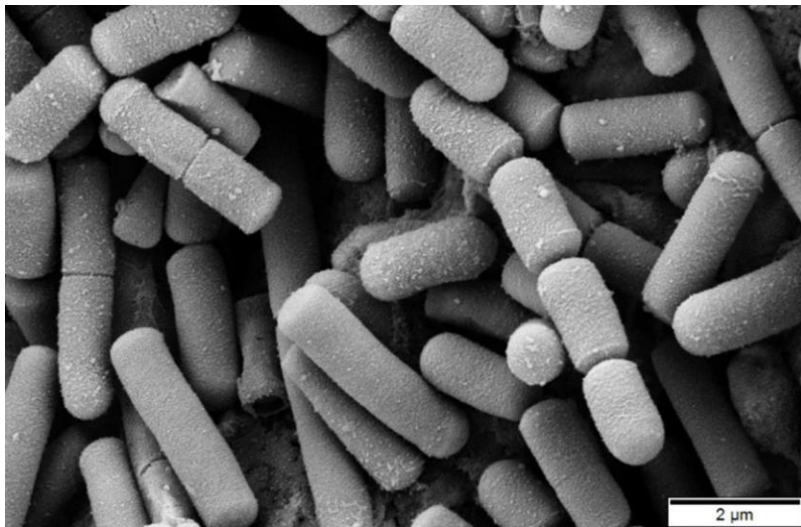
Bacillus cereus je Gram-pozitivna, aerobna (ali fakultativno anaerobna) gibljiva bakterija, ki oblikuje spore in ima paličasto obliko. V prsti se prilagodi saprofitnemu življenjskemu ciklu, kalitvi, rasti in sporulaciji v tem okolju. Spore so bolj odporne na okoljski stres kot vegetativne oblike celic zaradi presnovnega mirovanja in odporne fizične narave. (Food Standards Australia & New Zeland, 2013, Noonan in Freeman, 2018)

Celice *B. cereus* so dolge 3 - 5 μm , 1 - 1,22 μm široke in imajo peritrihne bičke. Spore so oblike elipse in so centralno nameščene. Večina sevov *B. cereus* je mezofilna, optimalna temperatura za rast je 15 - 55 °C. Spore so zelo odporne na visoko temperaturo. Optimalna pH vrednost je 6-7. Dedni material je oblikovan v en velik kromosom ali v en manjši kromosom z velikimi plazmidi. Zaradi izmenjave plazmidov prihaja do raznolikosti med sevi. (Palman, 2006)

B. cereus se nahaja v prsti, hrani, ličinkah žuželk in na človeški koži. Preživi tudi v ekstremnih pogojih: v morskem mulju, gejzirjih, iztrebkih živali in človeka. Najdemo jo v nizkih koncentracijah v surovi, sušeni in kuhani hrani ter v žitaricah, stročnicah, mleku, vodi... (NIJZ, 2013)

Patogenost *B. cereus* je povezana z njenimi eksoencimi, ki razgrajujejo tkiva. Med temi toksini so 4 hemolizini, 3 fosfolipaze, 1 toksin, ki povzroča bruhanje in 3 enterotoksini, ki oblikujejo pore: hemolizin BL (HBL), nehemolitični enterotoksin (NHE) in citotoksin K. (J. Bottone, 2010)

B. cereus lahko povzroča lokalne in sistemske infekcije. Glavni opisani pogoji so sepsa, endoftalmitis, pljučnica, endokarditis, meningitis, encefalitis, ki predvsem pri imunosupresivnih ljudeh, kot so novorojenčki, povzročajo smrt v 10 % primerov. Poročali so tudi o fulminantnih infekcijah⁸ ki so prizadele zdrave ljudi. Predispozicijski faktorji za okužbe vključujejo intravenozno uvajanje drog, kirurške ali travmatične rane, intravaskularne katetre, nedonošenost (zaradi nezrelega imunskega odgovora) in prisotnost notranjih pripomočkov v okolju intenzivnega zdravljenja novorojenčkov. (Glasset et al., 2018)



Slika 11: *Bacillus Cereus* (Wikipedia, 2019)

3. 2. 3. *Saccharomyces cerevisiae*

Saccharomyces cerevisiae je vsestranski mikroorganizem, ki je lahko uporabljen za celično tovarno biotehnoških in farmacevtskih uporab. Uporablja se v preučevanju evkariontskih celic in kot kvas v industriji pri nastanku kruha in piva. Obdan je z celično steno iz beljakovin, polisaharidov in majhne količine hitina. (Cohen in Krause, 2015)

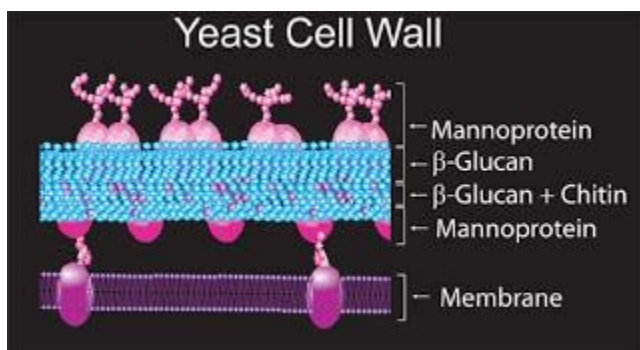
S. cerevisiae ima okroglo celično strukturo in premer od 5 do 10 μm. Značilnost rasti, fiziološke lastnosti in možnost vrenja posameznih sladkorjev ločijo celice *S. cerevisiae* od drugih kvasovk. Kot evkarionti imajo kompleksno celično strukturo. Tipična celica *S. cerevisiae* je sestavljena iz celične stene, membrane, citosola, jedra, endoplazemskega retikla, vakuole, golgijevega aparata, mitohondrija in peroksisoma.

Brst je specializiran obroč iz hitinskega tkiva, ki se nahaja na površini materine celice. Oblikuje se po tem, ko se na novo nastala hčerinska celica loči od materinske celice. S pomočjo številnih brsti na določeni celici lahko določimo reprodukcijsko starost.

⁸ Infekcije, ki se pojavijo nenadno in v zelo ostri obliki. (Marriam-Webster, 2019)

Kot heterotrof, *S. cerevisiae* dobi energijo iz glukoze. Celice tega organizma opravljajo celično dihanje in vrenje.

Citoplazma *S. cerevisiae* je zaščitena s celično steno in membrano podobno kot pri rastlinskih organizmih. Celična stena je sestavljena iz hitina in polisaharidov, nastalih iz glukoze, manoze in N-acetilglukozamina. Stena da celici obliko in igra vlogo kemijske in fizične ovire. Celična membrana je sestavljena iz lipidov, s hidrofilnimi glavami in hidrofobnimi repi. Organele so obdane z membrano, ki ima podobno funkcijo - zaščita in kontrola toka snovi v celico in iz celice.



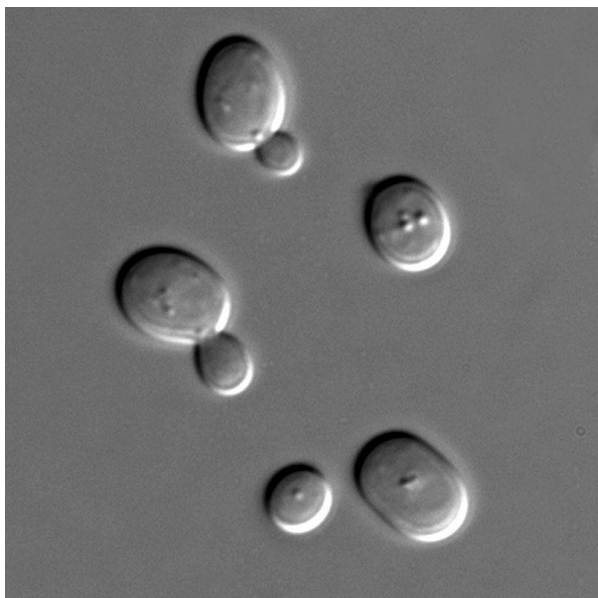
Slika 12: Struktura celične stene kvasovk (Seo, 2013)

CO₂ je stranski produkt aerobnega ali anaerobnega celičnega dihanja. Ko celice *S. cerevisiae* presnavljajo sladkor, nastaja CO₂ in se izloči kot stranski produkt (pri anaerobnem celičnem dihanju nastaja še etanol). Ta plinasti stranski produkt se difundira skozi celično membrano. Prepustna membrana omogoča prehajanje O₂ v celico, ki je kasneje uporabljen za vrenje. Stranski produkti so zapakirani v vakuole, ki predstavljajo izločevalni in shranjevalni mehanizem. Ti zapakirani stranski produkti se izločajo skozi celično membrano. Vakuole so potrebne za vzdrževanje homeostaze, regulacijo osmoze in shranjevanje aminokislin.

S. cerevisiae je enocelični organizem, zato nima notranjih obtočnih sistemov. Majhna velikost celic omogoča snovem prehajanje znotraj celice brez posebnega sistema. Te celice imajo izbirno prepustne membrane, ki omogočajo absorpcijo škrobnih hranil direktno skozi celično površino.

S. cerevisiae so razširjeni v naravi. Celice kvasovk te vrste lahko najdemo v sadju, kot je grozdje, kjer je prisotno vrenje. Najdemo pa jih tudi v lubju listopadnih dreves in drugih okoljih z visoko vsebnostjo sladkorja, kot so nektar in rastlinski sokovi. *S. cerevisiae* je lahko izoliran iz sadja, zrn in drugih materialov z visoko koncentracijo ogljikovodikov. Te kvasovke imajo visoko odpornost na alkohol in fermentirano glukozo. *S. cerevisiae* lahko živi v vlažnih habitatih, ki imajo veliko organskih snovi. *S. cerevisiae* živi zraven številnih organizmov, kot so različne vrste gliv, gliv kvasovk in bakterij. Možnost razgrajevanja velikega števila sladkorjev in aminokislin povečuje možnost dolgoročnega preživetja. *S. cerevisiae* deluje kot

katalizator v procesu razgrajevanja in povečuje hitrost kemijskih reakcij razgrajevanja. (Seo, 2013)



Slika 13: *S. cerevisiae* pod DIC mikroskopom (Wikipedia, 2018)

3. 3. Priprava gojišč

Za oba praktična dela smo pripravili LB tekočo gojišče, ki smo ga uporabili pri bakterijah *E. coli* in *B. cereus*. Ima več imen, npr. Luria broth, Lennox broth, Lysogeny broth... (Sigma-Aldrich, 2019). To je globalno najbolj uporabljeno hranljivo sredstvo ali gojišče za kulture in rast bakterij. Za pripravo gojišča smo uporabili sestavine navedene v spodnji tabeli.

Tabela 4: Snovi potrebne za pripravo LB-gojišča in njihove količine (Lastni vir)

Trypton	10 g	4 g
Kvasni ekstrakt	5 g	2 g
NaCl	5 g	5 g
Agar	15 g	6 g
Destilirana voda	1000 mL	400 mL

Pri drugem eksperimentu smo poleg LB-gojišča uporabili YEPD-gojišče (Bd, 2019), ki smo ga potrebovali za rast gliv kvasovk. Njegovo polno ime je Yeast Extract Peptone Dextrone, znan je tudi po kratiki YTD. Poznamo YEPD Broth in YEPD Agar, ki se uporabljata za ohranitev in razmnoževanje kvasovk v mikrobiologiji. Oba vsebujeta pepton, ki v gojišču predstavlja vir

ogljika, dušika, vitaminov in mineralov. Za pripravo YEPD Broth smo uporabili recept naveden v spodnji tabeli.

Tabela 5: Snovi potrebne za priprave YEPD-gojišča in njihove količine (Lastni vir)

Pepton	20 g	5 g
Kvasni ekstrakt	10 g	2,5 g
D-glukoza	20 g	5 g
Agar	15 g	3,75 g
Destilirana voda	1000 mL	250 mL

3. 4. Priprava prekonočnih kultur

Uporabljene so bile kolonije, ki smo jih pripravili dan pred uporabo pri obeh metodah dela. Čisto kulturo *E. coli*, ki je bila zamrznjena v glicerolu smo aseptično prenesli v tekoče LB-gojišče in premešali na vibracijskem mešalu. To smo čez noč inkubirali pri temperaturi 37 °C. Čisto kulturo *B. cereus* smo prenesli iz trdega v tekoče LB-gojišče z mikrobiološko zanko in premešali. To smo čez noč inkubirali pri temperaturi 37°C.

Za pripravo prekonočne kulture gliv kvasovk *S. cerevisiae* smo v tekoče YEPD-gojišče dodali zapolnjeno konico spatule suhih kvasovk in pretresli. To smo čez noč inkubirali pri temperaturi 30°C.

3. 5. "Plate-counting" metoda ali štetje bakterijskih kultur

To je metoda, s katero določamo število živih kolonij v posamezni petrijevki. Potekati mora vzporedno z aseptično metodo, da dobimo zanesljive, pravilne rezultate. (Microbial Growth Website, 2019)

Pri našem prvem praktičnem delu smo jo uporabili po enodnevnem inkubiranju petrijev, kjer so zrastle kolonije bakterije *E. coli*. To smo storili tako, da smo položili vsako petrijevko na temno podlago, da so bile kolonije lažje vidne, nato smo jih prešteli in zapisali rezultate.

3. 6. Difuzijski antibiogram z diski

Difuzijski antibiogram je metoda, s katero ugotavljamo odpornost oz. občutljivost bakterij na izbrane antiseptike. Bakterije na tem antibiogramu rastejo enakomerno oz. konfluentno, kar pomeni da kolonij ni mogoče prešteti. Sev bakterije je lahko na antiseptik odporen, intermediaren ali občutljiv. Občutljivost seva ugotovimo po inhibicijski coni. To je cona okoli diska, kjer bakterije zaradi prisotnosti antiseptika ne zrastejo. (Turk in Zalar, 2019)

To metodo smo uporabili pri razmazu mikroorganizmov na petrijevkah pri drugem eksperimentu. Najprej smo v petrijevko dodali 5 diskov, na katere smo dodali določeno količino raztopine. Opravili pa smo tudi poskus, kjer smo diske nadomestili z luknjicami v agarju.

