

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Ústav pro životní prostředí

Ústav pro hydrodynamiku AV ČR, v. v. i.

**VLIV LÁTEK PRODUKOVANÝCH SINICEMI  
NA KOAGULACI HUMINOVÝCH VOD**

*INFLUENCE OF COMPOUNDS PRODUCED BY  
CYANOBACTERIA ON COAGULATION OF HUMIC WATERS*

Tomáš Brabenec

Vedoucí práce: RNDr. Martin Pivokonský, Ph.D.

2015

## **Poděkování**

Děkuji panu RNDr. Martinu Pivokonskému, Ph.D. za podnětné rady a připomínky. Dále děkuji pracovníkům Ústavu pro hydrodynamiku AV ČR v. v. i. za ochotu a spolupráci, zejména pak Mgr. Janě Načeradské, Ph.D.

## **Místopřísežné prohlášení**

Místopřísežně prohlašuji, že celou diplomovou práci včetně příloh jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a uvedl jsem všechnu použitou literaturu a podklady. Předložená práce je totožná s elektronickou verzí, která byla vložena do Studijního informačního systému.

**V Praze dne:**

**Podpis:**

## Obsah

Seznam použitých zkratk a symbolů .....	5
Abstrakt .....	7
<b>1 Úvod .....</b>	<b>9</b>
<b>2 NOM (Natural organic matter) .....</b>	<b>11</b>
<b>2.1 AOM (Algal Organic Matter).....</b>	<b>12</b>
2.1.1 Charakter a vlastnosti AOM.....	12
2.1.2 Úprava povrchových vod s obsahem AOM.....	14
<b>2.2 Humínové látky.....</b>	<b>21</b>
2.2.1 Charakter a vlastnosti huminových látek.....	21
2.2.2 Úprava povrchových vod s obsahem huminových látek .....	22
<b>3 Materiál a metodika.....</b>	<b>29</b>
<b>3.1 Odběr kultury <i>Microcystis aeruginosa</i> .....</b>	<b>29</b>
<b>3.2 Příprava COM.....</b>	<b>29</b>
<b>3.3 Charakterizace COM.....</b>	<b>29</b>
3.3.1 Izolace peptidové/proteinové složky COM .....	29
3.3.2 Stanovení podílu peptidové/proteinové složky COM.....	29
3.3.3 Stanovení povrchového náboje COM peptidů/proteinů .....	30
<b>3.4 Příprava HL.....</b>	<b>31</b>
<b>3.5 Charakterizace HL.....</b>	<b>31</b>
3.5.1 Stanovení povrchového náboje huminových látek .....	31
<b>3.6 Stanovení molekulových hmotností peptidů/proteinů a HL .....</b>	<b>32</b>
<b>3.7 Optimalizační sklenicové zkoušky.....</b>	<b>32</b>
<b>3.8 Stanovení pH, Al, KNK, DOC a UV-VIS .....</b>	<b>33</b>
<b>4 Výsledky a diskuse .....</b>	<b>35</b>
<b>4.1 Charakterizace sinicových peptidů a proteinů.....</b>	<b>35</b>
4.1.1 Podíl peptidů a proteinů v COM.....	35
4.1.2 Molekulové hmotnosti peptidů a proteinů .....	35
4.1.3 Povrchový náboj COM peptidů/proteinů.....	36
<b>4.2 Koagulace sinicových peptidů a proteinů.....</b>	<b>37</b>
4.2.1 Optimalizace dávky koagulačního činidla .....	37
4.2.2 Optimalizace pH.....	38
4.2.3 Mechanismy koagulace .....	40
<b>4.3 Charakterizace HL.....</b>	<b>43</b>
4.3.1 Molekulové hmotnosti HL .....	43
4.3.2 Povrchový náboj HL.....	43
<b>4.4 Koagulace HL .....</b>	<b>44</b>
4.4.1 Optimalizace dávky koagulačního činidla .....	44
4.4.2 Optimalizace pH.....	45
4.4.3 Mechanismy koagulace .....	46
<b>4.5 Koagulace sinicových peptidů a proteinů a HL .....</b>	<b>49</b>
4.5.1 Optimalizace dávky koagulačního činidla .....	49
4.5.2 Optimalizace pH.....	50
4.5.3 Mechanismy koagulace .....	53
<b>4.6 Koagulace sinicových peptidů a proteinů a HL bez přítomnosti koagulačního činidla .....</b>	<b>54</b>
4.6.1 Vliv pH na koagulaci .....	54
4.6.2 Mechanismy koagulace .....	56
<b>5 Závěr .....</b>	<b>58</b>
<b>6 Praktický význam výsledků práce .....</b>	<b>59</b>
<b>7 Literatura .....</b>	<b>60</b>

## Seznam použitých zkratk a symbolů

AC (Activated Carbon) – aktivní uhlí

AOM (Algal Organic Matter) – organické látky produkované fytoplanktonem

CoAA (Dimethyl Aminoethyl Acrylate) – dimethyl animoethyl akrylát

COM (Cellular Organic Matter) – celulární organické látky

DAD (Diode Array Detector) – detektor s diodovým polem

$D_{Al}$  – dávka hliníku [ $\text{mg.l}^{-1}$ ]

DOC (Dissolved Organic Carbon) – rozpuštěný organický uhlík

$\text{DOC}_{NP}$  – rozpuštěný organický uhlík neproteinových látek

$\text{DOC}_P$  – rozpuštěný organický uhlík proteinových látek

$\text{DOC}_T$  – celkový rozpuštěný organický uhlík

DOM (Dissolved Organic Matter) – rozpuštěné organické látky

DBPs (Disinfection By-Products) – vedlejší produkty dezinfekce vody

EOM (Extracellular Organic Matter) – extracelulární organické látky

FLD (Fluorescence Detector) – fluorescenční detektor

GAC (Granular Activated Carbon) – granulované aktivní uhlí

$\bar{G}$  – střední gradient rychlosti [ $\text{s}^{-1}$ ]

HAAs (Haloacetic Acids) – halogenderiváty kyseliny octové

HL – huminové látky

HPLC (High Performance Liquid Chromatography) – vysokoúčinná kapalinová chromatografie

HPSEC (High Performance Size Exclusion Chromatography) – vysokoúčinná velikostně rozdělující chromatografie

IC (Inorganic Carbon) – anorganický uhlík

IOM (Intracellular Organic Matter) – intracelulární organické látky

$\text{KNK}_{4,5}$  – celková kyselinová neutralizační kapacita [ $\text{mmol.l}^{-1}$ ]

MW (Molecular Weight) – molekulová hmotnost

$N_{H^+}(I_1)$  – množství přidaných  $H^+$  iontů v bodě ekvivalence 1 [ $mmol.g^{-1}$ ]

$N_{H^+}(I_2)$  – množství přidaných  $H^+$  iontů v bodě ekvivalence 2 [ $mmol.g^{-1}$ ]

NOM (Natural Organic Matter) – organické látky přírodního původu

$N_R$  – množství specifických funkčních skupin [ $mmol.g^{-1}$ ]

NTU (Nephelometric Turbidity Units) – kalibrované jednotky zákalu

PACl (Polyaluminum Chloride) – polyaluminiumchlorid

PDADMAC (Polydiallyldimethylammonium Chloride) – polydiallyl dimethylamonný chlorid

$pEq$  – bod ekvivalence

PFS (Polyferric Sulphate) – polymerní síran železitý

$pI$  (Isoelectric Points) – izoelektrické body

$pK$  – disociační konstanta

PNAC (Partially Neutralized Aluminium Sulphate) – částečně neutralizovaný síran hlinitý

POM/SOM (Particulate/Suspended Organic Matter) – nerozpuštěné organické látky

RCF (Relative Centripetal Force) – relativní odstředivé zrychlení

SOM (Surface-Bonded/Surface-Retained Organic Matter) – organické látky vázané na povrchu buněk

SUVA – specifická UV absorpance

TC (Total Carbon) – celkový uhlík

THMs (Trihalogenmethanes) – trihalogenmetany

UV (Ultraviolet) – ultrafialové záření

UV/VIS – ultrafialovo-viditelná spektroskopie

## Abstrakt

Diplomová práce se zabývá koagulací přírodních vod s obsahem huminových látek a peptidů/proteinů produkovaných sinicí *Microcystis aeruginosa* během procesu úpravy vody při použití hlinitého koagulačního činidla. Bylo prokázáno, že účinnost koagulačního mechanismu huminových látek i peptidů/proteinů je značně závislá na hodnotě pH. Hodnota pH ovlivňuje nejen velikost a znaménko povrchového náboje huminových látek a peptidů/proteinů ale také charakter a náboj produktů hydrolyzy kovů (Al) koagulačních činidel. Optimální hodnoty pH byly 5 až 6 pro koagulaci huminových látek a 5 až 6,5 pro peptidy/proteiny. V obou případech byly jako dominantní koagulační mechanismus identifikovány elektrostatické interakce mezi organickými látkami a hydrolytickými produkty hliníku vedoucí k vzájemné nábojové neutralizaci a adsorpci. Koagulace huminových látek v přítomnosti sinicových peptidů/proteinů probíhala, obdobně jako u samotných huminových látek, při pH 5 až 6. Přítomnost peptidů/proteinů však měla na účinnost jejich koagulace značně pozitivní vliv, což se projevilo snížením původní dávky hlinitého koagulačního činidla na polovinu ( $D_{Al} = 2,8 \text{ mg.l}^{-1}$ ). Byla prokázána vzájemná interakce mezi huminovými látkami a peptidy/proteiny, která je příčinou pozitivního vlivu peptidů/proteinů na koagulaci vod s obsahem huminových látek. Tyto interakce umožňují při velmi nízkých hodnotách pH ( $< 4$ ) účinné odstranění huminových látek i peptidů/proteinů bez použití koagulačních činidel.

## Klíčová slova

Huminové látky; AOM (Algal Organic Matter); peptidy/proteiny; *Microcystis aeruginosa*; koagulace; úprava vody.

## **Abstract**

The diploma thesis investigates the coagulation of nature waters with humic substances and peptides/proteins produced by *Microcystis aeruginosa* during water treatment process with aluminum coagulants. It was confirmed that the efficiency of coagulation mechanism of humic substances and peptides/proteins strongly depends on the pH value, because pH value is limited factor of a charge properties of peptides/proteins, humic substances and hydrolysis products of coagulants. The optimal pH range for the coagulation of humic substances was 5-6 and for cyanobacterial peptides/proteins 5-6.5. In both cases a charge neutralisation and an adsorption were dominant mechanism of coagulation. Optimal pH range for the coagulation of humic substances in the presence of cyanobacterial peptides/proteins was identical as well as optimal pH range of humic substances with absence of peptides/proteins (5-6) but the presence of peptides/proteins positively influenced particle coagulation of humic substances, because the optimal concentration of the coagulants decreased to more than half. An interaction between humic substances and peptides/proteins was demonstrated. A positive effect of coagulation was observed in the case of jar tests with absence of coagulants at a very low pH range (<4).

## **Keywords**

Humic substances; AOM (Algal Organic Matter); Peptides/proteins; *Microcystis aeruginosa*; Coagulation; Water Treatment.



# 1 Úvod

Povrchové zdroje pitné vody se vyznačují přítomností přírodních organických látek (NOM – Natural Organic Matter). Tyto látky negativně ovlivňují parametry kvality těchto zdrojů. Způsobují nežádoucí zabarvení, zápach i chuť a tvoří vedlejší produkty dezinfekce. Některé z nich, tzv. AOM (Algal Organic Matter) mohou být zdrojem nebezpečných toxických látek, tzv. cytotoxinů, či inhibují procesy úpravy vody do té míry, že znemožňují její efektivní využití pro pitné účely (Widrig a kol., 1996; Eggins a kol., 1997; Gregor a kol., 1997; Duan a kol., 2002; Matilainen a kol., 2010).

K nejvýznamnějším NOM řadíme látky huminového charakteru, jež se do vody dostávají splachem z okolního prostředí anebo vznikají řadou procesů přímo ve vodě, a tzv. AOM (Algal Organic Matter), které jsou produkovány fytoplanktonem přítomným v povrchových vodách. Větší část (50-65%) z celkové koncentrace NOM tvoří v povrchových vodách obvykle huminové látky. Jejich obsah se na rozdíl od AOM během roku výrazně nemění. Zvýšených koncentrací látek nehuminového charakteru (AOM) je dosahováno především při rozvoji fytoplanktonu ve vegetačním období (Pivokonský a kol., 2006, 2014). Nejčastější metodou eliminace NOM při úpravě vody je jejich koagulace/flokulace a následná separace pomocí sedimentace, flotace a/nebo filtrace (Bernhardt a kol., 1985; Pivokonský a kol., 2009, 2012; Liu a kol., 2011; Wang a kol., 2014).

V minulosti proběhla řada experimentů, které se zabývaly koagulací látek huminového charakteru (Cheng a Chi, 2002; Jung a kol., 2005; Shi a kol., 2007; Cheng a kol., 2008; Hilal a kol., 2008; Siéliéchi a kol., 2008; Liu a kol., 2009; Wang a kol., 2014a) i AOM (Bernhardt a kol., 1985; Gregor a kol., 1997; Sharp a kol., 2006; Pivokonský a kol., 2009, 2012; Ghernaout a kol., 2010; Matilainen a kol., 2010; Šafaříková a kol., 2013; Gonzalez-Torres a kol., 2014) samostatně. Doposud však nebyly provedeny experimenty, které by umožnily objasnit koagulaci obou těchto komponent najednou a to i přesto, že v surové vodě se obvykle vyskytují společně.

Diplomová práce se zabývá koagulací obou těchto typů NOM. Cílem diplomové práce je popis vlivu přítomnosti peptidů/proteinů izolovaných ze sinice *Microcystis aeruginosa* na koagulaci huminových vod a popis mechanismů jejich vzájemných interakcí.

Dílčí cíle diplomové práce jsou:

- (1) popis vlastností sinicových peptidů/proteinů a huminových látek významných z hlediska koagulačních a flokulačních procesů probíhajících při úpravě vody,
- (2) charakterizace mechanismů interakcí mezi peptidy/proteiny, huminovými látkami a produkty hydrolýzy koagulačního činidla,
- (3) objasnění vlivu reakčních podmínek (hodnota pH, dávka koagulačního činidla) na koagulaci peptidů/proteinů a huminových látek.

## 2 NOM (Natural Organic Matter)

Povrchové vody obsahují značné množství organických látek přírodního původu, tzv. NOM, které představují širokou škálu alifatických a aromatických uhlovodíkových struktur nesoucích řadu funkčních skupin (např. karboxylové, hydroxylové, fenolové, sulfátové, aminové) (Leenheer a Croue, 2003; Sharp a kol., 2006; Matilainen a kol., 2011; Lee a kol., 2013). Tato značně různorodá skupina organických látek se liší nejen svým složením, ale rovněž strukturou a molekulovou hmotností (MW – Molecular Weight). MW látek zahrnovaných mezi NOM se pohybuje v rozmezí od stovek po miliony daltonů (Leenheer a Croue, 2003; Henderson a kol., 2008a; Caron a kol., 2014). Přítomnost NOM v povrchových vodách má výrazný vliv na kvalitativní složení surové vody a díky tomu také na proces její úpravy. Příkladem může být nežádoucí zbarvení vody, tvorba zápachu, zvýšení potřebné dávky koagulačních a desinfekčních činidel, a také tvorba zdravotně závadných vedlejších produktů dezinfekce (DBPs - Disinfection By-Products). Z těchto důvodů stále vzrůstá zájem o důsledné odstranění NOM z vody (Widrig a kol., 1996; Gregor a kol., 1997; Matilainen a kol., 2010). Z technologického hlediska úpravy vody jsou NOM nejvýznamnější skupinou znečišťujících látek obsažených v povrchových vodách (Matilainen a kol., 2011; Zhang a kol., 2015). Množství a charakter NOM ovlivňuje řada podmínek, z nichž zásadní jsou klima, geologické a topografické podmínky, dále biogeochemické cykly, druhové složení organismů a podobně. Rozmanitost komponentů tvořících NOM je zároveň závislá na sezónních podmínkách jednotlivých geografických oblastí. Různorodé složení NOM můžeme také pozorovat například v období sucha, dešťů či sněhových srážek (Pivokonský a kol., 2006; Matilainen a kol., 2010; Matilainen a kol., 2011).