3. 7. Postopki dela

1. DEL PRAKTIČNEGA DELA:

- a. Pri prvem eksperimentu smo najprej odtehtali 3 različne koncentracije (6,5 mg, 12,5 mg in 20 mg) dveh vrst aktivnega oglja (medicinsko oglje v obliki tablet, ki smo ga zdrobili v sterilni terilnici, oglje za beljenje zob). Vsako koncentracijo izbrane vrste oglja smo dodali v naprej pripravljeno epruveto z bakterijami in vsako epruveto premešali na vibracijskem mešalu. Pripravili smo tudi dodatno paralelo teh epruvet. Epruvete smo pustili 24 ur v inkubatorju pri 37 °C. Zaradi precejšnje namnožitve mikroorganizmov v prekonočnih kulturah je bilo potrebno opraviti redčitveno vrsto. To smo storili tako, da smo si v najprej pripravili 8 epruvet s fiziološko raztopino za vsako epruveto. Nato smo vzeli 1 ml iz epruvete z aktivnim ogljem in bakterijami in to dodali v prvo epruveto s fiziološko raztopino. Epruveto smo premešali na vibracijskem mešalu (»vorteksu«) in iz prve epruvete spet odpipetirali 1 ml. Postopek smo ponavljali vse do 8 epruvete. Za premaz v petrijevke smo uporabili le zadnje tri epruvete torej faktorje razredčitve 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} . Opravili smo tudi pozitivno in negativno kontrolo. Pri premazu v petrijevke smo uporabili 70 % etanol, kamor smo pomočili spatulo drigalski in jo obžgali (zagotovljena sterilnost), s katero smo nato razporedili bakterije na gojišče v petrijevki. Nato smo petrijevke 24 ur inkubirali pri 37 °C. Naslednji dan smo prešteli kolonije v petrijevkah, pri tem smo uporabili Plate-counting metodo. Vso delo je potekalo v laminariju ob ognju.

2. DEL PRAKTIČNEGA DELA:

- a. Za drugi eksperiment smo uporabili metodo difuzijskega antibiograma z diski. Najprej smo pripravili trdno LB-gojišče in prekonočno kulturo bakterij *E. coli* ter *B. cereus*. Pripravili smo tudi izdelke, ki smo jih testirali. Vzeli smo 5 sterilnih čaš in v vsako dodali določen izdelek: čistilno vodo (ki je nismo redčili, saj ni bila tako viskozna), medicinsko oglje (1 tableto, ki smo jo zdrobili in premešali z sterilno destilirano vodo), losjon za prhanje (približno 2 g, dodali

smo destilirano vodo in premešali), gel za umivanje obraza (približno 2 g, dodali smo destilirano vodo in premešali), zobno pasto (v razmerju z vodo 1:1, premešali). S pomočjo pipete smo dodali 200 µl prekonočne kulture *E. coli* na 11 petrijev z LB gojiščem in 200 µl prekonočne kulture *B. cereus* na 11 petrijev z LB gojiščem. V dve petrijevi z LB-gojiščem nismo dodali bakterij, saj sta to bili naši negativni kontroli za obe vrste bakterij. Nato smo bakterije razmazali s spatulo drigalski. Vzeli smo diske iz filtrirnega papirja, ki smo jih namočili v vsakega od pripravljenih izdelkov in jih nanegli s pinceto na vse naše petrijeve razen dveh (kontrola). Ponovitve smo zagotovili s 5 diski v vsaki petrijevi za posamezen izdelek. Vsako vrsto izdelkov smo ponovili v dveh petrijevkah. Petrijeve smo pustili v inkubatorju 24 ur pri 37 °C. Naslednji dan smo izmerili inhibicijske cone s pomočjo digitalnega kaliperja, jih fotografirali in zabeležili rezultate.

- b. Pri ponovitvi smo zamenjali diske z luknjami v agarju in zmanjšali mikromilitražo apliciranega mikroorganizma za konfluentno rast.

3. 8. Rezultati

1. Praktični del: Metoda štetja kultur

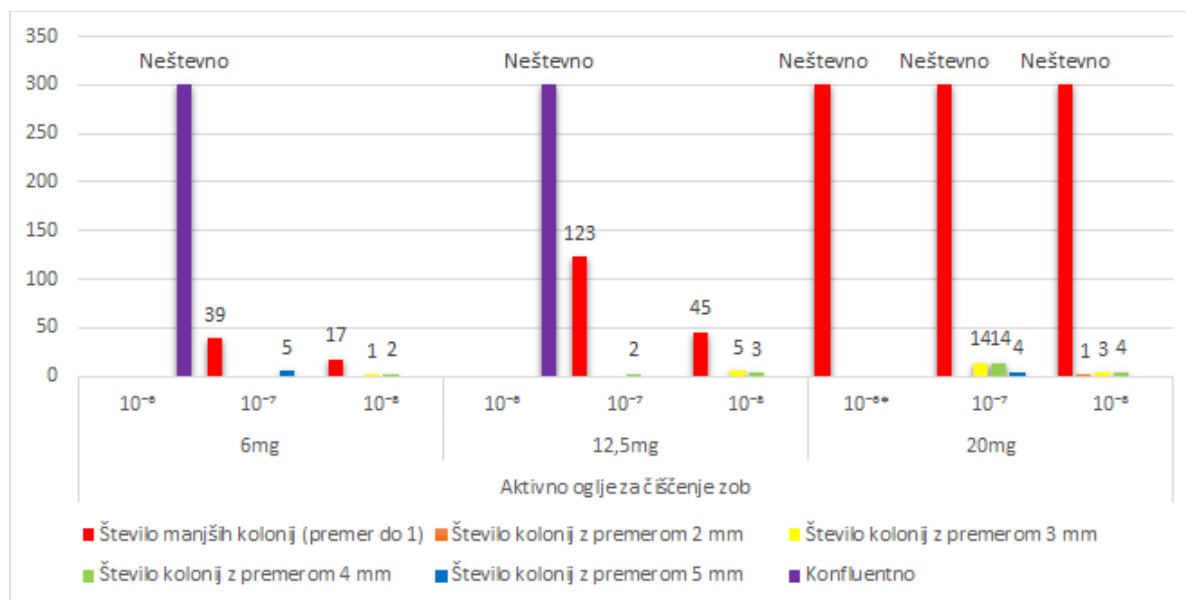
Tabela 6: Število kolonij *E. coli* pri 1. delu praktičnega dela (Lastni vir)

Vrsta oglja	Aktivno oglje za čiščenje zob										
Masa dodanega aktivnega oglja	6mg			12,5 mg			20mg			+ kontrola	- kontrola
Redčitev	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}	10^{-6*}	10^{-7}	10^{-8}		
Število manjših kolonij z premerom do 1 mm	0	39	17	0	123	45	N	N	255	0	0
Število kolonij z premerom 2 mm	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0

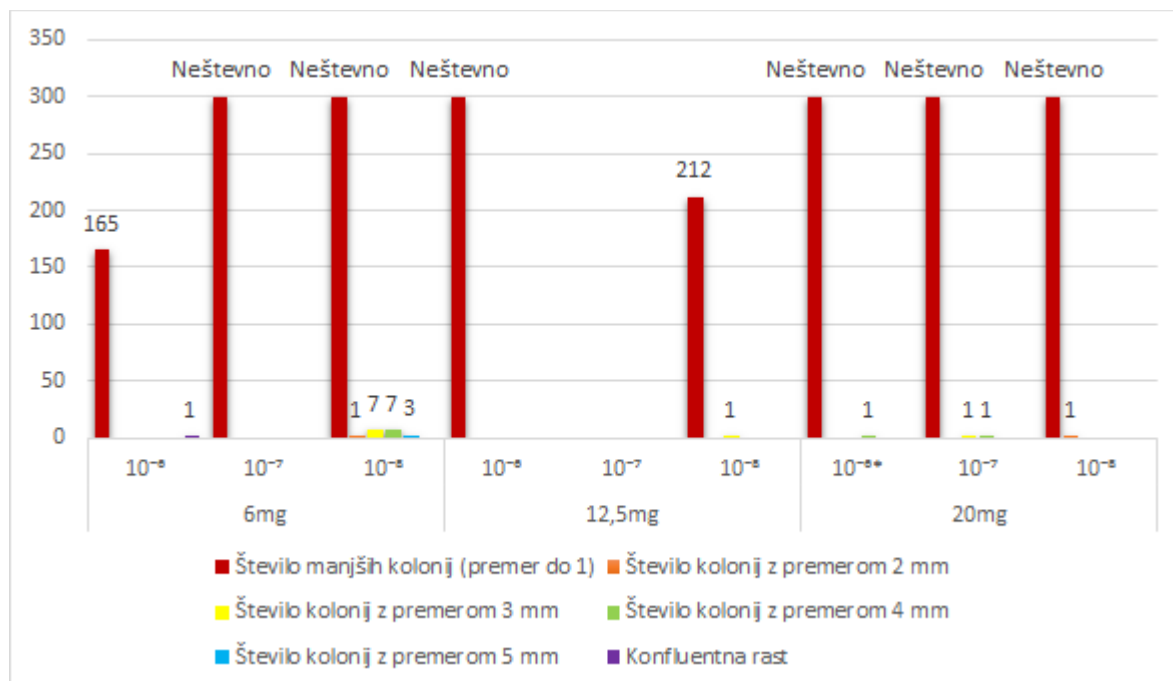
Število kolonij z premerom 3 mm	0	0	1	0	0	5	0	14	3	0	0
Število kolonij z premerom 4 mm	0	0	2	0	2	3	0	14	4	0	0
Število kolonij z premerom 5 mm	0	5	0	0	0	0	0	4	0	0	0
Prisotna konfluentna rast	Da	Ne	Ne	Da	Ne	Ne	Ne	Ne	Ne	Da	Ne
Vrsta oglja	Medicinsko aktivno oglje										
Masa dodanega aktivnega oglja	6mg			12,5 mg			20mg			+ kontrola	- kontrola
Redčitev	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}	10^{-6}	10^{-7} **	10^{-8}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}		
Število manjših kolonij (premer do 1)	165	N	N	N	0	212	N	N	N	0	0
Število kolonij z premerom 2 mm	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0
Število kolonij z premerom 3 mm	0	0	7	0	0	1	0	1	0	0	0
Število kolonij z premerom 4 mm	0	0	7	0	0	0	1	1	0	0	0
Število kolonij z premerom 5 mm	0	0	3	0	0	0	0	0	1	0	0

Prisotna konfluentna rast	Ne	Ne	Ne	Ne	Ne	Ne	Ne	Ne	Ne	Ne	Da	Ne
----------------------------------	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----

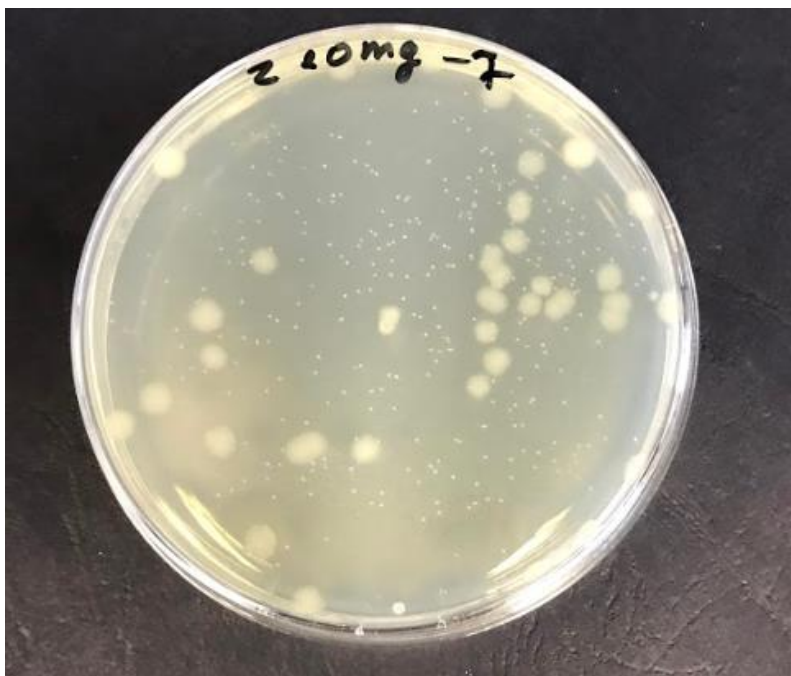
N= neštevno



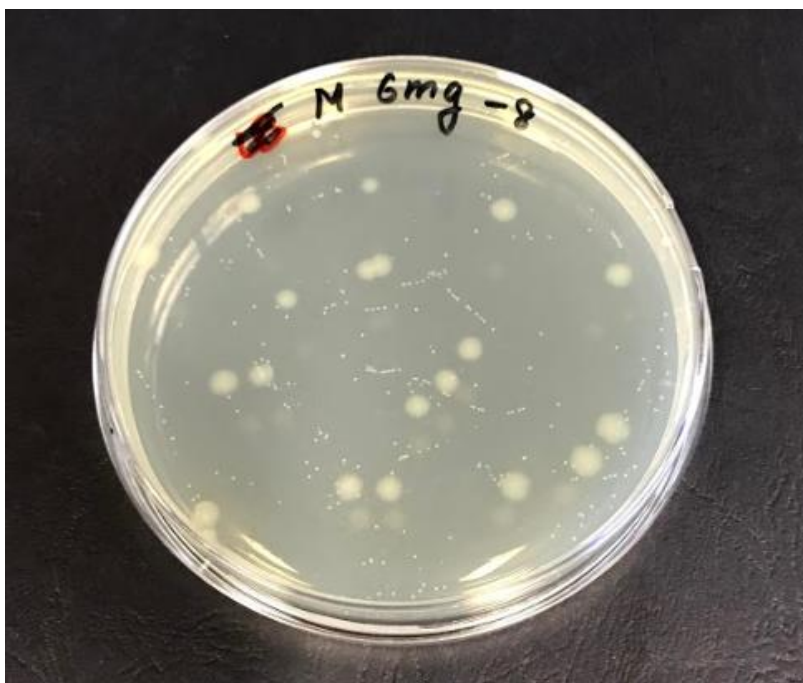
Graf 1: Število kolonij *E. coli* pri dodajanju aktivnega oglja za čiščenje zob (Lastni vir)



Graf 2: Število kolonij *E. coli* pri dodajanju medicinskega aktivnega oglja (Lastni vir)



Slika 14: Rezultati pri bakteriji *E. coli* pri dodajanju 20 mg aktivnega oglja za čiščenje zob pri redčitvi s faktorjem 10^{-7} (Lastni vir)



Slika 15: Rezultati pri bakteriji *E. coli* pri dodajanju 6 mg medicinskega aktivnega oglja pri redčitvi s faktorjem 10^{-8} (Lastni vir)

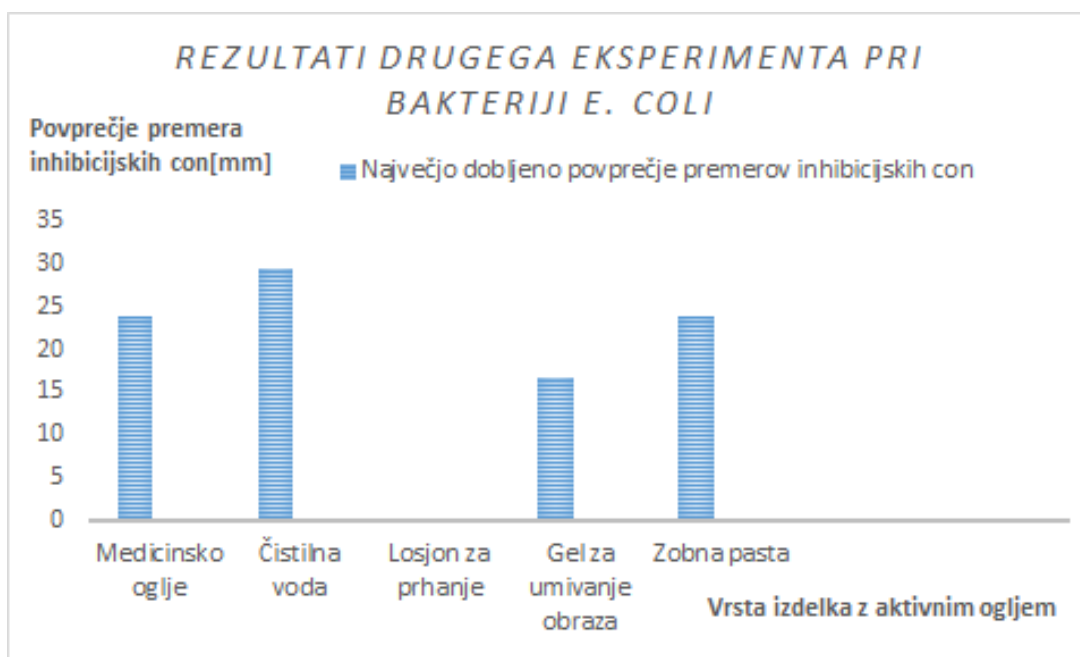
2. Praktični del: Difuzijski antibiogram z diski

E. coli

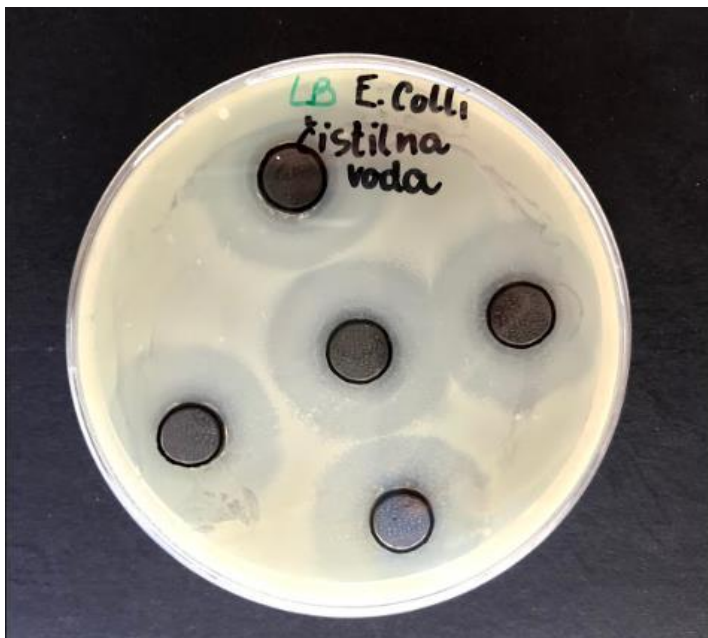
Tabela 7: Rezultati drugega eksperimenta pri bakteriji *E. coli* (Lastni vir)

Vrsta izdelka z aktivnim ogljem	Povprečje premera inhibicijskih con 1. poskus (z diski) v mm	Povprečje premera inhibicijskih con 2. poskus (z luknjami) v mm
Medicinsko oglje	0*	20,63
Čistilna voda	12,53	29,40
Losjon za prhanje	popolna konfluentna rast	popolna konfluentna rast
Gel za umivanje obraza	16,66	15,72
Zobna pasta	10,24	23,87

*premajhna koncentracija oglja ali morebitna kontaminacija diskov



Graf 3: Največje pridobljeno povprečje premerov inhibicijskih con pri bakteriji *E. Coli* (Lastni vir)



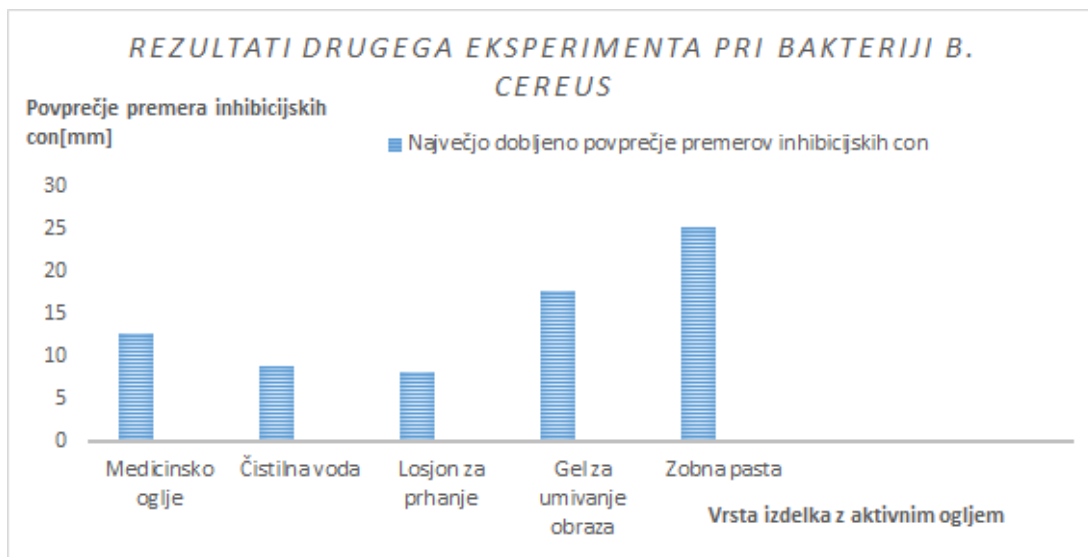
Slika 16: : Difuzijski antibiogram pri bakteriji *E. coli* pri dodajanju čistilne vode (Lastni vir)

B. *Cereus*

Tabela 8: Rezultati drugega eksperimenta pri bakteriji *B. Cereus* (Lastni vir)

Vrsta izdelka z aktivnim ogljem	Povprečje premera inhibicijskih con 1. poskus (z diski) v mm	Povprečje premera inhibicijskih con 2. poskus (z luknjami) v mm
Medicinsko oglje	0*	12,8
Čistilna voda	8,85	0
Losjon za prhanje	8,16	Popolna konfluentna rast
Gel za umivanje obraza	17,74	0
Zobna pasta	14,84	25,19

*premajhna koncentracija oglja

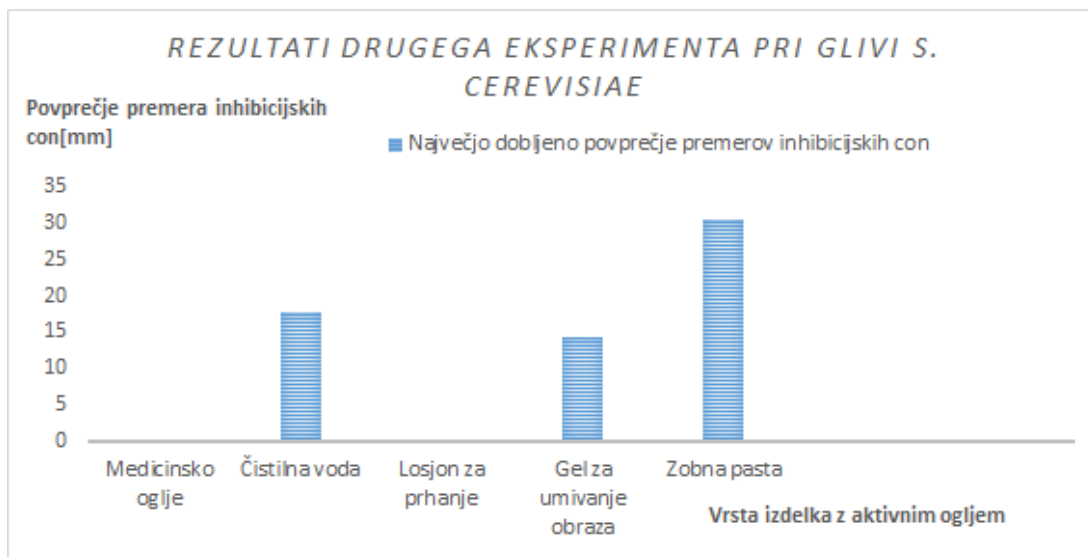


Graf 4: Največje pridobljeno povprečje premerov inhibicijskih con pri bakteriji *B. Cereus* (Lastni vir)

S. cerevisiae

Tabela 9: Rezultati drugega eksperimenta pri glivi *S. cerevisiae* (Lastni vir)

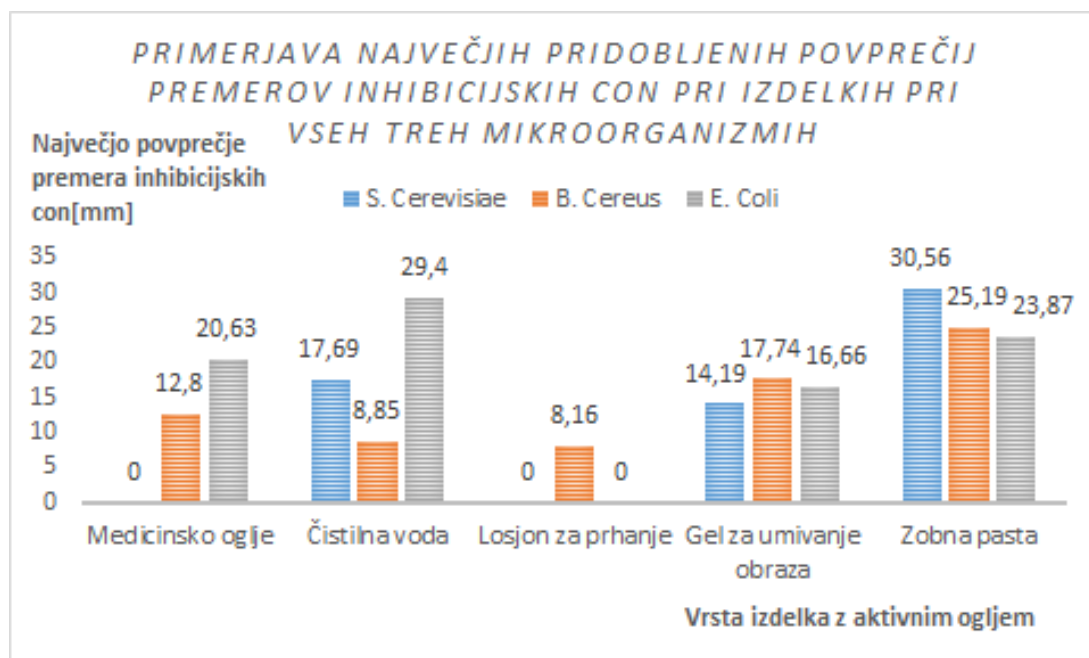
Vrsta izdelka z aktivnim ogljem	Povprečje premera inhibicijskih con (v mm)
Medicinsko oglje	popolna konfluentna rast
Čistilna voda	17,69
Losjon za prhanje	popolna konfluentna rast
Gel za umivanje obraza	14,19
Zobna pasta	30,56



Graf 5: Največje pridobljeno povprečje premerov inhibicijskih con pri glivi *S. Cerevisiae* (Lastni vir)



Slika 17: Difuzijski antibiogram ob dodani zobni pasti z aktivnim ogljem pri glivi *S. cerevisiae* (Lastni vir)



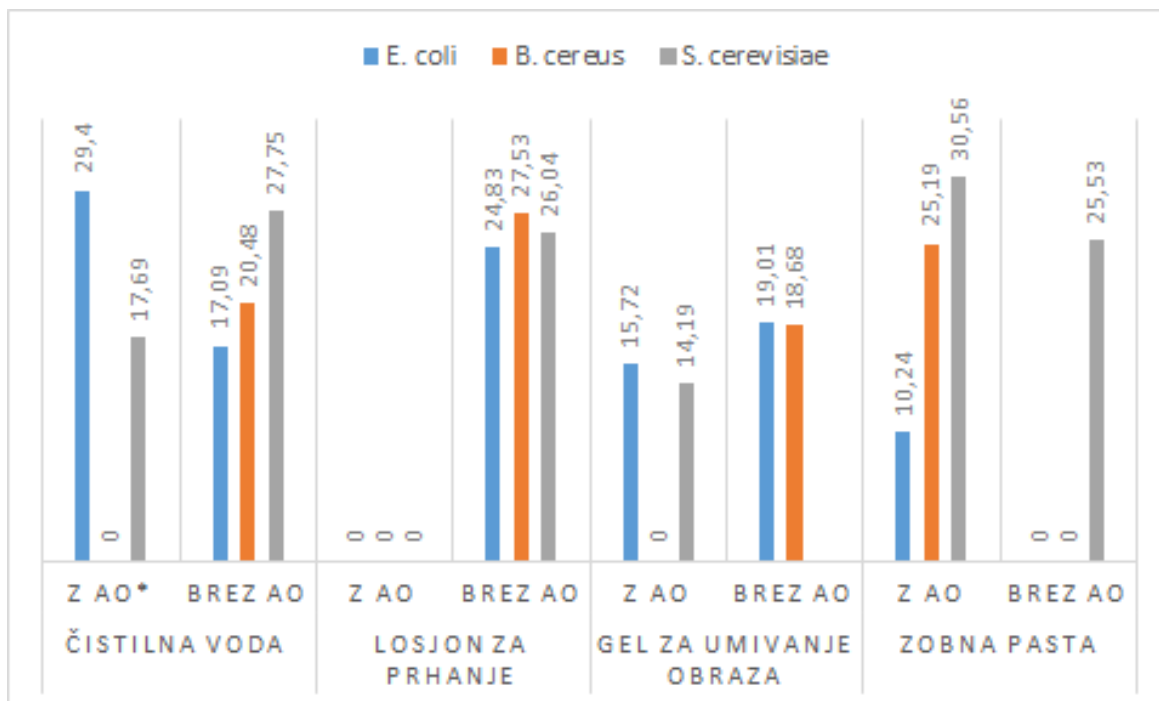
Graf 6: Primerjava povprečij premerov inhibicijskih con pri izdelkih pri vseh treh mikroorganizmih (Lastni vir)