NOM se vyskytují v nerozpuštěné (POM/SOM - Particulate/Suspended Organic Matter) a rozpuštěné (DOM – Dissolved Organic Matter) formě, přičemž určujícím parametrem tohoto rozdělení je velikost jednotlivých částic. Hranice velikostního rozložení mezi oběma skupinami byla stanovena dohodou na 0,45  $\mu\text{m}$  (Pivokonský a kol., 2010). V rámci úpravy vody mají hlavní význam především DOM, které jsou tvořeny převážně látkami huminového (huminové kyseliny, fulvokyseliny) a nehuminového (aminokyseliny, peptidy, proteiny, sacharidy, polysacharidy) charakteru (Pivokonský a kol., 2006, 2014).

## 2.1 AOM (Algal Organic Matter)

AOM se do vody dostávají dvěma hlavními mechanismy. Metabolickou činností fytoplanktonu jsou uvolňovány ve formě tzv. extracelulárních organických látek (EOM - Extracellular Organic Matter). Dále pak odumíráním, destrukcí a rozkladem jednotlivých buněk řas a sinic dochází k uvolňování tzv. intracelulárních organických látek (IOM - Intracellular Organic Matter) (Fogg, 1983; Henderson a kol., 2008a; Ma a kol., 2012a). Během fáze úhynu fytoplanktonu taktéž dochází k nárůstu množství tzv. SOM (Surface-Bonded/Surface-Retained Suspended Matter), které představují skupinu organických látek, jež jsou vázány na povrch jednotlivých buněk. IOM a SOM můžeme společně označit pojmem organické látky celulárního původu (COM - Cellular Organic Matter) (Takaara a kol., 2007, 2010; Pivokonský a kol., 2012, 2014). V rámci jednotlivých fází růstu fytoplanktonu dochází k postupnému nárůstu celkového množství AOM. V první exponenciální fázi růstu jsou do vody uvolňovány rozpuštěné AOM zejména ve formě EOM, jelikož odumírání a rozklad buněk fytoplanktonu není příliš významný. Naopak ve fázi stacionární se již úhyn a rozklad jednotlivých organismů značně projevuje a s postupným stárnutím kultury začínají převažovat COM (Takaara a kol., 2005; Pivokonský a kol., 2006, 2012, 2014; Henderson a kol., 2008a, b).

### 2.1.1 Charakter a vlastnosti AOM

Chemické složení je u AOM velmi rozmanité a závisí na mnoha dílčích faktorech. Zásadní je druh fytoplanktonu, stáří kultury, fyziologické podmínky růstu apod. (Nguyen a kol., 2005; Henderson a kol., 2008a). Významnými faktory ovlivňujícími složení a množství uvolňovaných AOM do povrchových vod jsou také pH, teplota, koncentrace kyslíku ( $O_2$ ) a oxidu uhličitého ( $CO_2$ ). Výrazně se na množství AOM podílí rovněž sluneční záření, které značně ovlivňuje aktivitu fytoplanktonu (Fogg, 1983; Hoyer a kol., 1985; Leenheer a Croue, 2003; Maksimova a kol., 2004).

AOM jsou tvořeny širokým spektrem chemických sloučenin. Řadí se mezi ně především dusíkaté látky, které zahrnují aminokyseliny, peptidy, proteiny a nukleové kyseliny. Uvolňování těchto látek do vody probíhá u sinic a řas především ve fázi úhynu (Pivokonský a kol., 2006, 2014). Další významnou skupinou jsou sacharidy a polysacharidy, přičemž základními jednotkami, které je tvoří, jsou glukóza, sacharóza, manóza, fukóza, fruktóza, galaktóza, arabinóza, xylóza a uronové kyseliny (Maksimova a kol., 2004). Přesné

složení jednotlivých polysacharidů je rozdílné v rámci jednotlivých druhů organismů a závisí na fázi růstu, dostupnosti živin a na světelných podmínkách. Množství sacharidů, uvolňovaných do vody závisí především na fotosyntetické aktivitě a reprodukci jednotlivých organismů (Fogg, 1971; Biersmith a Benner, 1998; Maksimova a kol., 2004). AOM dále v menší míře obsahují tuky a mastné kyseliny, organické kyseliny, látky, jež obsahují fosfor a těkavé látky jako jsou například aldehydy a ketony (Fogg, 1983; Henderson a kol., 2008a; Pivokonský a kol., 2014). Dominantní část AOM tvoří výše zmíněné dusíkaté látky a polysacharidy, které jsou charakteristické vysoce hydrofilním charakterem (Pivokonský a kol., 2006, 2014).

Významnými charakteristikami AOM z pohledu úpravy vody jsou distribuce MW a nábojové poměry. Komponenty, které jsou obsaženy v AOM vykazují molekulové hmotnosti v rozmezí od několika stovek daltonů po stovky až tisíce kilodaltonů. Zatímco nízkomolekulární frakci (< 10 kDa) tvoří zejména aldehydy, ketony, sacharidy (mono-, oligo-) aminokyseliny a peptidy, vysokomolekulární frakce (> 100 kDa) je reprezentována především polysacharidy a proteiny. Při úpravě vody MW AOM ovlivňuje především použití technologií dostupných pro jejich odstranění (Leenheer a Croue, 2003; Henderson a kol., 2008a; Li a kol., 2012; Pivokonský a kol., 2012; Šafaříková a kol., 2013). Bylo zjištěno, že při konvenční úpravě vody pomocí koagulace/flokulace se obtížně odstraňují především látky s MW < 10 kDa (Pivokonský a kol., 2012; Šafaříková a kol., 2013). Díky tomuto musí být do procesu zařazena také technologie, která účinným způsobem tyto látky s nízkými hodnotami MW dokáže účinně odstranit (např. adsorpce na aktivním uhlí) (Hnaťuková a kol., 2011; Kopecká a kol., 2014).

Nábojové poměry AOM úzce ovlivňují nejen mechanismy koagulace/flokulace (Pivokonský a kol., 2012; Šafaříková a kol., 2013), ale také adsorpce (Hnaťuková a kol., 2011; Kopecká a kol., 2014). Bylo prokázáno, že AOM jsou jako celek negativně nabitě v širokém rozmezí pH, což je způsobeno přítomností kyselých funkčních skupin schopných odštěpit proton (-OH, -COOH, -SH) (Henderson a kol., 2008a; Šafaříková a kol., 2013). Peptidy a proteiny jsou amfoterní sloučeniny a zpravidla nesou oba typy nábojů, kladný i záporný, jelikož obsahují funkční skupiny (-OH, -COOH, -SH, NH<sub>3</sub>, NH<sub>2</sub><sup>+</sup>), jež jsou v závislosti na pH schopny přijmout či uvolnit proton (Vodrážka, 2002). Naopak AOM polysacharidy disponují díky přítomnosti uronových kyselin, které ve svých

strukturách obsahují značné množství karboxylových skupin (-COOH), převážně nábojem záporným (Wang a Tischer, 1973; Hoyer a kol., 1985).

### **2.1.2 Úprava povrchových vod s obsahem AOM**

Proces úpravy vody je nepříznivě ovlivňován přítomností AOM v surové vodě, které často představují značné zatížení jednotlivých užívaných technologií. Z tohoto důvodu může docházet i ke zhoršení kvality upravené vody, s čímž je spojena řada zdravotních i environmentálních rizik (Henderson a kol., 2010; Matilainen a kol., 2010; Sano a kol., 2011). Jak již bylo zmíněno, AOM jsou již při nízkých koncentracích zdrojem zápachu, pachuti a DBPs (Leenheer a Croue, 2003; Sano a kol., 2011; Li a kol., 2012; Lee a kol., 2013). AOM také zahrnují řadu obtížně odstranitelných a zároveň nebezpečných cytotoxinů, které mohou být zdrojem mnoha zdravotních problémů (Pivokonský a kol., 2012). V neposlední řadě je rovněž nežádoucí jejich schopnost inhibice koagulačních mechanismů dalších znečišťujících příměsí přítomných v upravované vodě, což má za následek zvýšený obsah organických látek a residuí koagulačních činidel v upravené vodě (Takaara a kol., 2007; Pivokonský a kol., 2011; Šafaříková a kol., 2013).

Nejvhodnějším mechanismem eliminace AOM v upravené vodě je separace celých nepoškozených buněk společně s jejich celulární složkou (Chow a kol., 1998, 1999; Pietsch a kol., 2002). Velmi často však tento předpoklad není možné dodržet, jelikož v povrchových nádržích přirozeně dochází k uvolňování EOM i COM z buněk fytoplanktonu (Takaara a kol., 2007; Henderson a kol., 2008a). Účinnou metodou pro odstraňování buněk fytoplanktonu i rozpuštěných AOM ze surové vody je koagulace, avšak během ní dochází zejména k odstranění AOM s vyšší molekulovou hmotností (Bernhardt a kol., 1985; Pivokonský a kol., 2009, 2012). Z tohoto důvodu je tento proces velmi často doplňován o další technologické postupy. Jedná se především o adsorpci na aktivním uhlí nebo membránovou filtraci (Matilainen a kol., 2010; Pivokonský a kol., 2010; Myat a kol., 2012, 2014; Kopecká a kol., 2014). Další možnou metodou je využití iontové výměny, která však není příliš rozšířena a je využívána především v zemích severní Evropy (Bolto a kol., 2004). Technologií, kterou lze rovněž úspěšně zvýšit účinnost koagulace je předoxidace AOM silnými oxidačními činidly (Valentine, 2010; Ma a kol., 2012b).

### 2.1.2.1 Koagulace AOM

I přes některé nedostatky je koagulace/flokulace hlavním mechanismem používaným při konvenční úpravě vody (Tomášková a kol., 2008; Yang a kol., 2010). Úspěch tohoto typu úpravy vody je značně závislý na dávce koagulačního činidla a na reakčním pH. Zároveň také závisí na druhu organismu a jeho růstové fázi, jelikož tyto dva parametry ovlivňují množství a charakter AOM (Qin a kol., 2006; Gregor a kol., 2007; Šafaříková a kol., 2013; Gonzalez-Torres a kol., 2014). K odstranění AOM jsou potřeba relativně vysoké dávky destabilizačního činidla a v řadě případů stále k účinnému odstranění nedochází. Jak již bylo zmíněno výše, odstraňují se především látky s vyššími hodnotami MW (Pivokonský a kol., 2009, 2011, 2012; Šafaříková a kol., 2013).

Z hlediska koagulační účinnosti je zásadní náboj jednotlivých příměsí. Určuje, zda proběhne postupná interakce s produkty hydrolyzy koagulačního činidla, a tedy zda dojde k následné agregaci, která je pro odstranění nežádoucích příměsí nezbytná (Pivokonský a kol., 2011). Molekuly AOM mají v širokém rozsahu pH záporný náboj a to i při hodnotách pH (5-6), při kterých se běžně úprava vody provádí. V těchto hodnotách pH převládá u produktů hydrolyzy koagulačních činidel náboj kladný a může tedy docházet k vzájemným interakcím. Náboj jednotlivých částí vznikajícího agregátu je postupně neutralizován a snižuje se tedy energetická bariéra až do doby, kdy mohou převládnout přitažlivé síly. V tomto případě vznikne agregát, který je již z vody odstranitelný běžnými fyzikálními mechanismy (Gregor a kol., 1997; Sharp a kol., 2006; Ghernaout a kol., 2010; Matilainen a kol., 2010; Šafaříková a kol., 2013; Gonzalez-Torres a kol., 2014). Nábojová neutralizace je hlavním mechanismem koagulace AOM, avšak při pH, jehož hodnoty přecházejí z neutrální oblasti do alkalické, začíná být důležitějším mechanismem adsorpce na hydratovaných oxidech kovů. U destabilizačních činidel na bázi železa (Fe) adsorpce nastává při pH 6-8 a u činidel na bázi hliníku (Al) při pH 7-8.5 (Duan a Gregory, 2003; Pivokonský a kol., 2012; Gonzalez-Torres a kol., 2014). Proces adsorpce je však značně závislý na koncentračním poměru AOM a destabilizačního činidla. Pokud je tento poměr nízký, dochází k adsorpci peptidů a proteinů na povrch hydratovaných oxidů kovů, mohou se tvořit mezičásticové můstky a zvyšuje se tudíž účinnost koagulace. Pokud je poměr vyšší, dojde k pokrytí celého povrchu koloidní částice hydratovaného oxidu, nastává stérická stabilizace a dochází ve výsledku k inhibici koagulačního procesu (Bache a Gregory, 2007; Liang a kol., 2007; Pivokonský a kol., 2012).

Koagulaci celulární složky AOM (COM) se zabýval Pivokonský se svými spolupracovníky (Pivokonský a kol., 2009, 2012). Ve studii Pivokonský a kol. (2009) byly prováděny sklenicové optimalizační zkoušky s COM o koncentracích DOC (Dissolved Organic Carbon) 3 a 7 mg.l<sup>-1</sup>. Jako koagulační činidlo byl použit síran železitý (Fe<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>.18H<sub>2</sub>O). Testy byly prováděny v rozsahu pH 3 až 8. Při počáteční koncentraci DOC 3 mg.l<sup>-1</sup> bylo dosaženo nejnižších zbytkových koncentrací COM při dávce 6 mg.l<sup>-1</sup>Fe, v rozmezí pH 4,5 až 6,5. Nejnižšího zbytkového DOC, při počáteční koncentraci DOC 7 mg.l<sup>-1</sup> bylo dosaženo při pH 6 a při dávce 26 mg.l<sup>-1</sup> Fe. Ze zbytkových koncentrací Fe je patrné, že nejnižší zbytková koncentrace Fe (0,014 mg.l<sup>-1</sup>) byly dosaženy při pH 7,3 a dávce Fe 5 mg.l<sup>-1</sup>. Studie prokázala poměrně obtížnou efektivitu odstranění COM, která je patrná z vysokých optimálních koncentrací koagulačního činidla.

Ve studii Pivokonský a kol. (2012) byla podrobně popsána koagulace peptidů a proteinů obsažených v COM, které byly izolovány ze sinice *Microcystis aeruginosa*. Studie prokázala, že koagulace AOM je výrazně závislá na poměru záporného a kladného náboje v systému. Dále bylo HPSEC analýzou (High Performance Size Exclusion Chromatography) zjištěno, že odstraňování proteinových sloučenin závisí na jejich MW. Proteiny s vysokými MW jsou odstraňovány z upravované vody výrazně lepším způsobem, než proteiny nízkomolekulárního charakteru. Použita byla surová voda s počátečními koncentracemi peptidů a proteinů 1, 3, 5 a 8 mg.l<sup>-1</sup> DOC a destabilizačním činidlem byl síran železitý (Fe<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>.18H<sub>2</sub>O). Výsledky prokázaly, že optimální dávka destabilizačního činidla rostla spolu se vzrůstajícími počátečními koncentracemi DOC a zároveň, že optimální zbytkové koncentrace peptidů a proteinů, obsažených v COM, byly dosaženy v rozmezí pH 4 až 6. V tomto rozmezí pH bylo nejnižších zbytkových koncentrací dosaženo především elektrostatickými interakcemi mezi kladně nabitými Fe-hydroxopolymerem a záporně nabitými funkčními skupinami kyselého charakteru (-COO<sup>-</sup>) na povrchu peptidů/proteinů. Docházelo tedy k výše popsané nábojové neutralizaci.

Koagulaci AOM negativně ovlivňuje tvorba komplexních sloučenin mezi produkty hydrolýzy koagulačních činidel a vícemocnými kationty kovů. Ionty kovů koagulačních činidel jsou v těchto komplexech vázány v koloidní či rozpuštěné formě a nemohou se tudíž účastnit koagulačního procesu (Bernhardt a kol., 1985; Pivokonský a kol., 2006, 2012; Šafaříková a kol., 2013). To má za následek snížení účinnosti koagulace, nutné zvýšení



spotřeby koagulačního činidla a mnohdy také nedodržení limitů jednotlivých parametrů sledovaných v upravené vodě (Pivokonský a kol., 2012).

### **2.1.2.2 Vliv AOM na koagulaci ostatních látek**

Vliv AOM na koagulaci jiných znečišťujících příměsí byl prokázán v několika studiích (Bernhardt a kol., 1985, 1986, 1991; Dolejš, 1993; Takaaraa a kol., 2007, 2010; Henderson a kol., 2010; Ma a kol., 2012a, b; Zhang a kol., 2012a; Šafaříková a kol., 2013; Wang a kol., 2013).