Kontrola z izdelki brez aktivnega oglja:

Tabela 10: Premeri inhibicijskih con pri dodajanju izdelkov brez dodanega aktivnega oglja (v mm) (Lastni vir)

	Čistilna voda	Losjon za prhanje	Gel za umivanje obraza	Zobna pasta
<i>B. cereus</i>	20,48	27,53	18,68	0
<i>E. coli</i>	17,09	24,83	19,01	0
<i>S. cerevisiae</i>	27,75	26,04	*	25,53

*gel se je razlil iz luknjice v gojišču, zato meritev inhibicijske cone ni bila mogoča



Graf 7: Primerjava povprečij premerov inhibicijskih con (v mm) pri izdelkih z dodanim aktivnim ogljem in brez (Lastni vir)

*Aktivno oglje

	Povprečje premera inhibicijskih con (v mm)		
	<i>E. coli</i>	<i>B. cereus</i>	<i>S. cerevisiae</i>
Antibiotik Streptomycin	8	22,07	9,56
Antibiotik Chloramphenicol	16,28	15,93	8,16

Slika 18: Difuzijski antibiogram pri pozitivni kontroli pri vseh treh mikroorganizmih (Lastni vir)

4. RAZPRAVA

H1: Z rezultati drugega eksperimenta, ki so bili pridobljeni z metodo antibiograma, lahko potrdimo prvo hipotezo. Za primerjavo smo uporabili rezultate drugega ponovitve (meritve inhibicijskih con pri dodajanju medicinskega aktivnega oglja), saj smo pri tem v čaše dodali več gramov izdelka z aktivnim ogljem in dodali manjšo količino bakterij v petrijevke, zaradi česar so rezultati bili boljši in na sploh bolj primerljivi. Kljub temu, nismo pri vseh meritvah dobili povsem potrjujočih rezultatov. Pri bakteriji *E. coli* so nastale največje inhibicijske cone s povprečnim premerom 20,63 mm. Pri bakteriji *B. cereus* so bile nekoliko manjše (povprečni premer 12,8 mm). Pri glivi *S. cerevisiae* je prišlo do popolne konfluentne rasti. Morebiten razlog za to je lahko to, da se po nekem časovnem obdobju pore aktivnega oglja nehajo polniti, ker se površina aktivnega oglja, ki je dostopna za adsorpcijo zmanjša. Gojišče YEPD za *S. cerevisiae* ima drugačne spojine kot LB-gojišče, ki jih lahko oglje drugače adsorbira, zato je do konfluentne rasti prišlo le pri glivah *S. cerevisiae*.

Ne glede na elektrostatski odboj med negativno nabitimi mikroorganizmi in površino aktivnega oglja se mikroorganizmi pritrdijo na aktivno oglje z Van der Waalsovimi silami. Elektrostatska privlačnost med negativno nabitimi površinami celic mikroorganizmov in pozitivno nabitimi delci aktivnega oglja je močna. Zato pride do spremembe strukture mikroorganizma in zaradi zaustavitve izmenjave protonov celica umre. (Karnib et al., 2013) Mislimo tudi, da je oglje adsorbiralo hranila, ki so potrebna za preživetje mikroorganizmov, saj zaradi svoje hidrofobne strukture je zmožno odstraniti organske snovi iz raznih tekočin in plinov, na način adsorpcije njihovih organskih kompleksov. (Sheila P., Danyetta Davis, 2017)

Ta dva dejavnika sta bila ključnega pomembna pri ustvarjanju neugodnega okolja za preživetje mikroorganizmov, zato smo lahko zasledili nastanek inhibicijskih con okoli lukenj z izdelki.

Antimikrobni učinki aktivnega oglja so bili dokazani tudi v drugih raziskavah. Pri tem so bile v različne oblike aktivnega oglja vključene dodatne snovi: srebro pri raziskavah Yoon et al, 2007; Arabaci, Altintig, 2012 in Zhang et al, 2004 ter baker pri raziskavi Kim, Park, 2008. Da bi izboljšali antimikrobni učinek aktivnega oglja v naši raziskavi, bi lahko dodali srebro ali baker. Učinkoviti antimikrobni agens - srebro vzajemno vpliva na bakterijske membrane, s tem pa povzroča strukturno spremembo, zaradi česa se izmenjava protonov zaustavi in celica umre. (Yoon et al, 2007)

H2: Največjo antimikrobno učinkovitost pri metodi štetja kultur, bo pokazala največja koncentracija uporabljenega aktivnega oglja redčena z najmanjšim faktorjem redčitve.

Druge hipoteze ne moremo potrditi. Pri dodajanju 6 mg aktivnega oglja za čiščenje zob je nastalo najmanj kolonij pri redčitvi s faktorjem 10^{-8} , pri dodajanju 6 mg medicinskega aktivnega oglja pa je najmanj kolonij nastalo pri redčitvi s faktorjem 10^{-6} . Pri dodajanju 12,5

mg aktivnega oglja za čiščenje zob je najmanj kolonij nastalo pri redčitvi s faktorjem 10^{-8} (enak rezultat je bil pri medicinskem oglju). Pri dodajanju 20 mg aktivnega oglja za čiščenje zob je nastalo najmanj kolonij pri redčitvi s faktorjem 10^{-8} , pri dodajanju 6 mg medicinskega aktivnega oglja je bilo število kolonij v vseh treh redčitvah neštevno. Del hipoteze tako ostaja nepotrjen. Če med seboj primerjamo maso dodanega oglja pri določenih redčitvah dobimo naslednje ugotovitve. Pri redčitvi s faktorjem 10^{-6} pri dodajanju aktivnega oglja za čiščenje zob je pri dveh petrijevkah prišlo da konfluentne rasti, pri tretji je bilo število kolonij neštevno; medtem ko je pri medicinskem aktivnem oglju najmanj kolonij nastalo ravno pri 6 mg dodanega oglja. Pri redčitvi s faktorjem 10^{-7} pri dodajanju aktivnega oglja za čiščenje zob je najmanj bakterij nastalo pri dodajanju 6 mg oglja; pri medicinskem oglju je bilo število nastalih kolonij prav tako neštevno. Pri redčitvi s faktorjem 10^{-8} pri dodajanju aktivnega oglja za čiščenje zob je najmanj kolonij nastalo pri 6 mg dodanega oglja; pri medicinskem oglju pa je bilo število nastalih kolonij v dveh primerih neštevno. Torej v vseh primerljivih meritvah se kaže dejstvo, da pri dodajanju največje količine aktivnega oglja dosežemo najslabši antimikrobni učinek. Najverjetneje je to posledica pomanjkljivosti metode, ki bi jo lahko izboljšali s primernejšo količino bakterij (dobro bi bilo, da bi uporabili metodo izračuna dodanih celic kulture) in aktivnega oglja (torej manjša količina bakterij in večja količina oglja).

H3: Medicinsko oglje je v primerjavi s kozmetičnim ogljem bolj adsorptivno, zato je njegov antimikrobni učinek na vse tri mikrobe večji.

Z raziskavo smo lahko ovrgli našo tretjo hipotezo. Vidimo, da je bil večji antimikrobni učinek dosežen pri aktivnem oglju za čiščenje zob kot pa pri medicinskem aktivnem oglju. Vidimo, da je pri 6 mg dodanega oglja pri redčitvi s faktorjem 10^{-7} in 10^{-8} , pri 12,5 mg dodanega oglja pri redčitvi s faktorjem 10^{-8} ter pri 20 mg dodanega oglja pri redčitvi s faktorjem 10^{-8} , nastalo manj kolonij pri dodajanju aktivnega oglja za čiščenje zob, kot pa pri dodajanju medicinskega aktivnega oglja, kar pomeni, da ima večji antimikrobni učinek prav aktivno oglje za čiščenje zob in ne medicinsko aktivno oglje kot smo pričakovali. Razlaga za to je lahko različna velikost por in posledično večja ploščina notranje površine, torej je verjetno pri aktivnem oglju za čiščenje zob površina večja. Najverjetneje je razlog za slabše rezultate aktivnega medicinskega oglja v primerjavi z aktivnim ogljem za čiščenje zob ravno v primeseh, ki so prisotne v tabletirani obliki medicinskega oglja (natrijev karmelozat, laktoza monohidrat, magnezijev stearat in saharoza). (Lekarnar, 2014)

H4: Kozmetični in zdravstveni izdelki, ki vsebujejo aktivno oglje imajo različne antimikrobne učinke.

Četrto hipotezo smo lahko potrdili. Za primerjavo učinkov testiranih izdelkov z aktivnim ogljem lahko primerjamo premere inhibicijskih con difuzijskega antibiograma (in sicer z luknjami v agar, saj ima ta primerljivejše rezultate). Opazimo, da ima največji antimikrobni učinek za *E. coli* čistilna voda (povprečen premer inhibicijske cone 29,40 mm), za *B. cereus* in *S. cerevisiae* pa zobna pasta. Pri tem, če primerjamo zobno pasto z dodanim aktivnim ogljem

in brez, lahko ugotovimo, da se v pri zobni pasti brez oglja inhibicijske cone niso razvile pri *E. coli* in *B. cereus*, pri *S. cerevisiae* pa je bil premer manjši (25,53 mm), kot pri zobni pasti z ogljem (30,56 mm v povprečju). Zato lahko sklepamo, da je prav zobna pasta z dodanim aktivnim ogljem imela največji antimikrobni učinek. Najslabši antimikrobni učinek je imel losjon za prhanje, saj je pri vseh mikroorganizmih prišlo do popolne konfluentne rasti, kar je lahko posledica prenehanja polnjenja por po nekem časovnem obdobju zaradi omejene površine notranjih por. Domnevamo, da je do popolne rasti prav tako prišlo zaradi dodanega glicerola, ki nudi mikroorganizmom ugodno okolje za rast. V primerjavi s pozitivno kontrolo eksperimenta oz. učinkom antibiotikov Streptomicina in Chloramfenicola na *E. coli* so inhibicijske cone pri vseh izdelkih z dodanim ogljem razen losjona za prhanje bile večje, kot pri antibiotikih. Pri *B. cereus*, pa so antibiotiki dosegli večji antimikrobni učinek, zaradi večjih inhibicijskih con kot izdelki z ogljem. Pri *S. cerevisiae* so se oblikovale večje inhibicijske cone pri izdelkih z ogljem, kot pri antibiotikih (z izjemo pri medicinskem oglju in losjonu za prhanje, kjer je prišlo do konfluentne rasti). S to primerjavo lahko ugotovimo, da imajo izdelki z dodanim aktivnim ogljem večji antimikrobni učinek kot antibiotiki pri *E. coli* in *S. cerevisiae*, ter de je *B. cereus* je bolj odporna na testirane izdelke kot na antibiotike. Do različnega učinka lahko pride zaradi različnih lastnosti uporabljenega aktivnega oglja. Aktivno oglje v različnih izdelkih lahko ima različno izvirno biomaso in posledično različno porazdelitev velikosti por (s tem tudi različno ploščino notranje površine) različno naravo površine in različne funkcionalne skupine na površini. (O. Cooney, 1995)

Našo raziskavo bi lahko še izboljšali s tem, da bi preverjali vpliv kozmetičnih izdelkov z aktivnim ogljem na bakterije, ki živijo na naši koži. S tem bi dali raziskavi večjo praktično težo. Primer takih bakterij so korinebakterije, propionobakterije, itd. (Regina Bailey, 2018). Poleg tega bi lahko v okviru ustreznih zdravstvenih institucij, opravili in vivo teste, s katerimi bi načrtno opazovali, kako vpliva medicinsko oglje na ljudi ob raznih okužbah. Prav tako bi lahko izmerili adsorpcijsko kapaciteto aktivnega oglja, ki ga vsebujejo različni izdelki.

Antimikrobna učinkovitost aktivnega oglja je bila prikazana, a vsekakor bi bilo dobro ugotoviti v kakšni meri in količini je oglje dobro uporabljati, glede na to, da je prosto dostopno v prodaji in podano v uporabo na različne načine. Nadaljnje raziskave bi lahko potekle o zdravilih z večjim in hitrejšim učinkom glede na število in velikost por aktivnega oglja.

Dosegli smo cilj naše raziskave, tako, da smo primerjali vplive različnih koncentracij aktivnega oglja in izdelkov, ki ga vsebujejo, na bakterije *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* in glive *Saccharomyces cerevisiae* v gojiščih in tako ugotovili antimikrobno učinkovitost aktivnega oglja. Uspešno smo odgovorili smo tudi na raziskovalno vprašanje (*Ali aktivno oglje in izdelki, ki ga vsebujejo, ima/ima jo kakršnekoli antimikrobne učinke na bakterije E. coli, B. cereus in glive S. cerevisiae?*), tako, da smo potrdili določene antimikrobne učinke aktivnega oglja.

5. ZAKLJUČEK

Namen raziskovalne naloge je bil primerjava vpliva različnih izdelkov, ki vsebujejo aktivno oglje na bakteriji *E. coli* in *B. cereus* in glivo *S. cerevisiae* v gojiščih. S tem smo ugotovili antimikrobno učinkovitost aktivnega oglja.

V okviru raziskovalne naloge smo opravili praktično delo z dvema ustaljenima metodama.

V prvem praktičnem delu, kjer smo uporabili plate-counting metodo smo potrdili, da ima aktivno oglje antimikrobni vpliv na testirane mikroorganizme, saj je pri večji koncentraciji aktivnega oglja nastalo manj kolonij bakterij, kot pa pri manjši koncentraciji aktivnega oglja. Pri tem smo ugotovili, da ima oglje za čiščenje zob večji antimikrobni učinek kot medicinsko oglje, kar je bilo nepričakovano. To se je pokazalo tako, da je pri dodanem oglju za čiščenje obraza nasploh (v vseh redčitvah in koncentracijah) nastalo manj kolonij bakterij, kot pri medicinskem oglju, kjer je bilo število bakterij nekajkrat tudi neštevno (nad 300). Metodo štetja kolonij smo ponovili dvakrat.

Pri metodi difuzijskih antibiogramov smo potrdili, da ima aktivno oglje antimikrobne učinke na izbrani bakteriji *E. coli* in *B. cereus* ter na glive kvasovke *S. cerevisiae*. Ugotovili smo, da ima največji antimikrobni učinek na *E. coli*, kjer so nastale tudi največje inhibicijske cone (povprečen premer: 20,63 mm). Učinkoval je tudi na *B. cereus* (povprečen premer: 12,8 mm) in na glive kvasovke, vendar ne tako izrazito, saj je v nekaterih primerih prišlo do popolne konfluentne rasti.

Ugotovili smo, da imajo različni izdelki, ki vsebujejo aktivno oglje, različne antimikrobne učinke na različne mikroorganizme. Pri *E. coli* je največji učinek imela čistilna voda. Pri *B. cereus* in *S. cerevisiae* je največji učinek imela zobna pasta. S tem lahko sklepamo, da je največji antimikrobni učinek med izdelki imela zobna pasta, dobro je učinkovala tudi čistilna voda, medtem ko je najslabši učinek imel losjon za prhanje zaradi dodanega glicerola. Naredili smo tudi difuzijski antibiogram, kjer smo preverjali antimikrobne učinke izdelkov, ki so bili podobni tistim z aktivnim ogljem, le da niso vsebovali aktivnega oglja. To nam je služilo za primerjavo navadnih izdelkov in izdelkov z aktivnim ogljem. Ugotovili smo, da ima med navadnimi izdelki največji antimikrobni učinek v povprečju losjon za prhanje. Pri bakteriji *E. coli* in *B. cereus* je največji antimikrobni učinek imel losjon za prhanje, pri glivah kvasovkah *S. cerevisiae* pa čistilna voda. Na glive *S. cerevisiae* je imela zobna pasta največji antimikrobni učinek. Na bakterije *B. cereus* je največji antimikrobni učinek imel losjon za prhanje.

Z rezultati naše raziskave lahko kljub pozitivnim učinkom aktivnega oglja sklepamo, da je njegova pretirana uporaba škodljiva, saj lahko ob odstranitvi patogeničnih bakterij odstrani tudi nepatogenične bakterije in bakterije, ki pozitivno delujejo na naš organizem.

Z našo raziskavo smo potrdili antimikrobni učinek aktivnega oglja. Upamo, da smo prispevali k boljšemu razumevanju lastnosti in delovanja te snovi in vzpodbudili zanimanje za to snov.

6. DRUŽBENA ODGOVORNOST

Aktivno oglje lahko dandanes najdemo v skoraj vseh trgovinah. Do njega ima lahek dostop vsak, lahko ga najdemo tudi v spletnih trgovinah. Večino aktivnega oglja v Sloveniji je uvoženega, kar lahko ugotovimo tudi po dvojnem poimenovanju oglja (aktivno oglje in aktivirano oglje). V raziskavi smo uporabili veliko izdelkov, ki vsebujejo aktivno oglje, pri čemer so se nekateri izkazali za bolj učinkovite in nekateri manj. Iz tega razloga priporočamo podroben ogled izdelka pred nakupom, saj lahko videz embalaže/napisa zavede kupce.

Z našo raziskovalno nalogo želimo spodbuditi nadaljnje raziskovanje na temo aktivnega oglja.

7. VIRI IN LITERATURA

1. ANNE MARIE HELMENSTINE, Ph. D., 2018. *Angstrom definition(Physics and Chemistry)*[on-line]. Dostopno na spletnem naslovu: <https://www.thoughtco.com/definition-of-angstrom-604780> [2. 2. 2019]
2. ARABACI, G., ALTINTIG, E. 2012. *Investigation of silver-dispersed activated carbon* [on-line]. Dostopno na spletnem naslovu: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1871678412003093?via%3Dihub> [12. 1. 2019].
3. AWANO, T., FUJITA, M. 2001. *Molecular Breeding of Woody Plants* [on-line]. Dostopno na spletnem naslovu: <https://www.sciencedirect.com/topics/biochemistry-genetics-and-molecular-biology/xylan> [2. 2. 2019].
4. BD. 2019. *Yeast Extract-Peptone-Dextrose (YPD) Agar Yeast Extract-Peptone-Dextrose (YPD) Broth* [on-line]. Dostopno na spletnem naslovu: https://www.bd.com/europe/regulatory/Assets/IFU/Difco_BBL/242820.pdf [21. 1. 2019].
5. BEAUTYMUNSTA, 2018. *12 Beauty Benefits of Activated Charcoal for Skin, Hair&More* [on-line]. Dostopno na spletnem naslovu: <https://beautymunsta.com/beauty-benefits-of-activated-charcoal-for-skin-hair/>
6. BITEKS. 2019. *Kemija v šoli in družbi, Adsorpcija*[on-line]. Dostopno na spletnem naslovu: <https://kemija.net/slovarcek/84> [2. 2. 2019]
7. BRITANNICA LIBRARY. 2018. *Escherichia coli* [on-line]. Dostopno na spletnem naslovu: <https://library-eb-co-uk.evirilook.sik.si/levels/adult/article/E-coli/472242> [13. 1. 2019].
8. CHAEMSANIT, S. et al. 2017. *Activated carbon for food packaging application: Review* [on-line]. Dostopno na spletnem naslovu: <http://web.a.ebscohost.com.evirilook.sik.si/ehost/detail/detail?vid=14&sid=bfc35d02-36eb-453a-80ac-71d5b8af1b4f%40sessionmgr4006&bdata=Jmxhbm9c2wmc2l0ZT1laG9zdC1saXZlJnNjb3BIPXNpdGU%3d#AN=128424566&db=afh> [12. 1. 2019].
9. COHEN, E., KRAUSE, I. 2015. *Anti-Saccharomyces cerevisiae Antibodies Autoimmune Diseases* [on-line]. Dostopno na spletnem naslovu: <https://www.sciencedirect.com/topics/neuroscience/saccharomyces-cerevisiae> [19. 1. 2019]
10. COKAN, A. et al. 2005. *Antiseptiki* [on-line]. Dostopno na spletnem naslovu: <http://www.dsms.net/hista/farma/seminarji/2005-05-05%20Antiseptiki.doc> [10. 1. 2019].
11. DESMARCHELIER, P., FEGAN, N. *Pathogens in Milk: Escherichia coli* [on-line]. Dostopno na spletnem naslovu: <http://www.dsms.net/hista/farma/seminarji/2005-05-05%20Antiseptiki.doc> [4. 2. 2019].

12. DUBNIN, M. M. 1989. *Fundamentals of the theory of adsorption in micropores of carbon adsorbents: Characteristics of their adsorption properties and microporous structures* [on-line]. Dostopno na spletnem naslovu: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/000862238990078X#!> [2. 2. 2019].
13. EUČBENIKI, 2016. *Kemija 2, Koordinacijske spojine* [on-line]. Dostopno na spletnem naslovu: <http://eucbeniki.sio.si/kemija2/1665/index.html> [2. 02. 2019]
14. ERICKSON, T. 2004. *Famous (And Not So Famous) Events in Toxicological History: Activated Carbon: Universal Antidote or Black Magic* [on-line]. Dostopno na spletnem naslovu: <file:///C:/Users/User/Downloads/mar%202015%20activated%20charcoal%20aact.pdf> [22. 1. 2019].
15. FARES R et al, 2018. *Biological Treatment of Wastewater by Addition of Activated Carbon Powder (CAP)* [on-line]. Dostopno na spletnem naslovu: <http://www.imedpub.com/articles/biological-treatment-of-wastewater-by-addition-of-activated-carbon-powder-cap.php?aid=22408> [5. 2. 2019].
16. FRIM, D. 2006. Postopek čiščenja odpadnih vod z adsorpcijo na aktivno oglje. *Okoljska vzgoja v šoli: revija za medpredmetno področje v programih osnovnih in srednjih šol*, let. 8, št. 2, str. 23-28.
17. FOOD STANDARDS AUSTRALIA & NEW ZELAND. 2013. *Bacillus cereus - Food Standards Australia New Zeland* [on-line]. Dostopno na spletnem naslovu: <https://www.foodstandards.gov.au/publications/Documents/Bacillus%20cereus.pdf> [3. 2. 2019].
18. GLASSET, B. et al. 2018. *Bacillus Cereus, a Serious Cause of Nosocomial Infections: Epidemiologic and Genetic Survey* [on-line]. Dostopno na spletnem naslovu: <http://web.a.ebscohost.com.eviri.ook.sik.si/ehost/detail/detail?vid=11&sid=9145a161-f4c0-4a26-9b9e-1eaca7e14310%40sdc-v-sessmgr05&bdata=Jmxhbm9c2wmc2l0ZT1laG9zdC1saXZlJnNjb3BIPXNpdGU%3d#db=cmedm&AN=29791442> [13. 1. 2019].
19. HUGHMANICK BERGER, A., S. BROWN, A. 2011 *Comparing Physisorption and Chemisorption Solid Sorbents for use Separating CO2 from Flue Gas using Temperature Swing Adsorption* [on-line]. Dostopno na spletnem naslovu: https://ac.els-cdn.com/S1876610211000919/1-s2.0-S1876610211000919-main.pdf?_tid=d074633e-5493-4b22-ac03-650848d30db7&acdnat=1549113215_a1be8128f4d58d2200895b74ceabca10 [2. 2. 2019].
20. IUPAC, 2019. *Who we are* [on-line]. Dostopno na spletnem naslovu: <https://iupac.org/who-we-are/> [5. 2. 2019]
21. J ALKHATIB, A., AL ZAILAEY, K. 2015. *Medical and Environmental Applications of Activated Charcoal: Review Article* [on-line]. Dostopno na spletnem naslovu: <https://eujournal.org/index.php/esj/article/download/4987/4791> [10. 1. 2019].

22. J ALKHATIB, A., AL ZAILAEY, K. 2018. *The Appropriate Use of Activated Charcoal in Pharmaceutical and Toxicological Approaches* [on-line]. Dostopno na spletnem naslovu: <https://biomedres.us/pdfs/BJSTR.MS.ID.001170.pdf> [10. 1. 2019].
23. J. BOTTONE, E. 2010. *Bacillus cereus, a Volatile Human Pathogen* [on-line]. Dostopno na spletnem naslovu: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2863360/> [3. 2. 2019].
24. KALPAKA CHEMICALS, 2015. *Activated Charcoal in Cosmetics* [on-line]. Dostopno na spletnem naslovu: <https://www.kalpakachemicals.com/activated-charcoal-in-cosmetics.html>
25. KARNIB, M. et al. 2013. *The Antibacterial Activity of Activated Carbon, Silver, Silver Impregnated Activated Carbon and Silica Sand Nanoparticles against Pathogenic E. coli BL21* [on-line]. Dostopno na spletnem naslovu: <https://pdfs.semanticscholar.org/1409/b7f113ecef362c3d2a788151900722e3d872.pdf> [20. 1. 2019].
26. KARTHIK, K., SARASWATHY, C.P. 2015. *Antimicrobial Activity of Chemically modified Activated carbon of Tribulus terrestris* [on-line]. Dostopno na spletnem naslovu: <file:///C:/Users/User/Downloads/AntimicrobialActivityofChemicallymodifiedTTAC.pdf> [20. 1. 2019].
27. KIM, B.-J., PARK, S.-J. 2008. *Antibacterial behavior of transition-metals-decorated activated carbon fibers* [on-line]. Dostopno na spletnem naslovu: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021979708006097> [12. 1. 2019].
28. LAB MUFFIN, 2018. *Activated Charcoal in skincare* [on-line]. Dostopno na spletnem naslovu: <https://labmuffin.com/fact-check-how-does-activated-charcoal-work-in-skincare/>
29. LEKARNAR, 2014. *Navodilo za uporabo. Carbo medicinalis 150 mg disperzibilne tablete, aktivno oglje* [on-line]. Dostopno na spletnem naslovu: https://www.lekarnar.com/spree/products/18990/original/Carbo_tbl_PIL_jun2014.pdf?1443182869 [21. 1. 2019].
30. MARRIAM-WEBSTER. 2019. *Medical Definition of fulminant*. [on-line]. Dostopno na spletnem naslovu: <https://www.merriam-webster.com/dictionary/fulminant#medicalDictionary> [3. 2. 2019].
31. MAYO CLINIC. 2019. *Charcoal, Activated (Oral Route)* [on-line]. Dostopno na spletnem naslovu: <https://www.mayoclinic.org/drugs-supplements/charcoal-activated-oral-route/description/drg-20070087> [21. 1. 2019].
32. MICROBIAL GROWTH WEBSITE. 2019. *Plate Counting* [on-line]. Dostopno na spletnem naslovu: http://users.aber.ac.uk/hlr/mpbb/index_files/Page299.html [21. 1. 2019].
33. MOŽINA, M., GRENC, D. 2009. *Antidoti* [on-line]. Dostopno na spletnem naslovu: <http://www.dlib.si/?URN=URN:NBN:SI:DOC-X2AQBZJ4> [10. 1. 2019].
34. MUNDASAD, S. 2011. *E. coli: Are the Bacteria Friend or Foe* [on-line]. Dostopno na spletnem naslovu: <https://www.bbc.com/news/health-13639241> [15. 1. 2019].