Studie Bernhardt a kol. (1985, 1986, 1991), Takaaraa a kol. (2007, 2010), Šafaříková a kol. (2013) se zabývaly vlivem přítomnosti AOM na koagulaci anorganických částic, jako jsou částice kaolinu či křemene.

Bernhardt a kolektiv (Bernhardt a kol., 1985, 1986, 1991) zkoumali vliv EOM na koagulaci anorganických křemenných částic, které reprezentují anorganické částice způsobující zákal vody. Výsledky získané z flokulačních testů prokazují, že nízké koncentrace EOM (0,1-2 mg.l<sup>-1</sup>DOC) mohou zvyšovat účinnost koagulace, zatímco koncentrace vyšší ji zásadně narušují. Studie taktéž dokázaly, že EOM se skládají z množství aniontových a neiontových polyelektrolytů, které mohou představovat neutrální a kyselé polysacharidy a makromolekulární sloučeniny nesacharidové povahy. Tyto polysacharidy mohou, i bez přítomnosti koagulačního činidla, tvořit kovalentní a vodíkové vazby což může vést k následné agregaci.

Takaaraa a kol. (2007, 2010) a Šafaříková a kol. (2013) studovali vliv AOM na koagulaci kaolínu. Ve studii Takaaraa a kol. (2007) byl studován vliv EOM a COM, izolovaných ze sinice *Microcystis aeruginosa*, na koagulaci kaolinové suspenze se zvoleným koagulačním činidlem PACl (polyaluminiumchlorid). Koagulační zkoušky byly prováděny při hodnotě pH 7, s konstantní dávkou koagulačního činidla PACl 10 mg.l<sup>-1</sup> a při koncentraci kaolínu 20 mg.l<sup>-1</sup>. Koncentrace EOM a COM dosahovala různých hodnot. Účinnost koagulace za nepřítomnosti AOM dosáhla 97,7 %. Za přítomnosti DOC COM 7,7 mg.l<sup>-1</sup>, respektive 20,6 mg.l<sup>-1</sup> došlo k 79,8 %, respektive 0 % odstranění kaolinu. Při koagulaci kaolinu s EOM o koncentracích 112,5 mg.l<sup>-1</sup> a 214,9 mg.l<sup>-1</sup> dosáhly hodnoty účinnosti odstranění koagulací 91,5 % a 81,5 %. Z výsledků je evidentní, že se výrazněji na inhibici koagulace kaolinové suspenze podílí COM. Studie Takaaraa a kol. (2010) se zabývala koagulací kaolinové suspenze v přítomnosti SOM a byl prokázán výrazný vliv přítomnosti těchto látek

na koagulaci kaolinu, přičemž v některých případech (při koncentraci SOM 100 mg.l<sup>-1</sup> DOC) docházelo až k 100 % inhibici koagulačního procesu. Šafaříková a kol. (2013) studovali vliv peptidů a proteinů obsažených v COM, ze sinice *Microcystis aeruginosa*, na koagulaci kaolinových částic. Byly prováděny tři typy koagulačních testů. Nejprve pouze se samotnými kaolinovými částicemi o koncentraci 25 mg.l<sup>-1</sup>, v dalším případě byly ke kaolinu přidány peptidy a proteiny obsažené v COM s koncentracemi DOC 1, 3, 5 a 8 mg.l<sup>-1</sup> a při posledním typu koagulačních zkoušek byla zkoumána koagulace kaolinových částic (25 mg.l<sup>-1</sup>) spolu s peptidy a proteiny (DOC 1, 3, 5 a 8 mg.l<sup>-1</sup>) za nepřítomnosti koagulačního činidla. Koagulačními činidly použitými ve studii byly Al<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>.18H<sub>2</sub>O a Fe<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>.9H<sub>2</sub>O. U koagulačních testů se samotnými kaolinovými částicemi bylo dosaženo nejnižších hodnot zbytkových koncentrací Al/Fe i zákalu při koncentracích 4 mg.l<sup>-1</sup>Fe/2 mg.l<sup>-1</sup>Al. Zákal v tomto případě odpovídal koncentraci kaolinových částic. Výzkum prokázal značnou závislost procesu odstranění zkoumaných příměsí na pH. Bylo zjištěno, že optimální pH pro odstranění kaolinových částic za nepřítomnosti peptidů a proteinů bylo pro Al 7-8,5 a pro Fe 6,4-8. Výrazně nižší optimální pH bylo nutné pro koagulaci kaolinových částic za přítomnosti peptidů a proteinů (pro Al 5-6,5 a pro Fe 4-6). Při těchto hodnotách pH probíhají mezi produkty hydrolýzy koagulačního činidla, peptidy a proteiny a kaolinem elektrostatické interakce, které vedou k formaci agregátů nutných pro odstranění výše zmíněných příměsí z vody. Koagulační testy probíhající bez přítomnosti koagulačního činidla prokázaly účinnou koagulaci kaolinových částic spolu s peptidy a proteiny. Optimální pH však bylo v tomto případě velmi nízké (< 4,5). Ze studie je tedy patrné, že přítomnost sinicových peptidů a proteinů významně mění optimální podmínky pro odstranění kaolinových částic z vody.

Vliv přítomnosti EOM na koagulaci huminových látek byl popsán ve studii Dolejš (1993). Agregační testy byly prováděny s Al<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>.18H<sub>2</sub>O a s PNAS (Partially Neutralized Aluminium Sulphate) bez kontroly pH. Modelovým organismem zvoleným v této studii byla řasa *Scenedesmus quadricauda*. Buňky této řasy byly v modelové huminové vodě ponechány v různých koncentracích (4000-18000 buněk.ml<sup>-1</sup>) po určitou dobu (1-72 hodin). Zbytkové koncentrace huminových látek, které byly vyjádřeny jako zbytkové zabarvení upravené vody, dosahovaly ve všech případech vyšších hodnot, než tomu bylo za nepřítomnosti EOM. Pouze při koncentraci 8000 buněk.ml<sup>-1</sup> a době kontaktu 15 hodin byly pozorovány identické zbytkové koncentrace huminových látek, jako za nepřítomnosti EOM. V případě zbytkových koncentrací hliníku bylo dosaženo při době kontaktu nad 4 hodiny lepších výsledných hodnot

než při agregačních testech bez přítomnosti EOM. Autor velmi stručně komentuje výsledky práce, které odpovídají skutečnosti, že vyšší koncentrace EOM snižují účinnost koagulace a koncentrace nižší naopak napomáhají odstraňování huminových látek ze surové vody a jeví se tedy jako pomocná koagulační činidla.

Ve studiích Henderson a kol. (2010), Ma a kol. (2012a, b), Zhang a kol. (2012) a Wang a kol. (2013) je charakterizována koagulace buněk řas za přítomnosti rozpuštěných AOM. Bylo prokázáno, že vysokomolekulární AOM mají pozitivní vliv na koagulaci buněk řas a mohou být tedy považovány za pomocná koagulační činidla (Henderson a kol., 2010; Ma a kol., 2012a, b; Wang a kol., 2013). Na druhé straně v řadě studií bylo zjištěno, že přítomnost AOM vyžaduje zvýšení dávky koagulačního činidla nutné k efektivnímu odstranění buněk jednotlivých řas (Henderson a kol., 2010; Vandamme a kol., 2012; Zhang a kol., 2012a).

### **2.1.2.3 Vliv přítomnosti AOM na tvorbu vedlejších produktů dezinfekce vody**

Reakcí zbytkových koncentrací AOM s desinfekčními a oxidačními činidly mohou během hygienického zabezpečení vody vznikat tzv. vedlejší produkty dezinfekce vody (DBPs – Disinfection By-Products), které mohou představovat vážné zdravotní problémy a rovněž značné problémy v rámci jednotlivých společenstev organismů (Rodriguez a kol., 2007; Lui a kol., 2011; Guilherme a Rodriguez, 2014; Lin a kol., 2014; Mao a kol., 2014). Vznik DPBs ovlivňuje řada parametrů, z nichž nejdůležitějšími jsou reakční čas, pH a teplota. Záleží rovněž na druhu organismu a jeho růstové fázi (Fang a kol., 2010; Bond a kol., 2011). Doposud bylo experimentálně detekováno přes 700 různých DBPs, přičemž řada z nich má karcinogenní či toxické vlastnosti (Bond a kol., 2011; Guilherme a Rodriguez, 2014). Zásadními sloučeninami, které se při dezinfekci tvoří, jsou trihalogenmetany (THMs – Trihalogenmethanes) a halogenderiváty octové kyseliny (HAAs – Haloacetic Acids). Nejznámějšími jsou chloroform ( $\text{CHCl}_3$ ), bromoform ( $\text{CHBr}_3$ ), kyselina chloroctová ( $\text{CH}_2\text{ClCOOH}$ ), dichloroctová ( $\text{CHCl}_2\text{COOH}$ ) a trichloroctová ( $\text{CCl}_3\text{COOH}$ ) (Li a kol., 2012). Obě skupiny látek se tvoří především při dezinfekci vody chlorem. Jejich nižší produkce lze docílit aplikací alternativních desinfekčních činidel, jako jsou ozon, oxid chloričitý či chloraminy (Hong a kol., 2008; Fang a kol., 2010b; Lui a kol., 2011; Mao a kol., 2014). Dále lze přecházet vzniku DBPs maximálním odstraněním AOM. Pokud toho nelze dosáhnout konvenční úpravou vody, musí být

do procesu zařazena technologie, která vodu dostatečně doupraví (např. adsorpce na aktivním uhlí, membránová separace) (Lin a kol., 2014).

#### **2.1.2.4 Nebezpečné součásti AOM**

Sinice jsou schopny produkovat značné množství sekundárních metabolitů, které zahrnují různé typy biologicky či biochemicky aktivních látek, z nichž řada vykazuje toxické vlastnosti. Cyanotoxiny jsou velmi rozmanitou skupinou chemických sloučenin, jako jsou peptidy, alkaloidy a lipopolysacharidy (Bláha a kol., 2009; Fernandez a kol., 2013; Zhou a kol., 2014). V závislosti na místě cílového působení se dělí na hepatotoxiny (microcystiny, cylindrospermopsin, nodularin), neurotoxiny (anatoxin-a, homoanatoxin-a, saxitoxiny), cytotoxiny (aplysiatoxin, lingbyatoxin) a látky dráždivé pro kožní a trávicí systém (Bláha a kol., 2009; Fernandez a kol., 2013; Pantelić a kol., 2013). Produkce cyanotoxinů probíhá u sinic ve všech fázích růstu. Metabolickými pochody jsou aktivně vylučovány extracelulární cyanotoxiny. Avšak k zásadnímu uvolnění cyanotoxinů dochází během lýze buněk, která nastává přirozeným či mechanickým způsobem (Jurczak a kol., 2005; Pantelić a kol., 2013). U cyanotoxinů, které sinice produkují, se předpokládá, že 25 až 75 % z nich vykazuje toxické účinky (Bláhová a kol., 2007; Bláha a kol., 2009). Nejvýznamnějšími producenty cyanotoxinů jsou sinice rodů *Microcystis*, *Anabaena*, *Nostoc*, *Planktothrix*, *Anabaenopsis* a *Aphanizomenon* (Rodriguez a kol., 2007; Pantelić a kol., 2013).

Přítomnost cyanotoxinů v povrchových vodách je rovněž zásadním problémem pro úpravny vody, které často nedisponují technologiemi, jež efektivně tyto látky odstraňují. Jelikož se cyanotoxiny vyznačují nízkou MW je nutné, jak již bylo uvedeno výše, zařadit do procesu úpravu vody metodu, která účinně tyto látky odstraní (Rodriguez a kol., 2007; Pantelić a kol., 2013).

## 2.2 Huminové látky

Spolu s AOM jsou součástí NOM především látky huminového charakteru, které mimo vegetační období obvykle tvoří většinu (50-65 %) z celkového množství organických látek (Peuravuori a Pihlaja, 1997; Marhaba a kol., 2000; Duan a kol., 2002). Teorií o vzniku těchto huminových látek (HL) existuje několik. Nejznámějšími jsou teorie degradační (ligninová) a syntetická (polyfenolová). Degradační teorie je založena na vzniku HL během mikrobiálního rozkladu odumřelého rostlinného materiálu. Těžko rozložitelné látky (např. lignin, melanin), které jsou významnou součástí rozkládaného materiálu, mikroorganismy transformují na vysokomolekulární huminy, z nichž postupnou oxidací vznikají huminové kyseliny a fulvokyseliny. Degradační mechanismus následně může pokračovat a tyto produkty jsou pomalu oxidovány až na oxid uhličitý ( $\text{CO}_2$ ) a vodu ( $\text{H}_2\text{O}$ ). Naopak u teorie syntetické se předpokládá, že z odumřelých rostlinných tkání nejprve vznikají malé molekuly (např. karboxylové kyseliny, fenoly) a z nich jsou postupně syntetizovány fulvokyseliny, huminové kyseliny a huminy. Oba tyto mechanismy pravděpodobně probíhají v přírodním prostředí společně. Degradační mechanismus však převažuje ve vodních ekosystémech, zatímco syntetický v ekosystémech terestrických (McDonald a kol., 2004; Pivokonský a kol., 2010, 2011).

### 2.2.1 Charakter a vlastnosti huminových látek

Z chemického hlediska jsou HL převážně aromatickými sloučeninami cyklického charakteru, které patří do skupiny polykarboxylových kyselin a polyfenolů. Jsou charakteristické velkým rozptylem MW (300-300000 Da) a přítomností především karboxylových a fenolových funkčních skupin, které jsou příčinou kyselého a polárního charakteru. Mezi další funkční skupiny, které jsou přítomny v molekulách huminových látek, patří např. skupiny methoxylové, hydroxylové a karbonylové (Bolto, 1995; Peuravuori a kol., 1997; Leenheer a kol., 2003; McDonald a kol., 2004; Pitter, 2009). Přítomnost HL v povrchových vodách má často za příčinu zvýšený obsah hliníku (Al), a naopak nízký obsah vápníku (Ca), hořčíku (Mg) a hydrogenuhličitanových iontů ( $\text{HCO}_3^-$ ) (Pitter, 2009; Pivokonský a kol., 2010). Významnou vlastností HL je také schopnost vázat vícemocné kationty do komplexů, přičemž se vzrůstající hodnotou pH tato schopnost narůstá. (Bolto, 1993; Pitter, 2009; Pivokonský a kol., 2010).

Dle chemických a fyzikálních vlastností se HL dělí na humusové kyseliny, huminy a humusové uhlí. Humusové uhlí a huminy se ve vodě prakticky nerozpouští a proto nejsou z hlediska úpravy vody zvláště významnými. Oproti těmto dvěma skupinám jsou humusové kyseliny ve vodě rozpustné a hrají tedy významnou roli při úpravě vody. Většina autorů rozlišuje dvě skupiny humusových kyselin, a to huminové kyseliny a fulvokyseliny, přičemž určujícím parametrem dělení je jejich rozpustnost v kyselém či alkalickém prostředí. Fulvokyseliny se rozpouští v kyselinách i v zásadách, huminové kyseliny jsou rozpustné pouze v zásadách a huminy se nerozpouští vůbec (Peuravuori a Pihlaja, 1997; Domany a kol., 2002; McDonald a kol., 2007; Pivokonský a kol., 2010).

Dalšími parametry, kterými se vzájemně HL liší, jsou molekulová hmotnost, kyselost, obsah funkčních skupin a komplexační schopnosti. (Domany a kol., 2002; Pivokonský a kol., 2011; Muscolo a kol., 2013). Fulvokyseliny mají oproti huminovým kyselinám více homogenní strukturu a obsahují méně aromatických jader. Taktéž jejich molekulové hmotnosti jsou nižší a ve svých strukturách disponují větším množstvím alifatických postranních řetězců. Fulvokyseliny obsahují zároveň více karboxylových skupin, z čehož vyplývá, že mají výrazně kyselější charakter. Fulvokyseliny mají také nižší procentuální obsah uhlíku a naopak vyšší procentuální obsah kyslíku (Bolto, 1993; Domany a kol., 2002; Yang a kol., 2004; Pitter, 2009; Tang a kol., 2014). Kvantitativně jsou huminové kyseliny tvořeny 50-57 % uhlíkem (C), 34-38 % kyslíkem (O) a 4-6 % vodíkem (H). Fulvokyseliny ve své struktuře obsahují 46-55 % uhlíku (C), 37-50 % kyslíku (O) a 4-5 % vodíku (H). V obou skupinách se rovněž v malém množství vyskytuje síra (S) a dusík (N). I přes znalost funkčních skupin a zastoupení jednotlivých prvků nebyla doposud struktura humusových kyselin dostatečně objasněna (Bolto, 1993; Leenheer a kol., 2003; Pitter, 2009; Pivokonský a kol., 2011).