35. NIJZ. 2013. *BACILLUS CEREUS (Bacillus cereus, B. cereus) V ŽIVILIH* [on-line]. Dostopno na spletnem naslovu: http://www.nijz.si/sites/www.nijz.si/files/uploaded/bcereus_04082015.pdf [3. 2. 2019].
36. NIJZ. 2013. *ESCHERICHIA COLI (E. coli) V ŽIVILIH* [on-line]. Dostopno na spletnem naslovu: http://www.nijz.si/sites/www.nijz.si/files/uploaded/ecoli_05082015.pdf [4. 2. 2019].
37. NOOMA, L., FREEMAN, J. 2018. *Bacillus cereus and other non-anthraxis Bacillus species* [on-line]. Dostopno na spletnem naslovu: <https://www.upToDate.com/contents/bacillus-cereus-and-other-non-anthraxis-bacillus-species> [3. 2. 2019].
38. O. COONEY, D. 1995. *Activated Charcoal in Medical Applications* [on-line]. Dostopno na spletnem naslovu: file:///C:/Users/User/Downloads/9781482206883_googlepreview.pdf [10. 1. 2019].
39. OGUZ ERDOGAN, F. 2015. *Characterization of the Activated Carbon Surface of Cherry Stones Prepared by Sodium and Potassium Hydroxide* [on-line]. Dostopno na spletnem naslovu: <http://web.a.ebscohost.com.evirilook.sik.si/ehost/detail/detail?vid=17&sid=bfc35d02-36eb-453a-80ac-71d5b8af1b4f%40sessionmgr4006&bdata=Jmxhbm9c2wmc2l0ZT1laG9zdC1saXZlJnNjb3BIPXNpdGU%3d#AN=114328023&db=afh> [12. 1. 2019].
40. PALMAN, A. 2006. *Toksigenost sevov bakterije vrste Bacillus cereus iz živil*. [on-line]. Dostopno na spletnem naslovu: http://www.digitalna-knjiznica.bf.uni-lj.si/dn_palman_anja.pdf [3. 2. 2019].
41. REGINA BAILEY, 2018. *5 Types of Bacterias That Live on Your skin* [on-line]. Dostopno na spletnem naslovu: <https://www.thoughtco.com/bacteria-that-live-on-your-skin-373528> [5. 2. 2019]
42. SCIENCESTRUCK STAFF, 2018. *Understanding the basic difference between Adsorption and Absorption* [on-line]. Dostopno na spletnem naslovu: <https://www.google.com/amp/s/sciencestruck.com/difference-between-adsorption-absorption.amp> [23. 1. 2019].
43. SEO, D. 2013. *The Saccharomyces cerevisiae World* [on-line]. Dostopno na spletnem naslovu: <http://danielseobiodiversity.blogspot.com/> [2. 2. 2019].
44. SHEILA P., D., DANYETTA DAVIS, A. 2017. *Activated Charcoal: A Consideration for Use in Primary Care Practice of Advanced Practise Nurses* [on-line]. Dostopno na spletnem naslovu: <http://web.a.ebscohost.com.evirilook.sik.si/ehost/detail/detail?vid=8&sid=9145a161-f4c0-4a26-9b9e-1eaca7e14310%40sdc-v-sessionmgr05&bdata=Jmxhbm9c2wmc2l0ZT1laG9zdC1saXZlJnNjb3BIPXNpdGU%3d#db=afh&AN=125586777> [13. 1. 2019].
45. SIGMA-ALDRICH, 2019. *LB Agar and LB Broth* [on-line]. Dostopno na spletnem naslovu: <https://www.sigmaaldrich.com/life-science/molecular-biology/molecular-biology-products.html?TablePage=9618513> [21. 1. 2019]

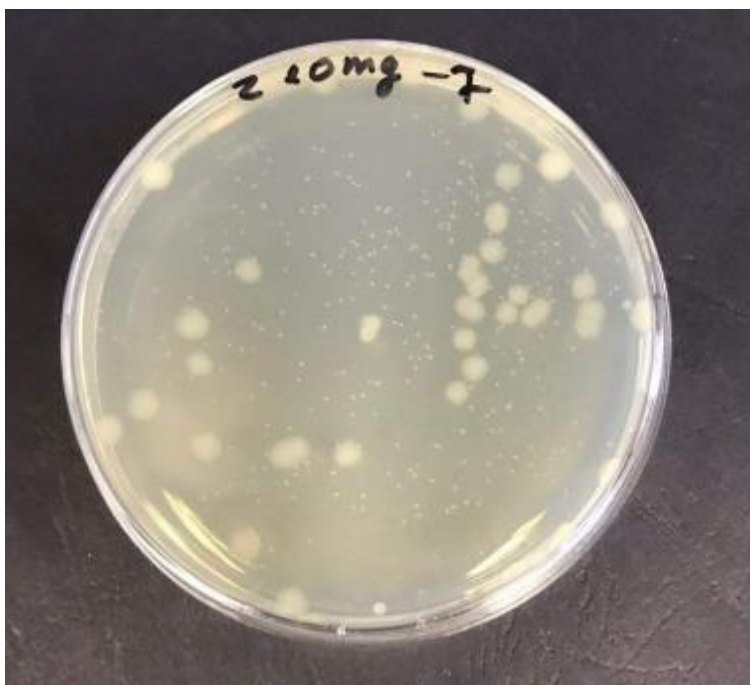
46. SZIM, 2015. *Specializacije* [on-line]. Dostopno na spletnem naslovu: <https://www.szim.si/projekti/specializacije/>
47. ŚWIDERSKA-DĄBROWSKA, R. et al. 2018. *Preliminary Studies of Synthetic Dye Adsorption on Iron Sludge and Activated Carbon* [on-line]. Dostopno na spletnem naslovu: <http://web.a.ebscohost.com/eviri.ook.sik.si/ehost/detail/detail?vid=4&sid=9145a161-f4c0-4a26-9b9e-1eaca7e14310%40sdc-v-sessmgr05&bdata=Jmxhbm9c2wmc2l0ZT1laG9zdC1saXZlJnNjb3BIPXNpdGU%3d#AN=131503700&db=afh> [13. 1. 2019].
48. TENAILLON, O. et al. 2010. *The population and genetics of commensal Escherichia coli* [on-line]. Dostopno na spletnem naslovu: <https://www.nature.com/articles/nrmicro2298> [22. 1. 2019].
49. TURK, M., ZALAR, P. 2012. *Mikrobiologija - praktikum* [on-line]. Dostopno na spletnem naslovu: http://web.bf.uni-lj.si/bi/biologija-mikroorganizmov/Studenti/Gradivo/Datoteke/scripta_osnove_mikro_2012.pdf [10. 1. 2019].
50. USP, 2019. *About USP* [on-line]. Dostopno na spletnem naslovu: <https://www.usp.org/about>
51. WIKIPEDIA. 2019. *Bacillus cereus* [on-line]. Dostopno na spletnem naslovu: https://en.wikipedia.org/wiki/Bacillus_cereus [15. 1. 2019].
52. YAHYA, M.A. et al, 2015. *Agricultural bio-waste materials as potencial sustainable percursors used for activated carbon production: A review* [on-line]. Dostopno na spletnem naslovu: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1364032115001392> [5. 2. 2019].
53. YANG, X. et al. 2017. *Behaviors and kinetics of taluene adsorption-desorption with varying pore structure* [on-line]. Dostopno na spletnem naslovu: <http://web.a.ebscohost.com/eviri.ook.sik.si/ehost/detail/detail?vid=22&sid=bfc35d02-36eb-453a-80ac-71d5b8af1b4f%40sessionmgr4006&bdata=Jmxhbm9c2wmc2l0ZT1laG9zdC1saXZlJnNjb3BIPXNpdGU%3d#db=cmedm&AN=29778142> [13. 1. 2019].
54. YOON, K. Y. et al. 2007. *Antimicrobial Effect of Silver Particles on Bacterial Contamination of Activated Carbon Fibers* [on-line]. Dostopno na spletnem naslovu: <https://pdfs.semanticscholar.org/2645/de969f4c34c1b012d3da6ab887a682ee0dc1.pdf?ga=2.68770257.111341866.1547318031-880505242.1547318031> [12. 1. 2019].
55. ZHANG, S. et al. 2004. *Preparation and characterization of antibacterial silver-dispersed activated carbon aerogels* [on-line]. Dostopno na spletnem naslovu: https://www.researchgate.net/publication/225324207_Preparation_and_Characterization_of_Antibacterial_Zn2-Exchanged_Montmorillonites [12. 1. 2019].

8. PRILOGE

PRILOGA 1: FOTOGRAFIJE 1. DELA 1. EKSPERIMENTA (METODA PLATE-COUNTING)



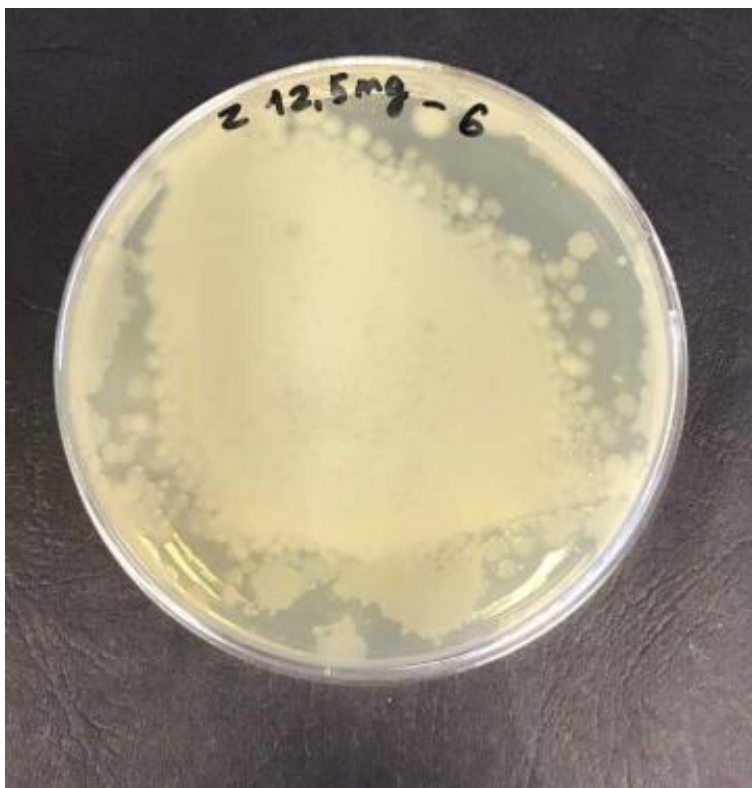
Slika 19: Kolonije E. coli v LB-gojišču ob dodanem aktivnem oglju za čiščenje zob (20 mg) pri faktorju razredčitve 10^{-6} (Lastni vir)



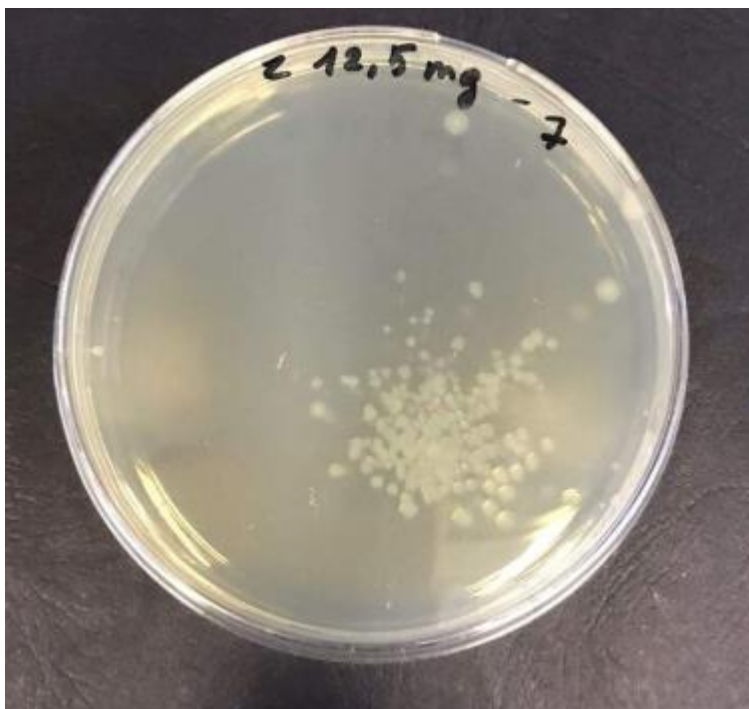
Slika 20: Kolonije E. coli v LB-gojišču ob dodanem oglju za čiščenje zob (20 mg) pri faktorju razredčitve 10^{-7} (Lastni vir)



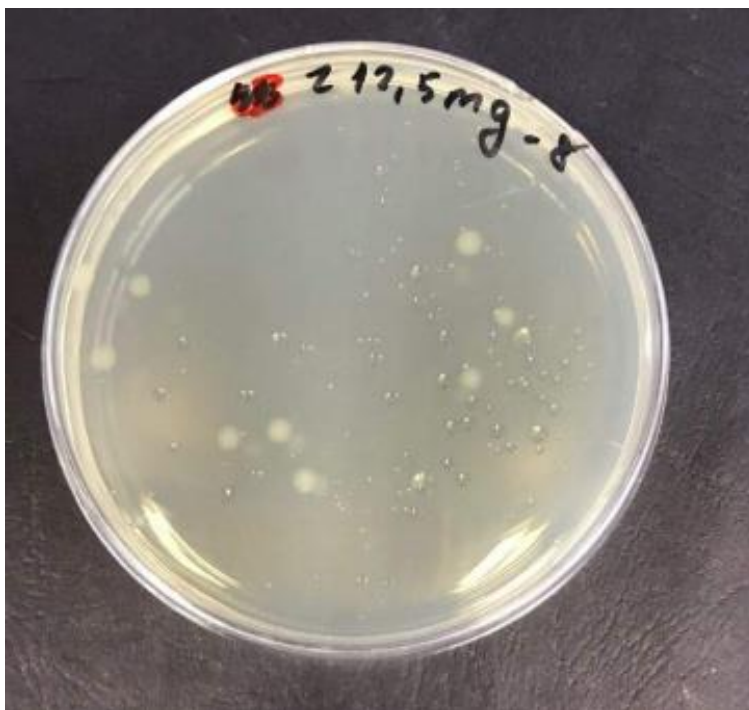
Slika 21: Kolonije E. coli v LB-gojišču ob dodanem aktivnem oglju za čiščenje zob (20 mg) pri faktorju razredčitve 10^{-8} (Lastni vir)



Slika 22: Kolonije E. coli v LB-gojišču ob dodanem aktivnem oglju za čiščenje zob (12,5 mg) pri faktorju razredčitve 10^{-6} (Lastni vir)



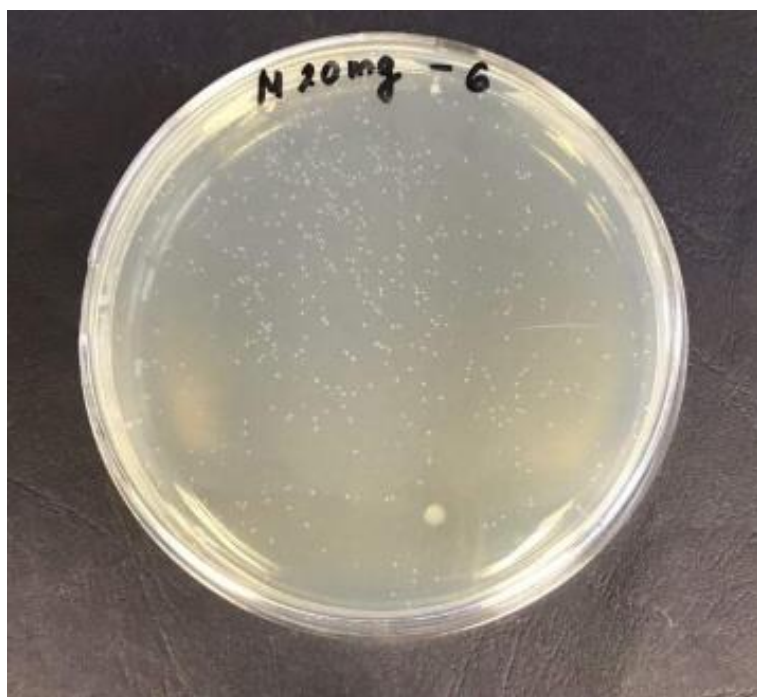
Slika 23: Kolonije *E. coli* v LB- gojišču ob dodanem aktivnem oglju za čiščenje zob (12,5 mg) pri faktorju razredčitve 10^{-7} (Lastni vir)