## **2.2.2 Úprava povrchových vod s obsahem huminových látek**

Přítomnost HL v povrchových vodách, stejně jako v případě AOM, je spojena s mnoha problémy. Projevuje se negativním vlivem na barvu, chuť i zápach vody. Charakteristickou barvou, která vypovídá o přítomnosti HL ve vodě je žlutá až žlutohnědá (Eggins a kol., 1997; Duan a kol., 2002; Pitter, 2011). Stejně jako AOM (kapitola 2.1.2.3) i huminové látky mohou být prekurzorem DBPs, které vznikají při hygienickém zabezpečení vody. V povrchových vodách samotné HL nepodléhají procesu samočištění. Dochází u nich pouze k pozvolnému fotochemickému rozkladu, při kterém vznikají nízkomolekulární

sloučeniny, které pomalému biologickému rozkladu již podléhají (Duan a kol., 2002; Yildiz a kol., 2008; Pitter, 2011). Z uvedených skutečností je patrné, že HL jsou v pitné vodě nežádoucí a musí být proto v rámci úpravy vody dostatečně eliminovány.

Nejčastější metodou odstranění HL z povrchových vod je koagulace. Pro vyšší účinnost jejich odstranění může být doplněna o některou z dalších metod, které se běžně při úpravě vody užívají (Alborzfar a kol., 1998; Cheng a Chi., 2002; Siéliéchi a kol., 2008; Pivokonský a kol., 2010; Liu a kol., 2011; Wang a kol., 2014a). Před samotným koagulačním procesem může být zařazena předúprava pomocí UV záření nebo chemická oxidace. Tyto procesy následnou koagulaci činí efektivnější a účinnost odstranění HL může výrazným způsobem vzrůst (Alborzfar a kol., 1998; Wang a kol., 2014a). Dále může být koagulace doplněna o membránovou filtraci, adsorpci na aktivním uhlí či iontovou výměnou. Tyto metody snáze odstraní z vody nízkomolekulární fulvokyseliny, které jsou obecně hůře odstranitelné než vysokomolekulární huminové kyseliny (Amin a Jayson, 1996; Alborzfar a kol., 1998; Pivokonský a kol., 2010; Liu a kol., 2011).

### **2.2.2.1 Koagulace huminových látek**

Koagulace HL nebo jejich částí je proces, který je v současné době velmi dobře charakterizován a byl publikován v mnoha studiích (Edzwald a kol., 1982; Edwards a Amirtharajah, 1985; Gregor a kol., 1987; Jung a kol., 2005; Shi a kol., 2007; Cheng a kol., 2008; Hilal a kol., 2008; Siéliéchi a kol., 2008; Liu a kol., 2009; Wang a kol., 2014b). Stejně jako u AOM (kapitola 2.1.2.1) i u HL má zásadní vliv na jejich koagulaci hodnota pH a dávka koagulačního činidla, které ovlivňují nábojové poměry v upravované vodě (Kam a Gregory, 2001; Liu a kol., 2009; Pivokonský a kol., 2010). Charakter funkčních skupin přítomných na povrchu HL způsobuje, že nesou záporný náboj v širokém rozsahu pH ( $> 4$ ). Koagulace nastává při hodnotách pH kdy HL disponují záporným nábojem a produkty hydrolýzy kovů obsažených v koagulačních činidlech nesou naopak náboj kladný. Koagulace v tomto případě probíhá dvěma základními mechanismy. Adsorpcí na hydroxidech kovů a nábojovou neutralizací. Koncentrace a typ koagulačního činidla, množství HL a pH vody určují, jaký proces koagulace bude při úpravě vody převažovat. Neutralizace náboje probíhá při pH 4-6, zatímco mechanismus adsorpce při pH 6-8. Oba procesy jsou podrobně popsány v kapitole 2.1.2.1 (Kam a Gregory, 2001; Leenheer a kol., 2003; Shi a kol., 2007; Hilal a kol., 2008; Siéliéchi a kol., 2008; Liu a kol., 2009; Pivokonský a kol., 2010).

Liu a kol. (2009) zkoumali koagulaci huminových kyselin za použití koagulačního činidla PACl (polyaluminiumchlorid) a rovněž bylo porovnáváno odstraňování huminových kyselin prostřednictvím nábojové neutralizace a adsorpce. Efekt pH na odstraňování huminových kyselin (původní DOC = 4 mg.l<sup>-1</sup>) byl zkoumán v rozmezí pH 3-9 a při konstantní koncentraci PACl 2 mg.l<sup>-1</sup> Al. Výsledky byly vyjádřeny jako účinnost odstranění UV<sub>254</sub> a DOC. K největšímu odstranění UV<sub>254</sub> (87,6 %) docházelo v pH 4,5-5,5 a v rozmezí pH 5-6 naopak docházelo k neúčinnějšímu odstranění DOC (45 %). Je tedy evidentní, že PACl bylo v koagulačních testech účinnější pro odstraňování UV<sub>254</sub>. Tento fakt je však v rozporu s odbornou literaturou (Pitter, 2009), kde absorbance UV při 254 nm prakticky odpovídá koncentraci DOC huminových látek. Při porovnávání odstraňování huminových kyselin pomocí nábojové neutralizace a adsorpce byla v testech použita dávka PACl 2 a 5 mg.l<sup>-1</sup> Al a výsledky byly opět uváděny jako účinnost odstranění UV<sub>254</sub>. Nábojová neutralizace převládala ve slabě kyselém až kyselém pH (< 6) a byla tedy hlavním mechanismem podílejícím se na odstraňování huminových kyselin ze surové vody, jelikož jak bylo zmíněno výše, je největší účinnost odstranění těchto látek při pH 4,5-6. Adsorpce huminových kyselin na amorfni hydroxid hlinitý (Al(OH)<sub>3</sub>) měla významnou roli až při hodnotách pH ≥ 6. Tato skutečnost je však obecně známá, jelikož při hodnotách pH < 6 se amorfni hydroxid hlinitý prakticky nevyskytuje a adsorpce tedy neprobíhá.

Wang a kol. (2014b) se zabývali koagulačním mechanismem HL před membránovou filtrací. Testy byly prováděny se třemi typy surové vody. V prvním typu byly obsaženy pouze HL, v druhém pouze přirozeně se vyskytující hydrofilní organické koloidy, které v experimentu představují látky huminového i nehuminového charakteru a v posledním obě skupiny znečišťujících příměsí společně. Použitým koagulačním činidlem byl síran hlinitý (Al<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>.14H<sub>2</sub>O). Koagulační testy, ve kterých surová voda obsahovala pouze HL, byly prováděny při dvou různých hodnotách pH (4,5 a 7). Původní koncentrace huminových látek byly 1 a 3 mg.l<sup>-1</sup> a dávka hliníku byla 0; 0,5; 1; 2; 4 a 6 mg.l<sup>-1</sup>. U obou původních koncentrací HL bylo zřetelné, že poměr odstranění těchto látek byl vyšší při pH 4,5, což je způsobeno povrchovým nábojem HL i koagulačního činidla. U koncentrace HL 1 mg.l<sup>-1</sup> bylo dosaženo při dávce hliníku 6 mg.l<sup>-1</sup> a při pH 4,5 téměř k jejich 95 % odstranění, zatímco při pH 7 to bylo pouze zhruba 70 %. Při koncentraci HL 3 mg.l<sup>-1</sup> došlo při dávce hliníku 6 mg.l<sup>-1</sup> a pH 4,5 k jejich 80 % odstranění a při pH 7 k 75 % odstranění. Hodnota poměru odstranění DOC 95% je u počáteční koncentrace HL 1 mg.l<sup>-1</sup> značně zavádějící, jelikož chyba měření je u takto



nízkých koncentrací DOC značná. Výsledky koagulačních testů, které zkoumaly spolupůsobení HL i přirozeně se vyskytujících organických koloidů jsou uvedeny v kapitole 2.2.2.2.

#### **2.2.2.2 Vliv HL na koagulaci ostatních látek**

Poměrně značné množství studií se zabývalo koagulací HL v přítomnosti ostatních příměsí znečišťujících vodu (Jekel, 1986; Dolejš a kol., 1993; Ebie a Amano, 1993; Jiang a kol., 1993; Duan a kol., 2002; Lee a kol., 2005; Yang a kol., 2010; Wang a kol., 2014b). Koagulace HL za přítomnosti kaolinových částic je podrobně popsána v publikacích Ebie a Amano (1993) a Yang a kol. (2010). V publikaci Ebie a Amano (1993) byl koagulačním činidlem PACl (polyaluminiumchlorid) a byly použity tři typy modelové surové vody. V prvním případě voda obsahovala pouze kaolinové částice, v dalším pouze huminové kyseliny a v posledním oba tyto komponenty společně. Během všech zkoušek dosahovaly koncentrace huminových kyselin  $5 \text{ mg.l}^{-1}$ , kaolinových částic  $20 \text{ mg.l}^{-1}$  a PACl  $25 \text{ mg.l}^{-1}$ . Hodnota pH se v rámci tohoto experimentu pohybovala v rozmezí 3-8. U vody, která obsahovala pouze kaolinové částice, došlo k jejich nejúčinnějšímu odstranění (97-98 %) při hodnotách pH nad 5,5. V případě, kdy voda obsahovala pouze huminové kyseliny největší účinnosti jejich odstranění (40 %) došlo v rozsahu pH 4-5,5. U vody, která obsahovala oba komponenty, bylo prokázáno, že optimální odstranění obou probíhá v pH 3-5, kdy účinnost odstranění huminových kyselin byla 80 % a kaolinu 97 %. Při pH, ve kterém byly kaolinové částice za nepřítomnosti huminových kyselin odstraňovány s největší efektivitou ( $> 5,5$ ), došlo pouze k 15 % odstranění kaolinu za přítomnosti huminových kyselin. Z výsledků experimentu je tedy evidentní, že koagulace kaolinových částic úzce závisí na koagulaci huminových kyselin, s kterými tvoří za přítomnosti produktů hydrolyzy koagulačního činidla agregáty odstranitelné běžnými fyzikálními mechanismy.

Yang a kol. (2010) studovali efekt pH na koagulaci vody obsahující HL a kaolinové částice pomocí tří typů koagulačních činidel ( $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  a PACl), jejichž koncentrace byly ve všech koagulačních testech konstantní ( $10 \text{ mg.l}^{-1} \text{ Al}_2\text{O}_3$ ). Počáteční koncentrace HL byly  $10 \text{ mg.l}^{-1}$ , absorbance  $\text{UV}_{254}$  0,500 a zákal, který charakterizuje množství kaolinových částic, byl  $15 \pm 0,5 \text{ NTU}$  (Nephelometric Turbidity Units). Rozmezí zkoumaného pH bylo 4-9. Nejvyšší účinnost odstranění zákalu i HL byla pozorována při pH 6-7, přičemž v nižším pH docházelo k zásadnějšímu poklesu účinnosti odstranění obou komponent než u vyšších hodnot pH. Účinnosti odstranění zákalu se lišily u jednotlivých

koagulačních činidel v následujícím pořadí:  $\text{AlCl}_3 > \text{PACl} > \text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$  (94 % > 91,5 % > 90,5 %), zatímco pořadí jejich účinnosti jednotlivých koagulačních činidel při odstranění HL bylo  $\text{PACl} > \text{AlCl}_3 > \text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$  (88,5 % > 87 % > 82 %). Nejúčinnějším koagulačním činidlem z hlediska odstranění zákalu i HL byl tedy  $\text{AlCl}_3$  následovaný PACl. Nejnižší hodnoty zbytkového Al byly v experimentu dosaženy při pH 7-8. Výstupem studie je zjištění, že pro optimální podmínky koagulace jsou nutné výrazně vyšší hodnoty pH, než tomu tak bylo u studií, které hodnotily koagulaci samotných HL nebo koagulaci HL za přítomnosti kaolinových částic (Ebie a Amano, 1993; Liu a kol., 2009; Wang a kol., 2014b). Autoři vysvětlují tento posun především přítomností pozitivních a vysoce polymerních produktů hydrolyzy koagulačních činidel při pH 6-8, které koloidní sloučeniny snadno adsorbují na svém povrchu a vytvoří agregáty s nízkou rozpustností a s velkým povrchem. Výsledky publikace Yang a kol. (2010) jsou v rozporu s řadou studií (Ebie a Amano, 1993; Liu a kol., 2009; Šafaříková a kol., 2013; Wang a kol., 2014b), ve kterých bylo zjištěno dle koagulačních mechanismů a charakterizací jednotlivých komponent, že díky nábojovým charakteristikám probíhá účinná koagulace nejčastěji v rozmezí pH přibližně 4-6.

V kapitole 2.2.2.1 je uveden souhrn výsledků koagulačních testů s HL, které byly prováděny v rámci studie Wang a kol. (2014b). Ve studii se vyskytuje rovněž část, která se zabývá koagulací HL v přítomnosti přirozeně se vyskytujících hydrofilních organických koloidů huminového i nehuminového charakteru. Testy byly prováděny při neutrální hodnotě pH (7) a dávky koagulačního činidla ( $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 14\text{H}_2\text{O}$ ) byly 0; 0,5; 1; 2; 4; 6 a 8  $\text{mg.l}^{-1}$  Al. Koncentrace HL dosahovaly hodnot 1 a 3  $\text{mg.l}^{-1}$ . Zatímco při testech se samotnými HL o koncentraci 1  $\text{mg.l}^{-1}$  došlo při koncentraci koagulačního činidla 6  $\text{mg.l}^{-1}$  k cca 70 % odstranění HL, za přítomnosti 1  $\text{mg.l}^{-1}$  látek nehuminového charakteru se účinnost jejich odstranění zvýšila na 93 %. Zlepšení lze pozorovat i za přítomnosti vyššího množství HL (3  $\text{mg.l}^{-1}$ ), kde oproti koagulaci za nepřítomnosti organických koloidů (75 % účinnost odstranění) došlo k 82 % účinnosti jejich odstranění. Autoři předpokládají, že přítomnost organických koloidů napomáhá tvorbě agregátů, které mohou být z vody odstraněny běžnými fyzikálními metodami, díky interakcím spolu s produkty hydrolyzy koagulačního činidla.