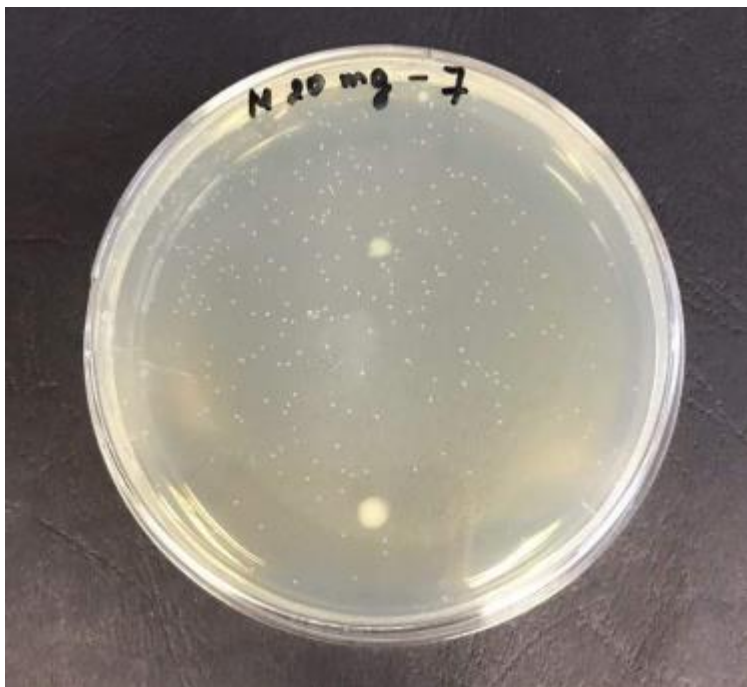
Slika 24: Kolonije *E. coli* v LB-gojišču ob dodanem aktivnem oglju za čiščenje zob (12,5 mg) pri faktorju razredčitve 10^{-8} (Lastni vir)



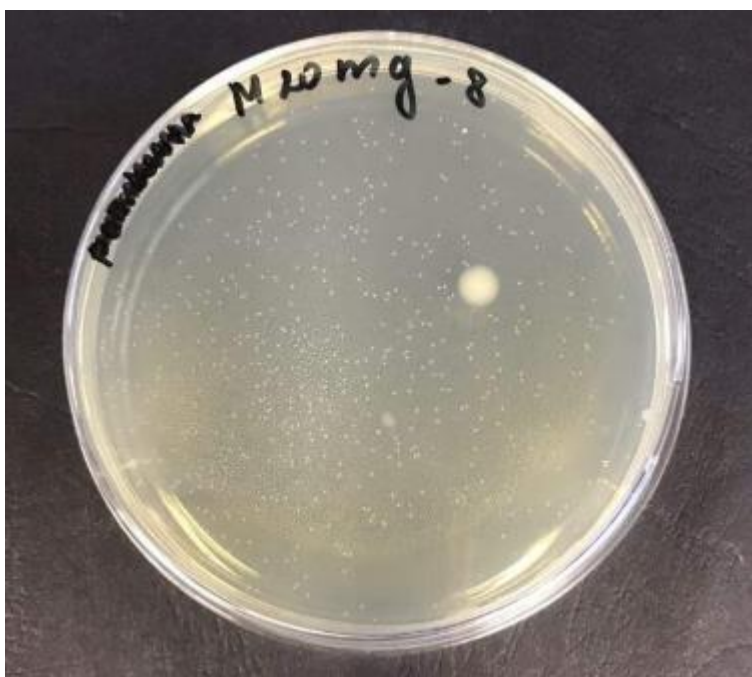
Slika 25: Kolonije E. coli v LB-gojišču ob dodanem aktivnem oglju za čiščenje zob (6 mg) pri faktorju razredčitve 10^{-7} (Lastni vir)



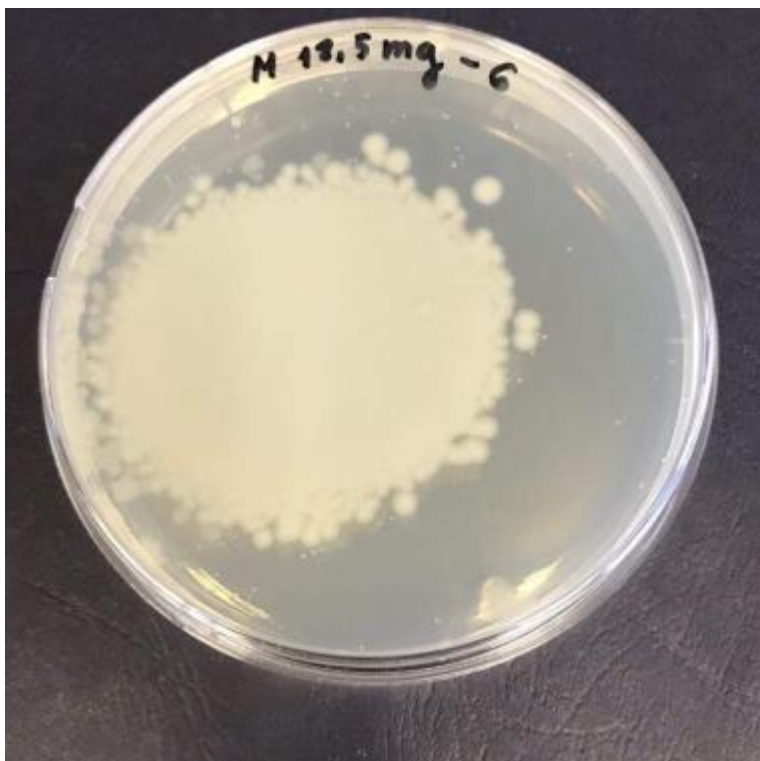
Slika 26: Kolonije E. coli v LB-gojišču ob dodanem medicinskem aktivnem oglju (20 mg) pri faktorju razredčitve 10^{-6} (Lastni vir)



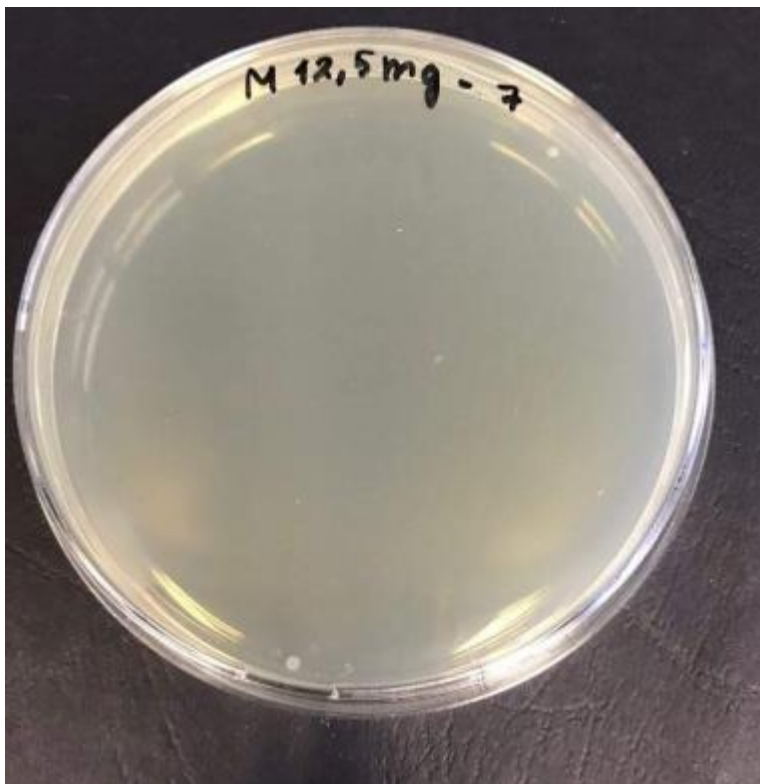
Slika 27: Kolonije *E. coli* v LB-gojišču ob dodanem medicinskem aktivnem oglju (20 mg) pri faktorju razredčitve 10^{-7} (Lastni vir)



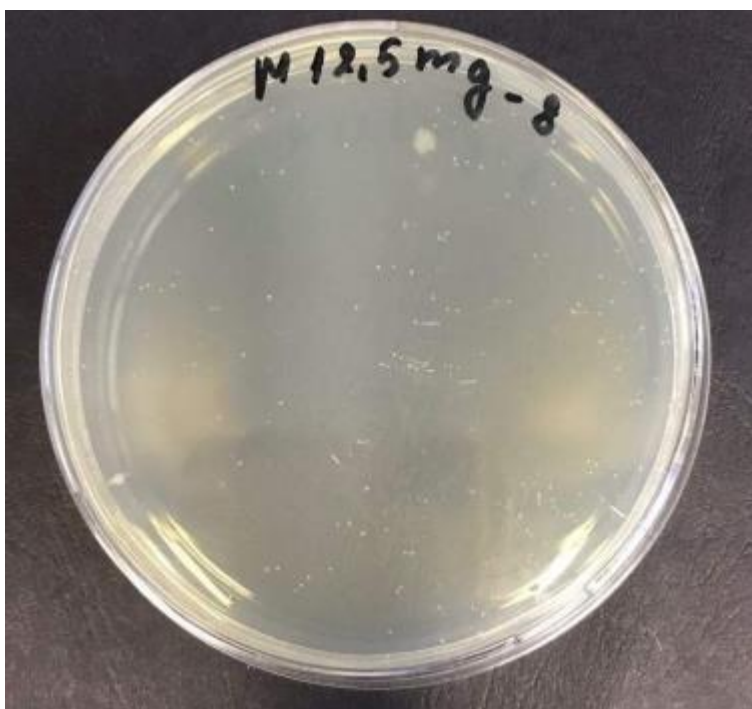
Slika 28: Kolonije *E. coli* v LB-gojišču ob dodanem medicinskem aktivnem oglju (20 mg) pri faktorju razredčitve 10^{-8} (Lastni vir)



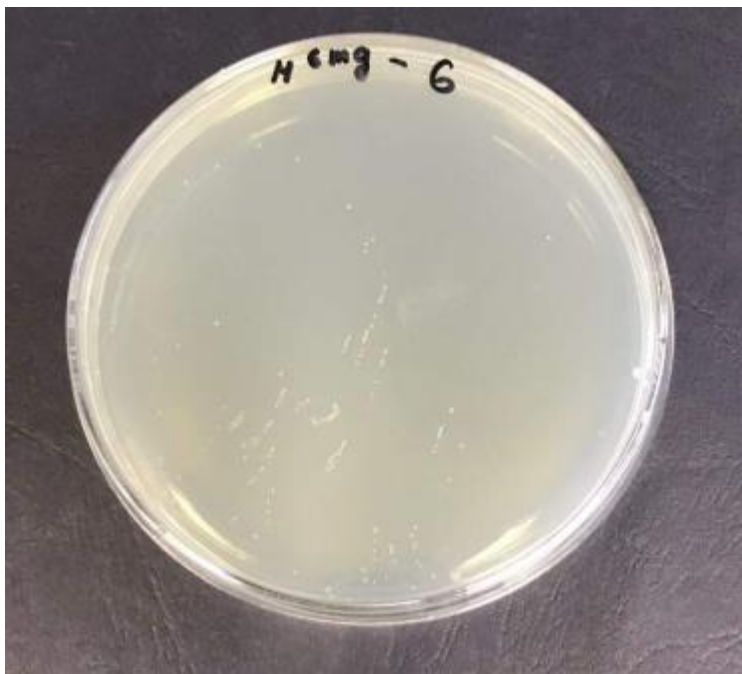
Slika 29: Kolonije E. coli v LB-gojišču ob dodanem medicinskem aktivnem oglju (12,5 mg) pri faktorju razredčitve 10^{-6} (Lastni vir)



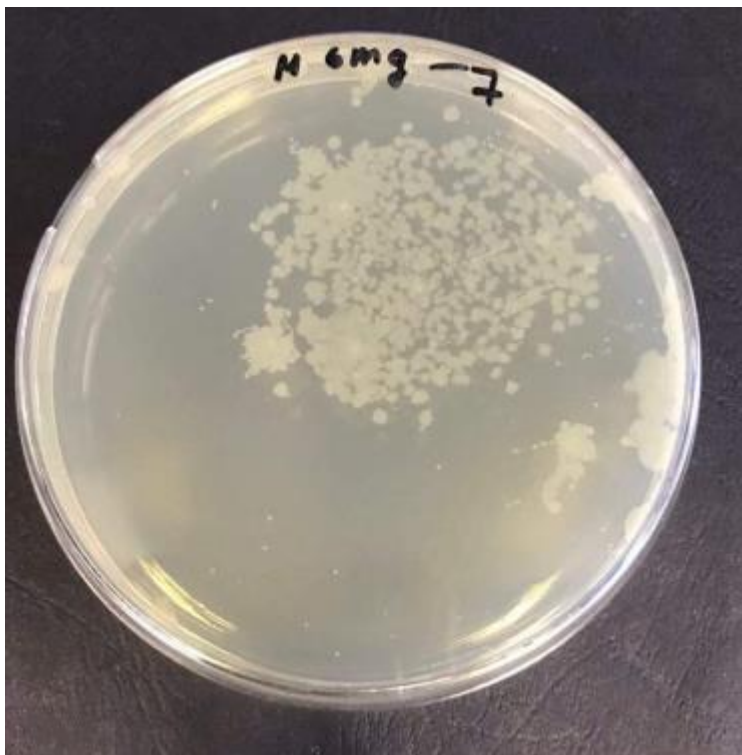
Slika 30: Kolonije E. coli v LB-gojišču ob dodanem medicinskem aktivnem oglju (12,5 mg) pri faktorju razredčitve 10^{-7} (Lastni vir)



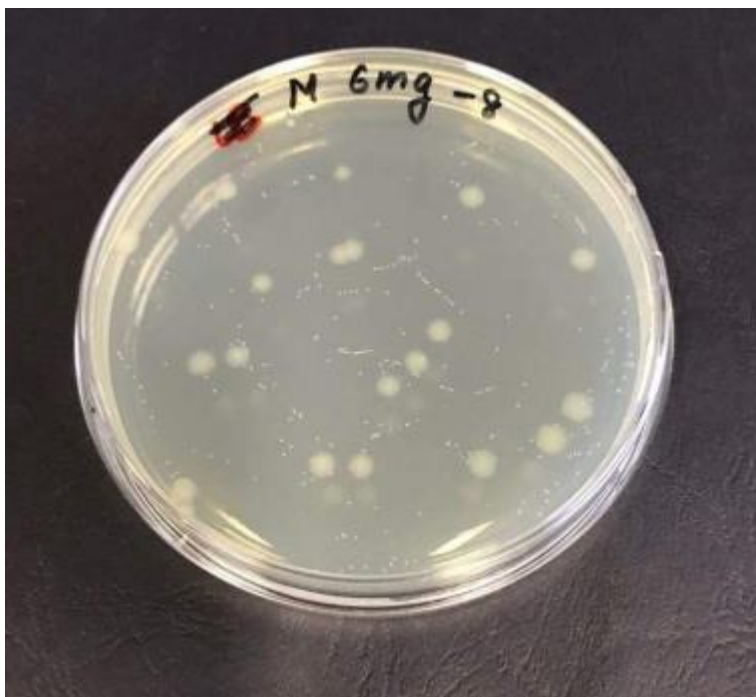
Slika 31: Kolonije E. coli v LB- gojišču ob dodanem medicinskem aktivnem oglju (12,5 mg) pri faktorju razredčitve 10^{-8} (Lastni vir)



Slika 32: Kolonije E. coli v LB-gojišču ob dodanem medicinskem aktivnem oglju (6 mg) pri faktorju razredčitve 10^{-6} (Lastni vir)



Slika 33: Kolonije *E. coli* v LB-gojišču ob dodanem medicinskem aktivnem oglju (6 mg) pri faktorju razredčitve 10^{-7} (Lastni vir)



Slika 34: Kolonije *E. coli* v LB-gojišču ob dodanem medicinskem aktivnem oglju (6 mg) pri faktorju razredčitve 10^{-8} (Lastni vir)

PRILOGA 2: FOTOGRAFIJE 2. DELA 2. EKSPERIMENTA (METODA DIFUZIJSKIH ANTIBIOGRAMOV)



Slika 35: Priprava na drugi eksperiment z difuzijskimi antibiogrami (Lastni vir)



Slika 36: Priprava na drugi eksperiment z difuzijskimi antibiogrami - redčitev izdelkov (Lastni vir)

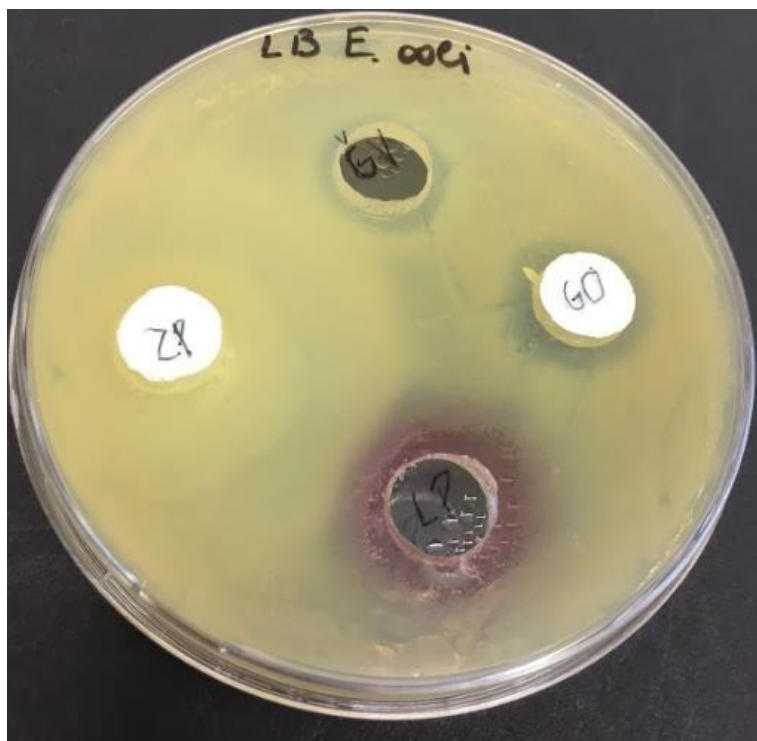


Slika 37: Priprava na drugi eksperiment z difuzijskimi antibiogrami - petrijevke (Lastni vir)

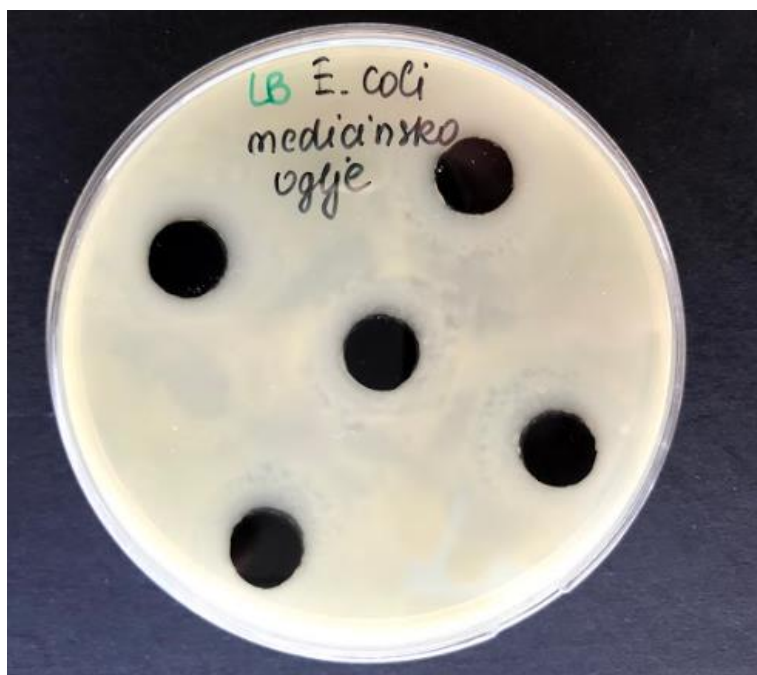
***E. coli* :**



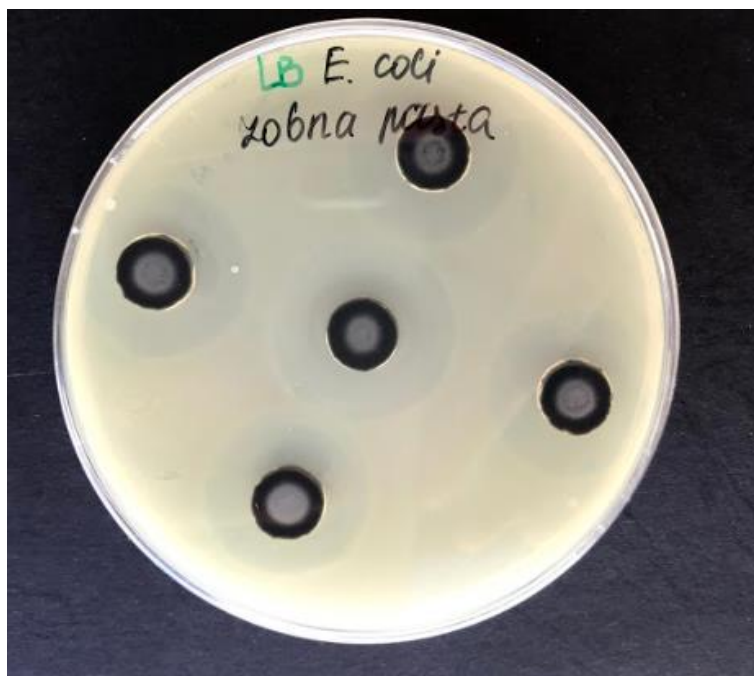
Slika 38: Difuzijski antibiogram - pozitivna kontrola z antibiotikom pri bakteriji E. coli v LB-gojišču (Lastni vir)



Slika 39: Difuzijski antibiogram z izdelki, ki ne vsebujejo aktivnega oglja pri bakteriji *E. coli* v LB-gojišču (ČV - čistilna voda, ZP - zobna pasta, GP - losjon za prhanje, GO - gel za umivanje obraza) (Lastni vir)



Slika 40: Difuzijski antibiogram z dodanim medicinskim aktivnim ogljem z bakterijo *E. coli* v LB-gojišču (Lastni vir)



Slika 41: Difuzijski antibiogram z dodano zobno pasto z aktivnim ogljem z bakterijo *E. coli* v LB-gojišču (Lastni vir)



Slika 42: Difuzijski antibiogram z dodanim gelom za umivanje obraza z aktivnim ogljem z bakterijo *E. coli* v LB-gojišču (Lastni vir)

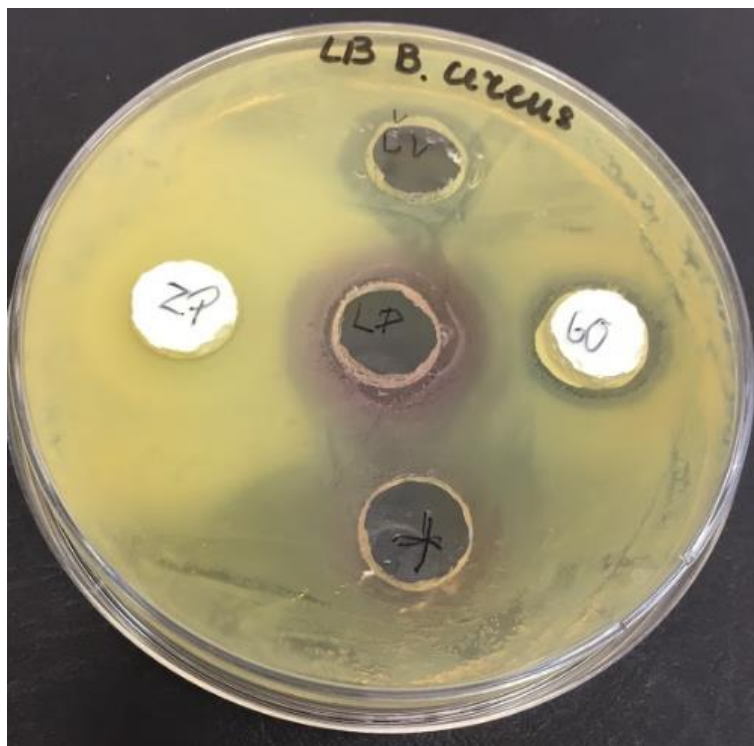


Slika 43: Difuzijski antibiogram z dodanim losjonom za prhanje z aktivnim ogljem z bakterijo *E. coli* v LB-gojišču (Lastni vir)

***B. cereus* :**



Slika 44: Difuzijski antibiogram- pozitivna kontrola z antibiotikom pri bakteriji *B. cereus* v LB-gojišču (Lastni vir)



Slika 45: Difuzijski antibiogram z izdelki, ki ne vsebujejo aktivnega oglja pri bakteriji *B. cereus* v LB-gojišču (ČV - čistilna voda, ZP - zobna pasta, GP - losjon za prhanje, GO - gel za umivanje obraza) (Lastni vir)



Slika 46: Difuzijski antibiogram z dodanim gelom za umivanje obraza z aktivnim ogljem z bakterijo *B. cereus* v LB-gojišču (Lastni vir)



Slika 47: Difuzijski antibiogram z dodanim losjonom za prhanje z aktivnim ogljem z bakterijo *B. cereus* v LB-gojišču (Lastni vir)



Slika 48: Difuzijski antibiogram z dodano čistilno vodo z aktivnim ogljem z bakterijo *B. cereus* v LB-gojišču (Lastni vir)



Slika 49: Difuzijski antibiogram z dodanim medicinskim ogljem z bakterijo *B. cereus* v LB-gojišču (Lastni vir)

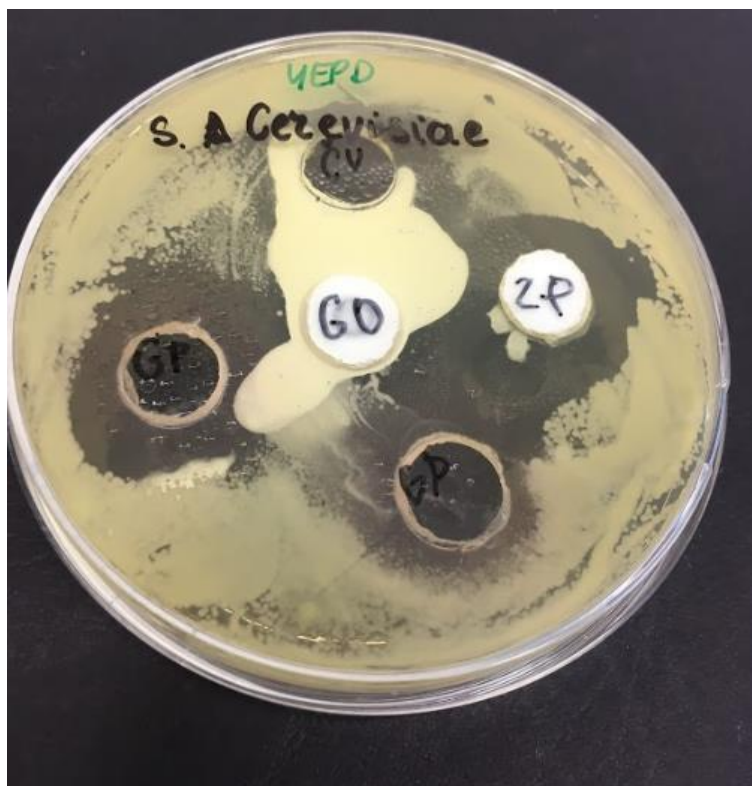


Slika 50: Difuzijski antibiogram z dodano zobno pasto z aktivnim ogljem z bakterijo *B. cereus* v LB-gojišču (Lastni vir)

S. cerevisiae :



Slika 51: Difuzijski antibiogram z dodano zobno pasto z aktivnim ogljem z bakterijo *B. cereus* v LB-gojišču (Lastni vir)



Slika 52: Difuzijski antibiogram z izdelki, ki ne vsebujejo aktivnega oglja pri glivi *S. cerevisiae* v YEPD-gojišču (ČV - čistilna voda, ZP - zobna pasta, GP - losjon za prhanje, GO - gel za umivanje obraza) (Lastni vir)



Slika 53: Difuzijski antibiogram z dodanim gelom za umivanje obraza z aktivnim ogljem z glivo *S. cerevisiae* v YEPD-gojišču (Lastni vir)



Slika 54: Difuzijski antibiogram z dodanim gelom za umivanje obraza y aktivnim ogljem z glivo *S. cerevisiae* v YEPD-gojišču (Lastni vir)



Slika 55: Difuzijski antibiogram z dodano čistilno vodo z aktivnim ogljem z glivo *S. cerevisiae* v YEPD-gojišču (Lastni vir)



Slika 56: Difuzijski antibiogram z dodano čistilno vodo z aktivnim ogljem z glivo *S. cerevisiae* v YEPD-gojišču (Lastni vir)