Koagulací HL při různých hodnotách iontové síly se zabývala studie Hilal a kol. (2008). Rovněž v rámci studie došlo i k hodnocení vlivu těžkých kovů na koagulaci HL. Jako koagulační činidla byly použity dva různé polyelektrolyty, a to polydiallyl dimethylamonný chlorid (PDADMAC) a dimethyl animoetyl akrylát (CoAA). Výsledné koncentrace HL byly

udávány jako poměr  $UV_{254}$  po koagulaci a  $UV_{254}$  počátečního roztoku ( $UV/UV_0$ ). Při koagulačních testech bez přítomnosti těžkých kovů byly použity koncentrace HL 10, 20, 30 a 40  $mg.l^{-1}$ , koncentrace polyelektrolytů 0,01; 0,1; 1 a 2  $mg.l^{-1}$  a iontová síla dosahovala hodnot 170,4; 426,1 a 596,5  $mmol.l^{-1}$  NaCl. Bylo zjištěno, že iontová síla významně ovlivňuje odstranění HL při koagulaci, jelikož poměr  $UV/UV_0$  pro hodnoty iontové síly 170,4; 426,1 a 596,5  $mmol.l^{-1}$  NaCl byl 0,86; 0,68 a 0,66 při počáteční koncentraci HL 10  $mg.l^{-1}$  a koncentraci 2  $mg.l^{-1}$  PDADMAC. Je tedy evidentní, že s rostoucí iontovou silou roztoku rostlo i odstranění HL. Dalšími výstupy této části byly větší účinnost odstranění HL při koagulaci za použití elektrolytu PDADMAC a zároveň rostoucí odstranění HL s rostoucími koncentracemi koagulačních činidel. Při 170,4  $mmol.l^{-1}$  NaCl a počáteční koncentraci HL 10  $mg.l^{-1}$  dosahovaly hodnoty poměru  $UV/UV_0$ , pro koncentrace elektrolytu PDADMAC 0; 0,01; 0,1; 1 a 2  $mg.l^{-1}$ , 0,89; 0,91; 0,89; 0,8 a 0,7. Příčinou lepšího odstranění HL byla zvyšující se iontová síla roztoku, která má vliv na elektrickou dvojvrstvu, jejíž difúzní část se zmenšuje a mohou postupně převládnout přitažlivé síly, které jsou nezbytné pro vznik větších agregátů. Ve druhé části výzkumu byl zkoumán vliv těžkých kovů (dvojmocné formy mědi, kadmia, kobaltu, niklu a zinku) na koagulaci HL. Koncentrace HL byly identické jako při koagulačních testech bez přítomnosti těžkých kovů. Koncentrace těžkých kovů dosahovaly hodnot 5 a 10  $mg.l^{-1}$ , iontová síla 170,4 a 426,1  $mmol.l^{-1}$  NaCl a koncentrace elektrolytů 1 a 2  $mg.l^{-1}$  PDADMAC a 1  $mg.l^{-1}$  CoAA. Odstranění HL nabývalo vyšších hodnot při koncentraci těžkých kovů 10  $mg.l^{-1}$  ( $UV/UV_0 = 0,5$ ) i koncentraci 5  $mg.l^{-1}$  ( $UV/UV_0 = 0,6$ ) oproti koagulaci bez jejich přítomnosti, kdy tento poměr dosahoval hodnoty 0,7. Dvojmocné formy těžkých kovů zvyšují iontovou sílu roztoku a ovlivňují tedy elektrickou dvojvrstvu kompresí její difúzní vrstvy, což má za následek efektivnější koagulaci HL.

Spolupůsobení HL a buněk sinic *Asterionella formosa* bylo zkoumáno ve studii Jiang a kol. (1993). Smyslem studie bylo porovnání koagulační účinnosti čtyř koagulantů, a to polymerního síranu železitého (PFS - Polyferric Sulphate), síranu železitého, síranu hlinitého a PACl. Jedním z koagulačních testů byl test s modelovou vodou, která obsahovala HL a sinicové buňky, přičemž hodnota pH byla ustálena na 7,5. Roztok řas byl ředěn takovým způsobem, aby hodnoty DOC dosahovaly 2,5  $mg.l^{-1}$  před přidáním různých koncentrací HL. HL dosahovaly koncentrací 0, 1, 2 a 5  $mg.l^{-1}$  a množství koagulačních činidel se pohybovalo v rozmezí 4 až 40  $mmol.l^{-1}$  Fe/Al. Z výsledků je patrné, že u všech typů koagulačních činidel

dochází, s postupně se zvyšujícími koncentracemi HL, k nárůstu inhibice koagulace. Například při látkovém množství koagulačního činidla PFS 20 mmol.l<sup>-1</sup> Fe došlo za nepřítomnosti HL k 70 % odstranění původního DOC. Při koncentraci HL 1 mg.l<sup>-1</sup> to již bylo 60 % a při koncentraci HL 5 mg.l<sup>-1</sup> pouze 45 %.

### **2.2.2.3 Vedlejší produkty dezinfekce vody s obsahem huminových látek**

Přítomnost HL v povrchových vodách může mít, stejně jako přítomnost AOM (kapitola 2.1.2.3), vliv na tvorbu DBPs. Zásadním problémem těchto látek je jejich negativní vliv na barvu a zákal vody. Mohou způsobovat nepříznivý pach a v neposlední řadě vykazují karcinogenní účinky (Kim a Yu, 2007; Yildiz a kol., 2008). Důležitá pro tvorbu DBPs je molekulární struktura, jelikož potenciál tvorby DBPs klesá spolu s aromaticitou molekul a s molekulovou hmotností, z čehož vyplývá, že HL nemají tak výrazný potenciál pro tvorbu DBPs jako například AOM (El-Rehaili a Weber Jr., 1987; Singer, 1999; Kim a Yu, 2007).

Nejvýznamnějšími DBPs, které mohou vznikat při dezinfekci vody bohaté na HL, jsou THMs, HAAs, halo ketony, haloacetonitráty a další (Singer, 1999; Zhang a Minear, 2006; Kim a Yu, 2007).

Nejúčinnějším opatřením pro snížení tvorby DBPs je důsledné odstranění HL z upravované vody, čehož lze dosáhnout vhodným uspořádáním technologií úpravy vody (Kim a Yu, 2007; Lin a kol., 2014).

## 3 Materiál a metodika

### 3.1 Odběr kultury *Microcystis aeruginosa*

Odběr buněk sinice *Microcystis aeruginosa* byl prováděn prostřednictvím planktonní sítě s velikostí ok 0,01 mm z hladiny nádrže Švihov. Následně byly buňky promyty destilovanou vodou (pomocí 0,125 M NaHCO<sub>3</sub> bylo pH ustáleno na hodnotě 7), aby se zbavily případných hrubých nečistot. V dalším kroku byly promyté buňky procezeny přes nerezové síto, jež mělo velikosti ok 0,1 mm. Buňky dále byly odděleny z vody filtrací pomocí membránového filtru o velikosti pórů 0,22 μm. Mikroskopickým rozbořem bylo zjištěno, že kvantitativní zastoupení sinice *Microcystis aeruginosa* bylo cca 99 %, přičemž zbylý podíl byl tvořen sinicí *Microcystis wesenbergii*.

### 3.2 Příprava COM

Oddělené buňky sinice *Microcystis aeruginosa* byly, po smíchání s demineralizovanou vodou, destruovány ultrazvukem (UP400S, Hielscher Ultrasonics, SRN) po dobu 5 minut v ledové lázni při výkonu 240 W a frekvenci 20 kHz. Od zbytků buněčné hmoty byly COM odděleny pomocí membránového filtru o velikosti pórů 0,22 μm (Millipore, USA). Dále došlo k zahuštění COM na vakuové odparce při teplotě 20 °C (Laborota 4000 HB/G1, SRN). Vzorky COM získané tímto způsobem byly zamrazeny a uchovány při teplotě -18 °C.

### 3.3 Charakterizace COM

#### 3.3.1 Izolace peptidové/proteinové složky COM

Ze vzorků COM došlo k izolaci peptidů a proteinů prostřednictvím dvoustupňového srážení síranem amonným ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) při 0 °C. Metodika srážení peptidů a proteinů je podrobně popsána v Dawson a kol.(1986). Sražené peptidy a proteiny byly odděleny od neproteinových rozpuštěných organických látek filtrací přes membránový filtr s velikostí pórů 0,22 μm (Millipore, USA). Sraženina byla následně rozpuštěna v demineralizované vodě o objemu 200 ml.

#### 3.3.2 Stanovení podílu peptidové/proteinové složky COM

Rozpuštěný organický uhlík peptidů a proteinů (DOC<sub>P</sub>), který vyjadřuje jejich podíl v COM, byl určen z rozdílu rozpuštěného organického uhlíku celkového (DOC<sub>T</sub>) a

rozpuštěného organického uhlíku látek neproteinového charakteru ( $\text{DOC}_{\text{NP}}$ ), které byly odděleny filtrací přes membránový filtr o velikosti pórů  $0,22 \mu\text{m}$  (Millipore, USA) od sraženiny proteinů, viz rovnice (1)

$$\text{DOC}_{\text{P}} = \text{DOC}_{\text{T}} - \text{DOC}_{\text{NP}} \quad (1)$$

Dalším krokem bylo odstranění zbytkových koncentrací znečišťujících nízkomolekulárních látek (srážedla) ze vzorků rozpuštěných peptidů a proteinů prostřednictvím PLAC 1000 Da ultrafiltrační membrány (Millipore, USA). Použita byla filtrační aparatura Solvent Stirred Cell (Millipore, USA) s míchanou filtrační celou. Tlak dusíkové atmosféry ve filtrační cele byl 1 bar. Obsah filtrační cely byl kontinuálně míchán při  $60 \text{ ot. min}^{-1}$ .

Izolace peptidů a proteinů z COM a stanovení jejich podílu v COM byly v průběhu experimentů prováděny opakovaně a konečné hodnoty koncentrací  $\text{DOC}_{\text{P}}$  se pohybovaly okolo  $500 \text{ mg.l}^{-1}$ , přičemž chyba stanovení byla vždy do 5 %.

### 3.3.3 Stanovení povrchového náboje COM peptidů/proteinů

Povrchový náboj peptidů/proteinů byl stanoven pomocí potenciometrické titrace, prostřednictvím které lze určit množství funkčních skupin schopných přijmout proton a nést tedy náboj. Titrace byla provedena pomocí autotitrátoru Orion 960 (Thermo Scientific, USA) v dusíkové atmosféře. Vzorky obsahovaly COM peptidy/proteiny ( $\text{DOC} = 500 \text{ mg.l}^{-1}$ ), které byly připraveny v destilované vodě (150 ml) s obsahem 0,1 M NaCl. Hodnota pH byla upravena za použití 1 M NaOH na 12 a poté došlo k titraci vzorku 0,05 M HCl do pH 1,5. Titrace slepého vzorku byla provedena identicky jako titrace peptidů/proteinů. Počet funkčních skupin přítomných na povrchu peptidů/proteinů schopných přijmout proton byl získán rozdílem mezi titrační křivkou HL a slepým vzorkem (Newcombe, 1994). Bod titrační křivky s minimální změnou pH s přidaným množstvím  $\text{H}^+$  iontů představuje disociační konstanty funkčních skupin peptidů/proteinů. Naopak body titrační křivky s maximální změnou pH s přidaným množstvím  $\text{H}^+$  iontů označujeme jako body ekvivalence (Chang, 2005). Rozdíl v počtu přijatých  $\text{H}^+$  iontů mezi sousedními body ekvivalence je spojen s množstvím specifických funkčních skupin, které disociují při hodnotách pH mezi těmito body. Počet specifických funkčních skupin byl vypočítán dle rovnice (2)

$$N_{\text{R}} = N_{\text{H}^+}(I_1) - N_{\text{H}^+}(I_2) \quad (2)$$

$N_R$  představuje množství specifických funkčních skupin,  $N_{H^+}(I_1)$  množství přidaných  $H^+$  iontů v bodě ekvivalence 1 a  $N_{H^+}(I_2)$  množství přidaných  $H^+$  iontů v bodě ekvivalence 2.

### 3.4 Příprava HL

Huminové látky ve formě fulvokyselin a huminových kyseliny byly získány ze standardizovaného výluhu vláknité rašeliny. Vlákničitá rašelina (Aqua Exotic, Slovensko) byla louhována v demineralizované vodě po dobu dvou měsíců. Koncentrace huminových látek pro analýzy byly po vyluhování rašeliny upraveny na hodnotu  $5 \text{ mg.l}^{-1}$ .

### 3.5 Charakterizace HL

#### 3.5.1 Stanovení povrchového náboje huminových látek

Povrchový náboj huminových látek byl stanoven rovněž pomocí potenciometrické titrace. Pomocí této metody lze detekovat množství funkčních skupin, které jsou schopné přijmout proton a tudíž nést náboj. Potenciometrická titrace byla provedena v dusíkové atmosféře za použití autotitrátoru Orion 960 (Thermo Scientific, USA). Vzorky obsahovaly HL ( $\text{DOC} = 500 \text{ mg.l}^{-1}$ ), které byly připraveny ve 150 ml destilované vody s  $0,1 \text{ M NaCl}$ . Hodnota pH byla upravena prostřednictvím  $1 \text{ M NaOH}$  na 12 a poté byl vzorek titrován  $0,05 \text{ M HCl}$  do pH 2. Titrace slepého vzorku probíhala identicky jako titrace HL. Počet deprotonovaných funkčních skupin přítomných na povrchu HL byl získán jako rozdíl mezi titrační křivkou HL a slepého vzorku (Newcombe, 1994). Předpokládá se, že bod titrační křivky s minimální změnou pH s přidaným množstvím  $H^+$  iontů reprezentuje disociační konstanty funkčních skupin HL. Zároveň body titrační křivky s maximální změnou pH s přidaným množstvím  $H^+$  iontů charakterizujeme jako body ekvivalence (Chang, 2005). Rozdíl v počtu přijatých  $H^+$  iontů mezi dvěma body ekvivalence koresponduje s množstvím specifických funkčních skupin, které disociují v rozmezí pH mezi těmito body. Počet specifických funkčních skupin byl vypočítán dle rovnice (3)

$$N_R = N_{H^+}(I_1) - N_{H^+}(I_2) \quad (3)$$

$N_R$  v tomto případě představuje množství specifických funkčních skupin,  $N_{H^+}(I_1)$  značí množství přidaných  $H^+$  iontů v bodě ekvivalence 1 a  $N_{H^+}(I_2)$  množství přidaných  $H^+$  iontů v bodě ekvivalence 2.

### 3.6 Stanovení molekulových hmotností peptidů/proteinů a HL

Stanovení relativních molekulových hmotností (MW - Molecular Weight) peptidů/proteinů obsažených v COM probíhalo pomocí HPSEC (High Performance Size Exclusion Chromatography) za použití kolon Agilent Bio SEC-5 100 Å, 300 Å a 500 Å (7,8 × 300 mm, 5 μm). Kolony byly spojeny do série, separační rozsah činil 100-1250000 Da. Použit byl systém HPLC (High Performance Liquid Chromatography) (Agilent Technologies, USA) s detektorem s DAD – Diode Array Detector a FLD – Fluorescence Detector. Pro detektor DAD byla použita vlnová délka k detekci peptidů a proteinů 280 nm, jelikož pro tyto vykazuje největší odezvu (Pivokonský a kol., 2006). Pro detekci HL byla použita vlnová délka 320 nm (Zhou a kol., 2000; Alberts a kol., 2002). Naopak pro detektor FLD to byly vlnové délky (excitační/emisní záření) 280/350 nm pro detekci peptidů/proteinů (Myat a kol., 2012) a 320/450 nm pro HL (Matilainen a kol., 2011). Objem nástřiku vzorků činil 50 μl. Průtok kolonou probíhal při teplotě 23 °C a byl 1 ml.min<sup>-1</sup>. Mobilní fází byl v tomto případě použit 0,15 M fosfátový pufr, který měl hodnotu pH 7. K odvození MW detekovaných sloučenin došlo pomocí kalibrační křivky SEC standardů, u kterých byly MW definovány (Sigma-Aldrich, USA). Kontrolními vzorky použitými v testu byly ovalbumin (44kDa) a γ-globulin (158 kDa) (BioRad Laboratories, USA). Chyba měření byla pro ovalbumin ± 0,64 kDa a pro γ-globulin ± 0,95 kDa. Při opakovaných měřeních se odchylky MW pohybovaly do 3%.

### 3.7 Optimalizační sklenicové zkoušky

Optimalizační sklenicové zkoušky byly uskutečněny na pádlové míchací koloně o osmi místech (LMK 8-03, Ústav pro hydrodynamiku AV ČR, v. v. i.) v jednolitrových nádobách. V jednotlivých sklenicových zkouškách byla použita demineralizovaná voda, jejíž celková kyselinová neutralizační kapacita (KNK<sub>4,5</sub>) byla upravena pomocí 0,125 M NaHCO<sub>3</sub> na hodnotu 1,5 mmol.l<sup>-1</sup> a do které byly dávkovány příslušné koncentrace peptidů a proteinů z COM a/nebo výluh z vláknité rašeliny. Hodnota pH byla upravena pomocí 0,1 M HCl, 0,125 M NaHCO<sub>3</sub> a 0,1 M NaOH, tak aby výsledná hodnota pH u koagulující suspenze byla v rozmezí 3,0-9,0. Koagulačním činidlem ve všech sklenicových zkouškách byl síran hlinitý (Al<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>.18H<sub>2</sub>O).



V rámci diplomové práce byly provedeny tyto koagulační pokusy:

- 1) s huminovými látkami o počáteční koncentraci DOC 5 mg.l<sup>-1</sup> a koagulačním činidlem (Al<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>.18H<sub>2</sub>O)
- 2) se sinicovými peptidy/proteiny o počáteční koncentraci DOC 3, 5 a 8 mg.l<sup>-1</sup> a koagulačním činidlem
- 3) se sinicovými peptidy/proteiny o počáteční koncentraci DOC 3, 5 a 8 mg.l<sup>-1</sup> a huminovými látkami o počáteční koncentraci DOC 5 mg.l<sup>-1</sup> a koagulačním činidlem
- 4) se sinicovými proteiny o počáteční koncentraci DOC 3, 5 a 8 mg.l<sup>-1</sup> a huminovými látkami o počáteční koncentraci DOC 5 mg.l<sup>-1</sup> bez koagulačního činidla.

Optimální dávka koagulačního činidla pro testy se sinicovými proteiny, huminovými látkami a jejich směsí byla optimalizována v rozsahu od 10 do 50 mg.l<sup>-1</sup>. V následných testech pro optimální hodnoty pH byly použity získané optimální dávky koagulačního činidla.

Sklenicové zkoušky, ve kterých bylo použito koagulační činidlo (Al<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>.18H<sub>2</sub>O) zahrnovaly homogenizační míchání o středním gradientu rychlosti  $\bar{G} = 150 \text{ s}^{-1}$  po dobu 1 minuty a po dobu 15 minut agregační míchání o středním gradientu rychlosti  $\bar{G} = 30 \text{ s}^{-1}$ . Míchání u sklenicových zkoušek bez přítomnosti koagulačního činidla (Al<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>.18H<sub>2</sub>O) trvalo déle, jelikož proces agregace probíhal pomaleji. Homogenizační míchání trvalo 1 minutu ( $\bar{G} = 150 \text{ s}^{-1}$ ) a míchání agregační 44 minut ( $\bar{G} = 20 \text{ s}^{-1}$ ). Po sklenicových zkouškách došlo k odstředění vzorků po dobu 20 minut při 3000 ot.min<sup>-1</sup>, relativní odstředivé zrychlení (RCF - Relative Centripetal Force) bylo 1469 g (odstředivka MPW-350, MPW Med-Instruments, Polsko) a z těchto byly stanoveny hodnoty zbytkového DOC, pH, KNK<sub>4,5</sub>, zbytkové koncentrace Al a UV absorpance při 254 nm (Pivokonský a kol., 2011). Uvedené pokusy byly opakovány nejméně třikrát.

### **3.8 Stanovení pH, Al, KNK, DOC a UV-VIS**

Hodnota pH byla stanovena potenciometricky (pH metr Accumet AB 15+, Fisher Scientific, USA). Zbytkové koncentrace hliníku (Al) po sklenicových zkouškách byly stanoveny spektrofotometricky (Spekol 11, Carl Zeitz Jena, SRN) při 580 nm po reakci se směsným činidlem, pyrokatecholovou violetí a tlumivým roztokem hexamethylentetraaminu. Stanovení celkové kyselinové neutralizační kapacity (KNK<sub>4,5</sub>) probíhalo titrací 0.1 M HCl za přítomnosti indikátoru methyloranž. Jednotlivé metodiky stanovení jsou podrobně popsány

v literatuře (Horáková a kol., 2003). Měření probíhala opakovaně a chyba stanovení se ve všech případech pohybovala do 5 %.

Analýza DOC byla prováděna na analyzátoru Shimadzu TOC-V<sub>CPH</sub> (Shimadzu Corporation, Japonsko). DOC byl určen jako rozdíl hodnot uhlíku celkového (TC - Total Carbon) a uhlíku anorganického (IC - Inorganic Carbon). Kalibračními standardy použitými v analýze byly hydrogenuhličitan sodný (TC standard), hydrogenftalát draselný (TC standard) a bezvodý uhličitan sodný (IC standard). Slepým vzorkem byla demineralizovaná voda. Jednotlivá měření byla prováděna opakovaně a nejméně třikrát, chyba měření byla vždy do 2 %.

Pro rozlišení koncentrací HL a sinicových peptidů/proteinů po sklenicových optimalizačních zkouškách byly měřeny hodnoty absorbancí ultrafialového záření (UV - ultraviolet) při 254 nm. Hodnoty absorbancí UV<sub>254</sub> byly měřeny ultrafialovo-viditelnou spektroskopií (UV/VIS) na přístroji UV/VIS 8453A spektrofotometr (Agilent Technologies, USA). Huminové látky při 254 nm vykazují, oproti sinicovým proteinům a peptidům, vysokou odezvu. Po kalibraci absorbancí a huminových látek byly odečítány zbytkové koncentrace huminových látek z kalibrační křivky.

## 4 Výsledky a diskuse

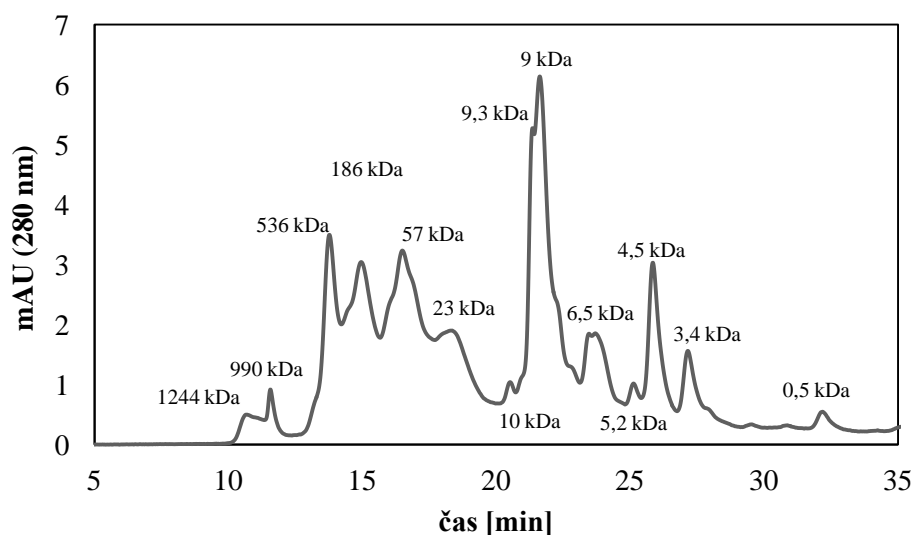
### 4.1 Charakterizace sinicových peptidů a proteinů

#### 4.1.1 Podíl peptidů a proteinů v COM

COM, které jsou produkovány sinicí *Microcystis aeruginosa* z významné části tvoří peptidy a proteiny, které následně mají významný vliv na proces úpravy vody (Pivokonský a kol., 2006; 2014). V rámci diplomové práce byl stanoven podíl peptidů/proteinů obsažených v COM na přibližně 63 % celkového DOC<sub>T</sub> COM. Tyto výsledky jsou v souladu se studii Pivokonský a kol. (2006, 2014) a Henderson a kol. (2008a), ve kterých byl podíl peptidů/proteinů stanoven v rozmezí 62-66 % z celkové koncentrace COM sinice *Microcystis aeruginosa* ve stacionární fázi.

#### 4.1.2 Molekulové hmotnosti peptidů a proteinů

Charakterizace molekulových hmotností peptidů/proteinů byla provedena pomocí HPSEC analýzy. Chromatogram MW COM peptidů/proteinů je zobrazen na obr. 1. Identifikovány byly peptidy/proteiny o hodnotách: 0,5; 3,4; 4,5; 5,2; 6,5; 9; 9,3; 10; 23; 57; 186; 536; 990 a 1244 kDa. Metoda HPSEC je velikostní metodou nikoli hmotnostní, tudíž je nutné na stanovené hodnoty MW pohlížet jako na relativní.



Obr.1 MW peptidů a proteinů obsažených v COM sinice *Microcystis aeruginosa*

### 4.1.3 Povrchový náboj COM peptidů/proteinů

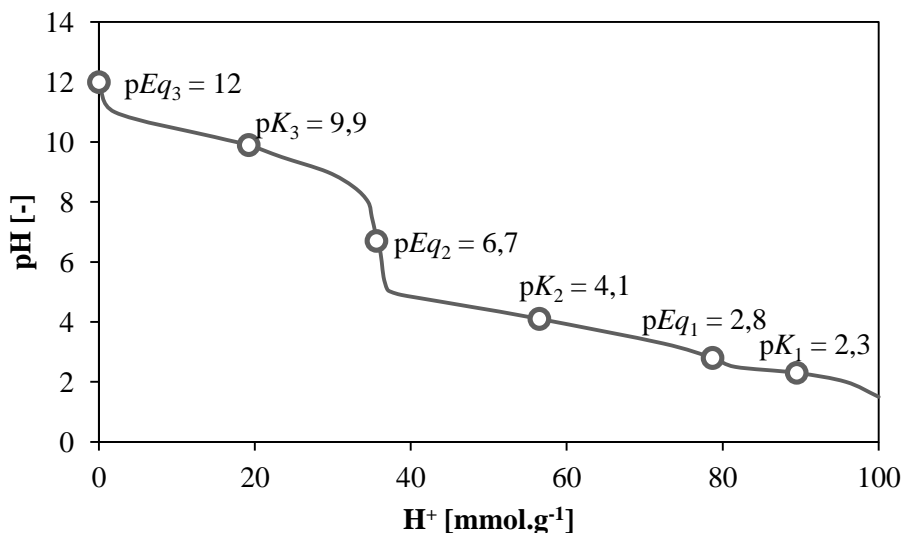
Potenciometrickou titrací 0,05 M HCl byl zjištěn povrchový náboj COM peptidů/proteinů. Množství protonů, které jsou peptidy/proteiny schopné při dané hodnotě pH přijmout je znázorněno na obr. 2. Toto množství je shodné s množstvím disociovaných funkčních skupin ( $\text{mmol.l}^{-1} \text{H}^+$ ). V rámci titrační křivky jsou zřejmé tři disociační konstanty ( $\text{p}K_1 = 2,3$ ;  $\text{p}K_2 = 4,1$  a  $\text{p}K_3 = 9,9$ ) a tři body ekvivalence ( $\text{p}Eq_1 = 2,8$ ;  $\text{p}Eq_2 = 6,7$  a  $\text{p}Eq_3 = 12$ ). Identifikované body ekvivalence a disociační konstanty odpovídají hlavním funkčním skupinám peptidů/proteinů. Hodnota  $\text{p}K_3$  9,9 může být prisuzována několika funkčním skupinám, jejichž disociační konstanty se nachází v alkalickém pH ( $-\text{SH}$ ,  $-\text{OH}$ ,  $=\text{NH}_2^+$ ,  $-\text{NH}_3^+$ ). Disociační konstanta  $\text{p}K_2$  4,1 odpovídá skupinám  $-\text{COOH}$  postranních řetězců peptidů/proteinů ( $\beta\text{-COOH}$  kyseliny asparagové s  $\text{p}K_a = 3,9$  a  $\gamma\text{-COOH}$  kyseliny glutamové s  $\text{p}K_a = 4,3$ ). Poslední disociační konstanta  $\text{p}K_1$  2,3 představuje skupiny  $-\text{COOH}$  koncových aminokyselin v COM peptidech/proteinech ( $\alpha\text{-COOH}$ ) (Newcombe, 1994; Chang, 2005). Množství funkčních skupin peptidů/proteinů lze vypočítat z počtu iontů  $\text{H}^+$  přidaných mezi dvěma sousedícími body ekvivalence, které jsou definovány jako začátek a konec disociace dané funkční skupiny (Chang, 2005). Počet přidaných iontů  $\text{H}^+$  je zobrazen na obr. 9, na ose x. Dle rovnice (2), která je uvedena v kapitole 3.3.3 se předpokládá, že počet funkčních skupin na povrchu COM peptidů/proteinů je následovný:

$$N_{\alpha\text{-COOH}} = 100 - 79 = 21 \text{ mmol.g}^{-1}$$

$$N_{\beta+\gamma\text{-COOH}} = 79 - 36 = 43 \text{ mmol.g}^{-1}$$

$$N_{\text{alkalické}} = 36 - 0 = 36 \text{ mmol.g}^{-1}$$

Z výsledků je evidentní, že COM peptidy/proteiny nesou oproti ostatním organickým látkám (např. HL) větší množství specifických funkčních skupin. Z titrační křivky je rovněž patrné, že kladný náboj COM peptidů/proteinů převládá do pH 6,7.

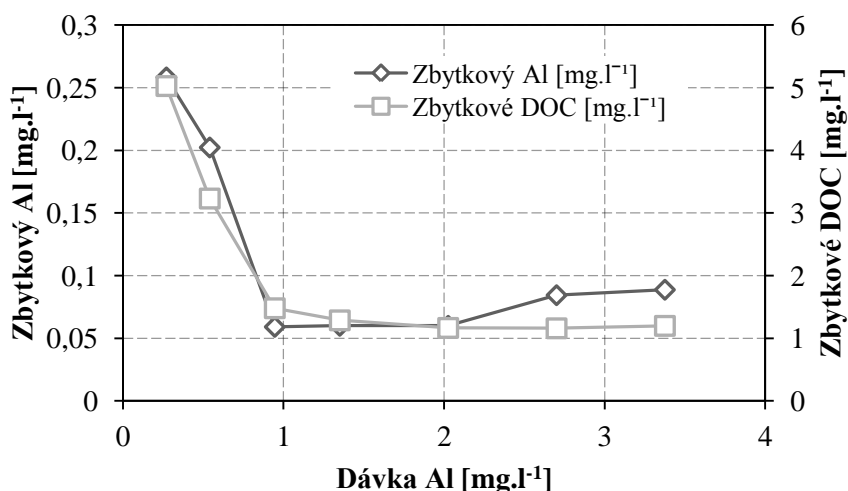


Obr. 2 Titrační křivka COM peptid/proteinů s body ekvivalence ( $pEq_1$ ,  $pEq_2$ ,  $pEq_3$ ) a disociačními konstantami ( $pK_1$ ,  $pK_2$ ,  $pK_3$ )

## 4.2 Koagulace sinicových peptidů a proteinů

### 4.2.1 Optimalizace dávky koagulačního činidla

Dávka koagulačního činidla byla stanovena pomocí sklenicové optimalizační zkoušky pro surovou vodu (demineralizovaná voda + 0,125 M  $NaHCO_3$  (KNK<sub>4,5</sub> na hodnotu 1,5 mmol.l<sup>-1</sup>) + COM peptidy/proteiny s DOC = 5 mg.l<sup>-1</sup>), jejíž pH bylo upraveno pomocí 0,125 M  $NaHCO_3$  na hodnotu 6 (Pivokonský a kol., 2012). Vliv dávky koagulačního činidla na zbytkové koncentrace hliníku a DOC je uveden na obr. 3. Je zřejmé, že k maximálnímu odstranění DOC (téměř 80 % redukce) došlo při počáteční dávce hliníku 2,03 mg.l<sup>-1</sup> (0,075 mmol.l<sup>-1</sup>). Další přidavek koagulačního činidla po docílení optimální dávky již účinnost odstranění DOC nezvýšil. K neúčinnějšímu odstranění zbytkového hliníku došlo již při původní dávce hliníku 0,95 mg.l<sup>-1</sup> (0,035 mmol.l<sup>-1</sup>). Ze zbytkových koncentrací hliníku a DOC byla stanovena optimální dávka hliníku na 2,03 mg.l<sup>-1</sup> (0,075 mmol.l<sup>-1</sup>).



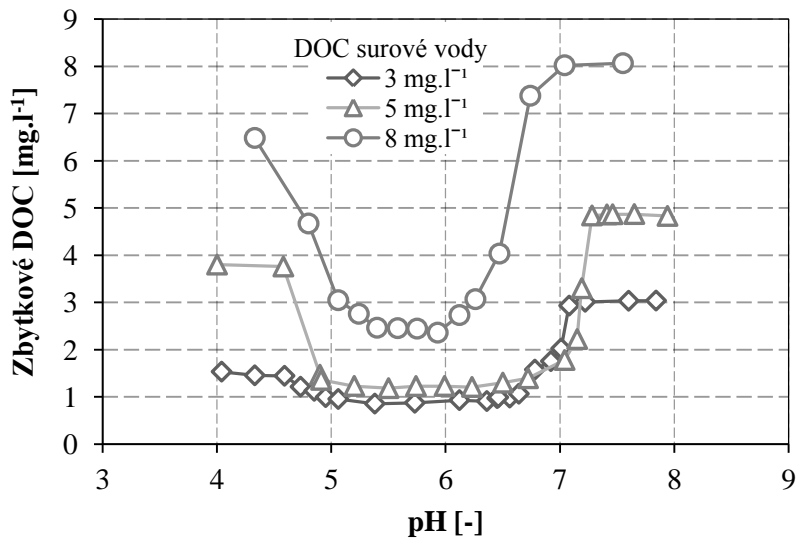
Obr. 3 Závislost zbytkových koncentrací Al a DOC na dávce Al při počáteční koncentraci DOC peptidů/ proteinů 5 mg.l<sup>-1</sup>

#### 4.2.2 Optimalizace pH

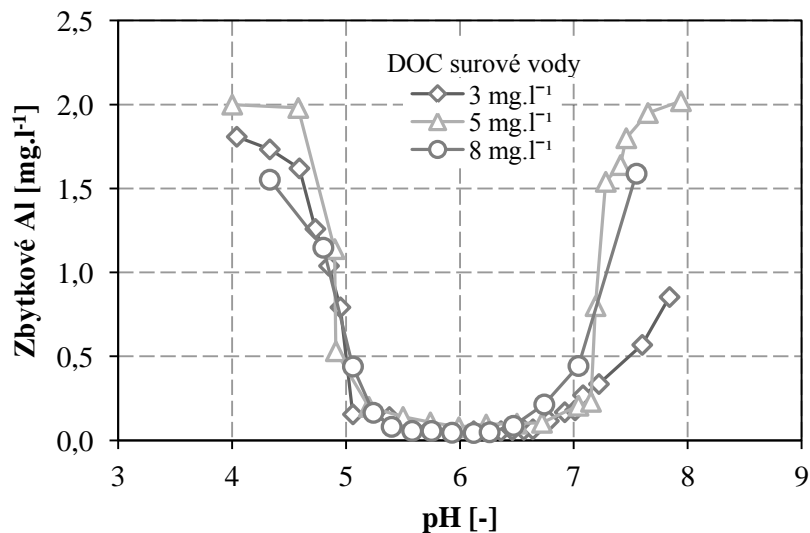
Stanovená dávka Al 2,03 mg.l<sup>-1</sup> byla následně použita v koagulačních testech, které byly zaměřeny na optimalizaci pH. Úprava pH surové vody byla provedena pomocí 0,1 M HCl, 0,125 M NaHCO<sub>3</sub> a 0,1 M NaOH tak, aby se po přidavku koagulačního činidla pohybovala v rozmezí cca 3,0 až 9,0. Provedeny byly série testů s počátečními koncentracemi COM peptidů/proteinů 3, 5 a 8 mg.l<sup>-1</sup>.

Z obr. 4 je patrné, že optimální hodnota pH, která je charakteristická nejnižšími hodnotami zbytkových koncentrací DOC peptidů/proteinů byla ve všech případech počáteční koncentrace DOC peptidů/proteinů 5 až 6,5. Oproti ostatním studiím zaměřeným na koagulaci peptidů/proteinů sinice *Microcystis aeruginosa* pomocí železitých koagulačních činidel (Pivokonský a kol., 2009b, 2012) dochází k mírnému posunu optimálních hodnot pH. Nejnižší zbytkové koncentrace DOC v těchto studiích odpovídaly pH cca 4-6. Tento posun lze vysvětlit tím, že oproti železitým koagulačním činidlům nastává u hlinitých koagulačních činidel hydrolyza až při vyšších hodnotách pH (> 5). Tento fakt byl potvrzen při porovnávání různých koagulačních činidel ve studiích Zhao a kol. (2011), Jarvis a kol. (2012) a Šafaříková a kol. (2013). Z obr. 4 jsou rovněž zřejmé zvyšující se zbytkové koncentrace DOC v závislosti na počátečních hodnotách DOC peptidů/proteinů.

Optimální rozmezí pH určené ze zbytkových koncentrací Al bylo cca 5 až 7 pro všechny počáteční koncentrace peptidů/proteinů (obr. 5). Na obou obrázcích je dále zřetelně, že při pH pod 5 a nad 7 dochází k výraznému nárůstu zbytkových koncentrací DOC i Al a koagulace je méně účinná nebo již téměř neprobíhá.



Obr. 4 Závislost zbytkových koncentrací DOC na pH při počáteční koncentraci DOC peptidů a proteinů 3, 5 a 8 mg.l<sup>-1</sup>



Obr. 5 Závislost zbytkové koncentrace Al na pH při počáteční koncentraci DOC peptidů a proteinů 3, 5 a 8 mg.l<sup>-1</sup>

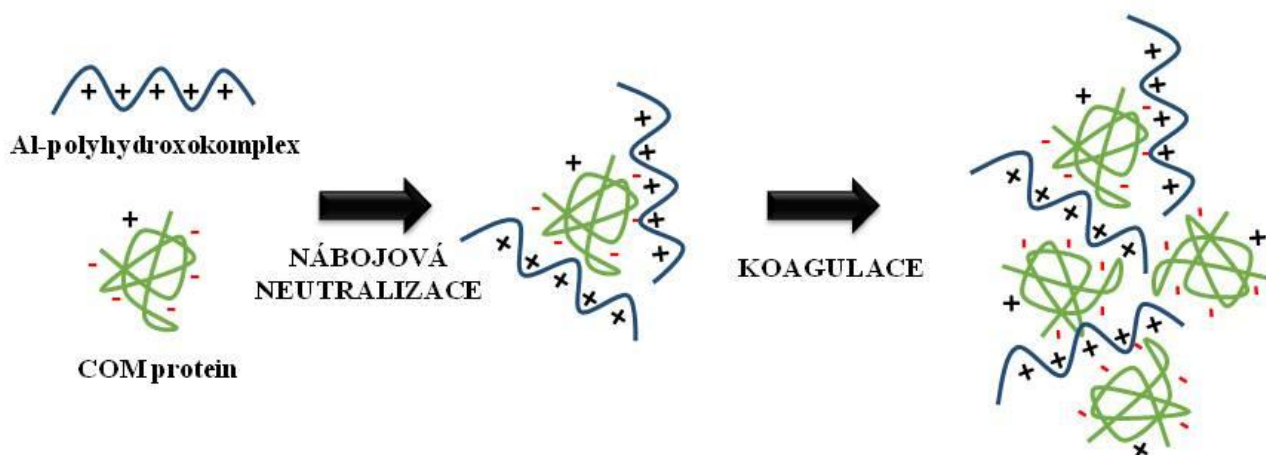
### 4.2.3 Mechanismy koagulace

Peptidy a proteiny jsou skupinou organických látek nesoucích na svém povrchu řadu funkčních skupin (-OH, -COOH, -SH, -CONH<sub>2</sub>, -NH<sub>2</sub> apod.), které jsou schopny v závislosti na změně hodnoty pH odštěpit/přijmout proton a tím měnit jejich povrchový náboj. Tento náboj je odpovědný za reaktivitu peptidů/proteinů a umožňuje tedy vznik elektrostatických interakcí s opačně nabitými částicemi (Burns a kol., 1996; Gessner a kol., 2002). Tyto případné interakce s produkty hydrolýzy hliníku umožňují koagulaci peptidů/proteinů nábojovou neutralizací a/nebo adsorpcí (Bernhardt a kol., 1985; Duan a Gregory, 2003; Pivokonský a kol., 2012; Šafaříková a kol., 2013). Jak bylo zjištěno ze stanovení hodnot izoelektrických bodů (pI) (kapitola 4.1.3), u peptidů/proteinů izolovaných ze sinice *Microcystis aeruginosa* převládá při pH < 4,5 kladný náboj. V této oblasti pH převažují u produktů hydrolýzy hliníku kladně nabitě rozpuštěné formy (Sarpola a kol., 2007; Choi a kol., 2013), což vede k elektrostatickým repulsím, které jsou hlavní příčinou nízké účinnosti koagulace v této oblasti pH.

Naopak při pH 4,5 jsou již změny v účinnosti koagulace evidentní (obr. 4 a 5). Nejvyšší účinnosti koagulace je však dosahováno v rozmezí pH cca 5 až 7. Při těchto hodnotách pH dochází mezi kladně nabitými produkty hydrolýzy hliníku (hlinité hydroxopolymery) a záporně nabitými funkčními skupinami peptidů/proteinů k přitažlivým elektrostatickým interakcím. Postupně tak dochází k neutralizaci náboje na povrchu peptidů/proteinů a ke vzniku nenabitých mikroagregátů (obr. 6). Dle studie Pivokonský a kol. (2012) je nábojová neutralizace klíčovým mechanismem při koagulaci peptidů/proteinů. U koagulačních činidel na bázi hliníku dochází při pH 7-8,5 ke koagulaci peptidů/proteinů především prostřednictvím adsorpce na povrch hydratovaných oxidů železa, které mají koloidní charakter (Duan a Gregory, 2003; Gonzalez-Torres a kol., 2014). Při koagulaci organických látek má však adsorpce výrazně menší význam ve srovnání s nábojovou neutralizací (Pivokonský a kol., 2012). Hlavním mechanismem interakcí při adsorpci je elektrostatický patch model (Gregory, 2006). Podle této teorie dochází k adsorpci záporně nabitých peptidů/proteinů na povrch koloidních částic hydratovaných oxidů hliníku, které mají kladný charakter. Na povrchu koloidních částic hliníku dojde k obnažení záporně nabitých míst, které mohou následně reagovat s opačně nabitým povrchem ostatních částic hydratovaných oxidů hliníku. Vedle adsorpce pomocí „pravých“ elektrostatických interakcí

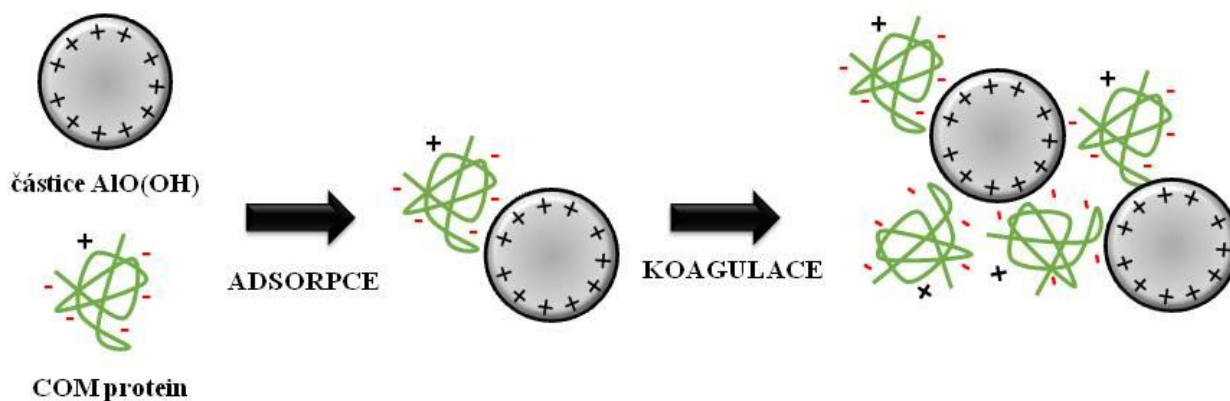


může docházet k interakcím mezi hydratovanými oxidy hliníku a funkčními skupinami COM peptidů/proteinů pomocí vodíkových vazeb (Burns a kol., 1996; Yoon a kol., 1999).

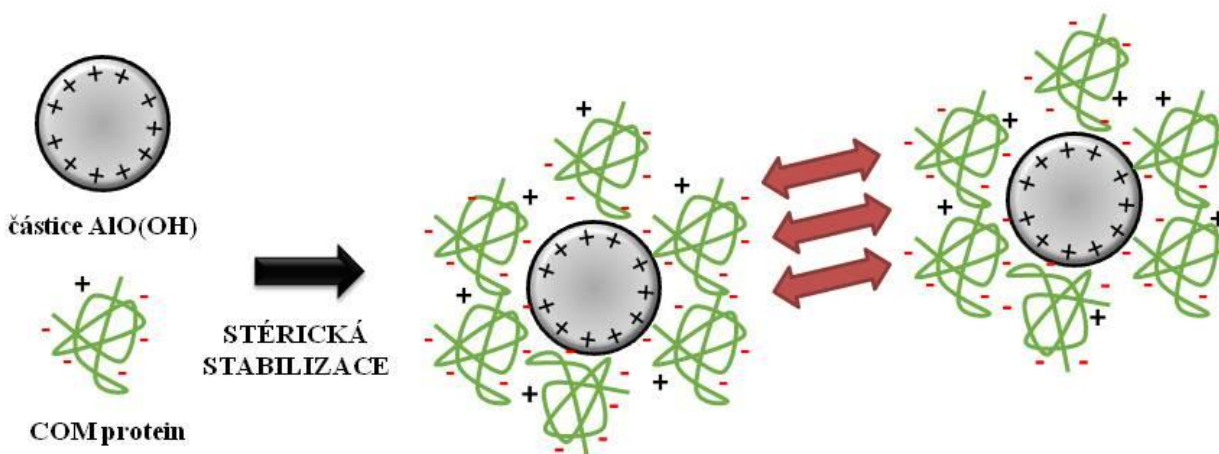


Obr. 6 Koagulace peptidů a proteinů pomocí nábojové neutralizace

Ve studii Pivokonský a kol. (2012) byla prokázána úzká závislost účinnosti adsorpce na koncentračním poměru DOC peptidů/proteinů a železa. Lze předpokládat, že podobný mechanismus probíhá u koagulačních činidel na bázi hliníku. Při nízkém poměru je koagulace pomocí adsorpce velmi účinná (obr. 7). Tento fakt je zřejmý z obr. 5, z kterého je patrné, že při nižších počátečních koncentracích DOC sinicových peptidů/proteinů ( $3 \text{ mg.l}^{-1}$ ) jsou tyto adsorbovány na povrch koloidních částic hydratovaných oxidů hliníku. Naopak vysoký poměr DOC peptidů a proteinů a Al ( $> 0,3$ ) způsobuje značnou inhibici koagulačního mechanismu prostřednictvím strérické stabilizace (obr. 8). Tento stav je opět patrný z obr. 5, kde koagulace při počáteční koncentraci peptidů/proteinů  $8 \text{ mg.l}^{-1}$  a při pH přibližně 7 již prakticky neprobíhá. Při vysoké koncentraci peptidů/proteinů dochází k obsazení téměř celého povrchu koloidní částice hydratovaného oxidů hliníku. Díky převážně zápornému charakteru peptidů a proteinů získává povrch koloidní částice rovněž záporný charakter a mezi takto nabitými částicemi dochází k elektrostatické repulzi (Bernhardt a kol., 1985; Duan a Gregory, 2003; Li a kol., 2008; Pivokonský a kol., 2012).



Obr. 7 Koagulace peptidů a proteinů mechanismem adsorpce při nízkém koncentračním poměru DOC peptidů a proteinů a hliníku (< 0,3)



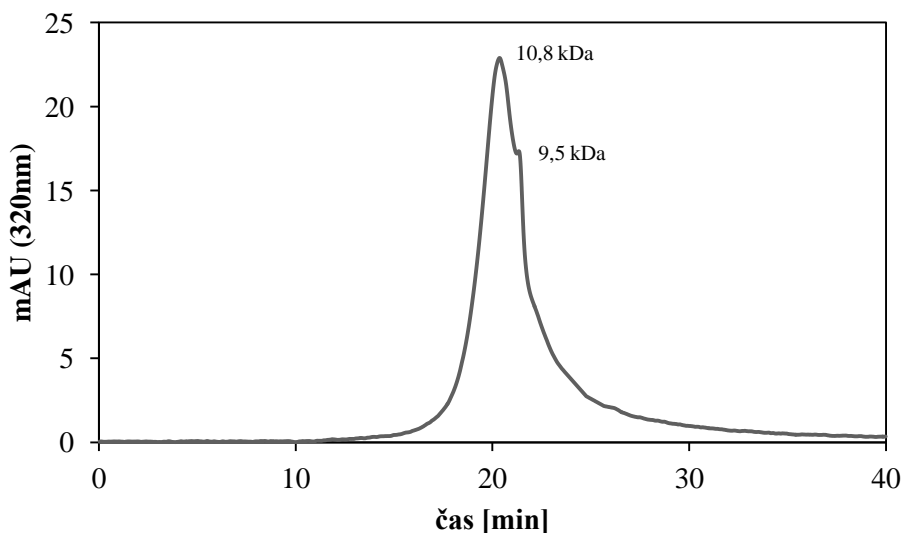
Obr. 8 Mechanismus inhibice koagulace peptidů a proteinů mechanismem adsorpce při vysokém koncentračním poměru DOC peptidů a proteinů a hliníku (> 0,3)

Při vysokých hodnotách pH (> 7,5) se produkty hydrolýzy hliníku postupně začínají vyskytovat v rozpuštěné podobě a stejně jako peptidy/proteiny mají aniontový charakter. Začínají se tedy intenzivně projevovat odpuzivé elektrostatické interakce a účinnost koagulace se postupně snižuje a následně dochází až k jejímu úplnému zastavení.

## 4.3 Charakterizace HL

### 4.3.1 Molekulové hmotnosti HL

Shodně jako u peptidů/proteinů byla provedena charakterizace MW HL pomocí HPSEC analýzy. Na obr. 9 je zobrazen chromatogram s těmito MW, které dosahovaly hodnot přibližně od 4 kDa do 60 kDa.



Obr. 9 MW huminových látek

### 4.3.2 Povrchový náboj HL

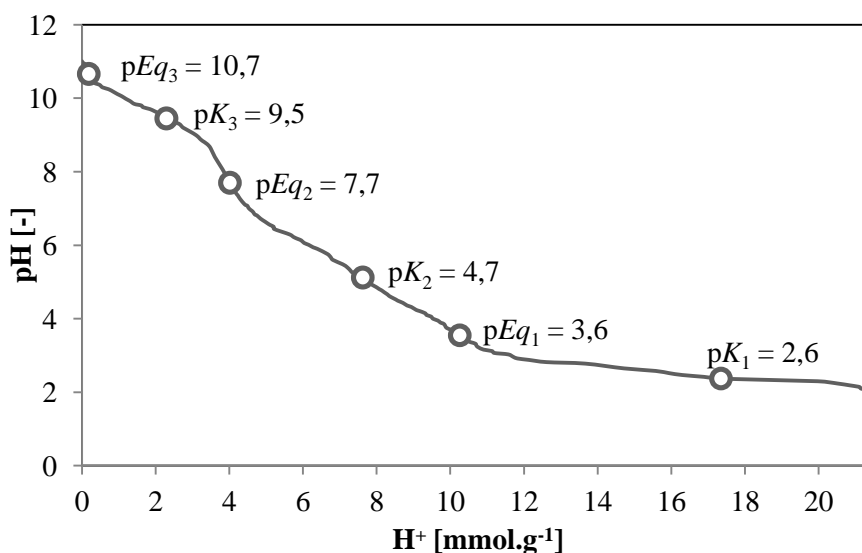
Povrchový náboj HL byl zjištěn jejich potenciometrickou titrací pomocí 0,05 M HCl. Titrační křivka (obr. 10) znázorňuje množství protonů, které jsou HL schopné přijmout při dané hodnotě pH. Toto množství odpovídá počtu disociovaných funkčních skupin (udáváno v  $\text{mmol.l}^{-1} \text{H}^+$ ). Z titrační křivky jsou patrné tři disociační konstanty ( $\text{p}K_1 = 2,6$ ;  $\text{p}K_2 = 4,7$ ;  $\text{p}K_3 = 9,5$ ) a tři body ekvivalence ( $\text{pEq}_1 = 3,6$ ;  $\text{pEq}_2 = 7,7$ ;  $\text{pEq}_3 = 10,7$ ), které odpovídají hlavním funkčním skupinám na povrchu HL. Je zřejmé, že hodnota  $\text{p}K_3$  10,7 odpovídá disociaci  $-\text{OH}$ . Disociační konstanta  $\text{p}K_2$  4,7 představuje karboxylovou skupinu ( $\beta\text{-COOH}$ ) kyseliny hydroxybenzoové ( $\text{p}K = 4,6$ ) a disociační konstanta  $\text{p}K_1$  2,6 odpovídá karboxylové skupině ( $\alpha\text{-COOH}$ ) kyseliny salicylové ( $\text{p}K = 2,9$ ) (Newcombe, 1994; Leenheer a kol., 2003; Ma a kol., 2015). Množství jednotlivých funkčních skupin na povrchu HL lze vypočítat dle rovnice (3) v kapitole 3.5.1:

$$N_{\alpha\text{-COOH}} = 21 - 10 = 11 \text{ mmol.g}^{-1}$$

$$N_{\beta\text{-COOH}} = 10 - 4 = 6 \text{ mmol.g}^{-1}$$

$$N_{\text{OH}} = 4 - 0 = 4 \text{ mmol.g}^{-1}$$

Výsledky jsou v souladu se studií Hong a Elimelech (1997), ve které byl prokázán obsah karboxylových skupin v HL více jak  $10 \text{ mmol.g}^{-1}$ . Z výsledků titrační křivky lze tedy konstatovat, že při  $\text{pH} > 3,6$  nesou funkční skupiny na povrchu HL náboj záporný ( $-\text{COO}^-$ ), při  $\text{pH} < 3,6$  začínají tyto skupiny ( $-\text{COO}^-$ ) postupně přijímat proton a při  $\text{pH} < 2,6$  jsou již z větší části protonizované ( $-\text{COOH}$ ) a molekula HL se tak postupně stává elektroneutrální.



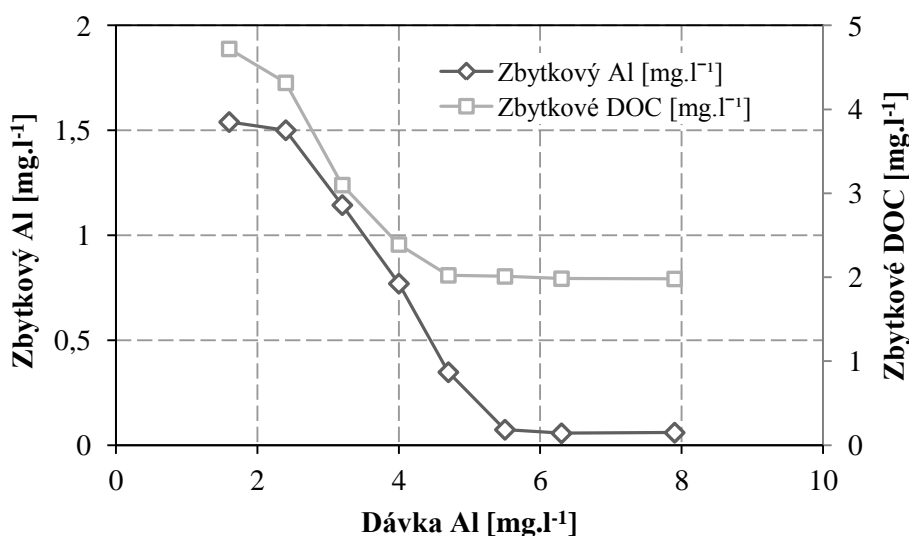
Obr. 10 Titrační křivka HL s body ekvivalence ( $\text{pEq}_1$ ,  $\text{pEq}_2$ ,  $\text{pEq}_3$ ) a disociačními konstantami ( $\text{pK}_1$ ,  $\text{pK}_2$ ,  $\text{pK}_3$ )

## 4.4 Koagulace HL

### 4.4.1 Optimalizace dávky koagulačního činidla

Obdobně jako u peptidů a proteinů došlo u huminových látek (HL) k optimalizaci dávky koagulačního činidla i pH pomocí sklenicových optimalizačních zkoušek. Hodnota pH surové vody (demineralizovaná voda +  $0,125 \text{ M NaHCO}_3 - \text{KNK}_{4,5} = 1,5 \text{ mmol.l}^{-1}$  + HL – DOC =  $5 \text{ mg.l}^{-1}$ ) byla stabilizována pomocí  $\text{NaHCO}_3$  na pH 6. Výsledky zbytkových koncentrací DOC a Al jsou uvedeny na obr. 11. Maximálního odstranění DOC HL (cca 55 %)

bylo dosaženo již při hodnotě dávky koagulačního činidla  $4,6 \text{ mg.l}^{-1}$  ( $0,17 \text{ mmol.l}^{-1}$ ) (obr. 11). Optimálních zbytkových koncentrací Al však bylo dosaženo až při dávce Al  $5,5 \text{ mg.l}^{-1}$  ( $0,204 \text{ mmol.l}^{-1}$ ). Při této dávce dosahovaly zbytkové koncentrace Al hodnoty  $0,07 \text{ mg.l}^{-1}$  ( $0,003 \text{ mmol.l}^{-1}$ ). Za optimální dávku koagulačního činidla lze tedy považovat  $5,5 \text{ mg.l}^{-1}$  ( $0,204 \text{ mmol.l}^{-1}$ ) Al. Při porovnání optimální dávky hliníku nutného pro úspěšnou koagulaci HL ( $D_{\text{Al}} = 5,5 \text{ mg.l}^{-1}$ ) a sinicových peptidů /proteinů ( $D_{\text{Al}} = 2,03 \text{ mg.l}^{-1}$ ) je patrné, že HL jsou hůře odstranitelné. Důvodem je výrazně větší povrchový náboj, který nesou peptidy/proteiny oproti HL (Šafaříková a kol., 2013). Porovnání povrchového náboje je možné z obr. 2 a 10.

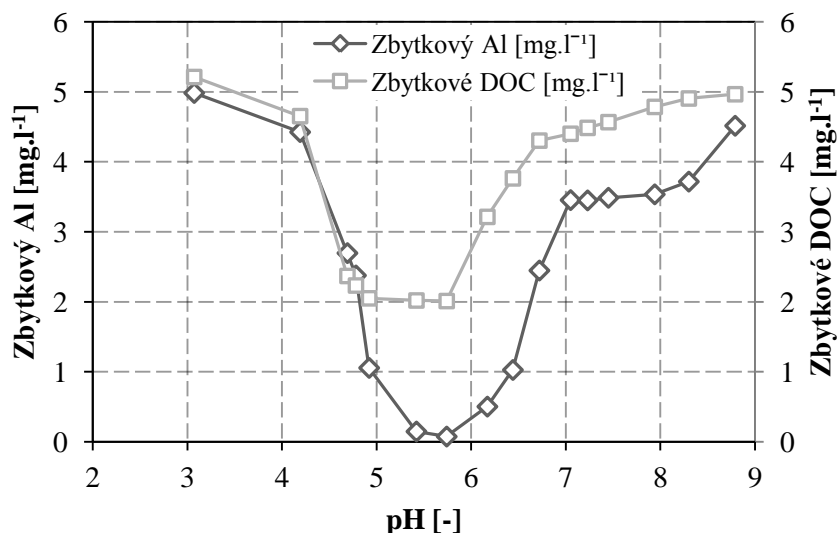


Obr. 11 Závislost zbytkových koncentrací Al a DOC na dávce Al při počáteční koncentraci DOC huminových látek  $5 \text{ mg.l}^{-1}$

#### 4.4.2 Optimalizace pH

V testech s HL, ve kterých došlo ke zkoumání závislosti koagulace na pH byla použita dávka koagulačního činidla  $5,5 \text{ mg.l}^{-1}$  Al, která byla vyhodnocena jako optimální. Hodnota pH surové vody byla upravena pomocí  $0,1 \text{ M HCl}$ ,  $0,125 \text{ M NaHCO}_3$  a  $0,1 \text{ M NaOH}$  tak, aby u koagulující suspenze byla po přidavku koagulačního činidla výsledná hodnota v rozmezí přibližně 3,0 až 9,0. Z obr. 12 je patrné, že optimální rozmezí pH při koagulaci HL je poměrně úzké, a to přibližně 5,3-5,8. Tato skutečnost odpovídá zjištěním řady studií, které zjistily, že optimální hodnota pH pro koagulaci HL je v rozmezí 5-6 (Lu a kol., 1999; Duan a kol., 2002; Jiao a kol., 2015). Výrazně užší optimum pH ve srovnání se sinicovými

peptidy/proteiny (kapitola 4.2) je způsobeno odlišným charakterem HL. Ze srovnání obr. 1 a 9 jsou COM peptidy/proteiny výrazně rozmanitější skupinou organických látek, což má za příčinu širší rozsah optimálního pH (Pivokonský a kol., 2011). Z obr. 12 je rovněž patrné, že při pH pod 4 a zároveň nad 7 hodnoty zbytkových koncentrací Al i DOC výrazně narůstají a koagulace tudíž prakticky neprobíhá.

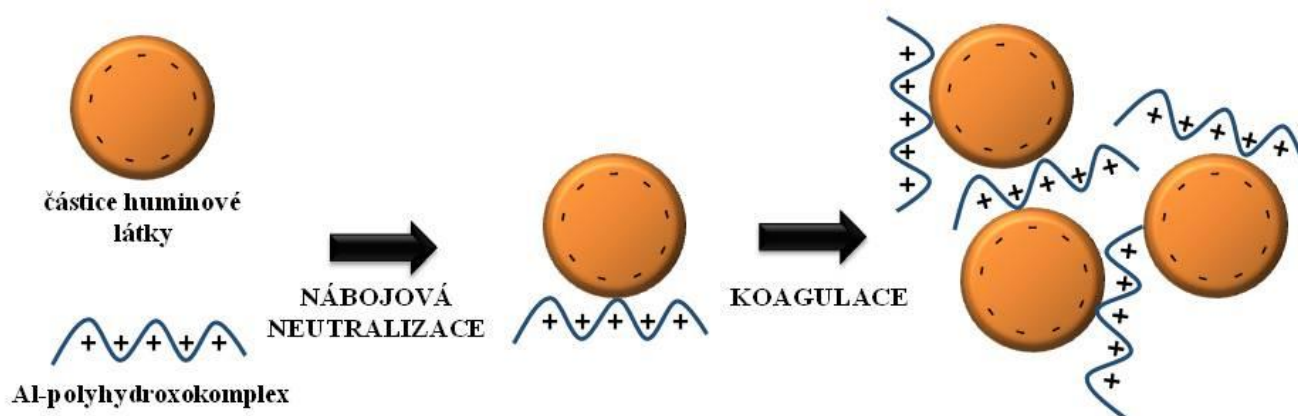


Obr. 12 Závislost zbytkové koncentrace Al a DOC na pH při počáteční koncentraci DOC huminových látek 5 mg.l<sup>-1</sup>

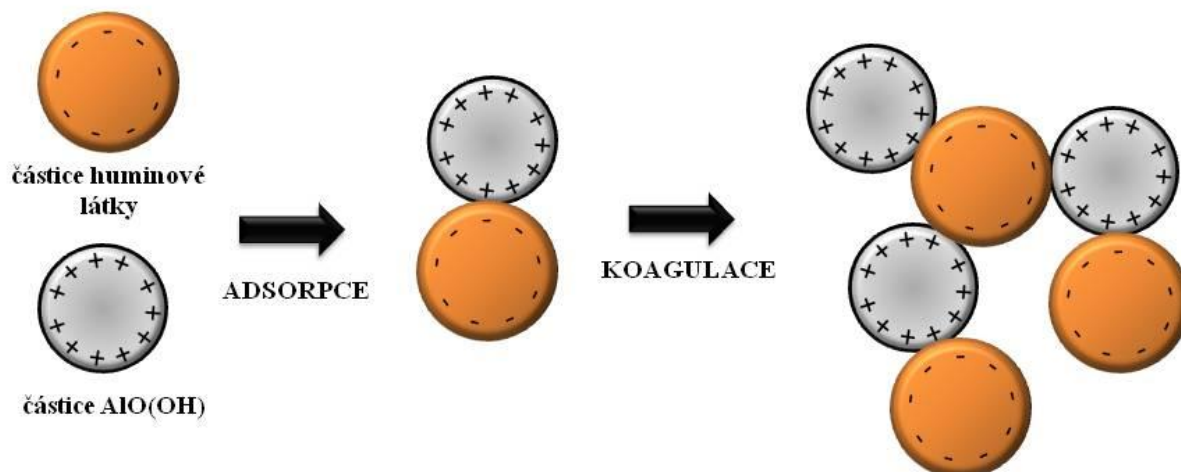
#### 4.4.3 Mechanismy koagulace

Huminové látky jsou charakteristické přítomností především karboxylových a hydroxylových skupin na svém povrchu (Bolto, 1995; Peuravuori a kol., 1997; Leenheer a kol., 2003; McDonald a kol., 2004). Díky tomu nesou HL ve velkém rozmezí pH ( $\geq 4$ ) negativní povrchový náboj (Bolto 1995; McDonald a kol., 2004; Pivokonský a kol., 2010). Tento náboj je příčinou jejich reaktivity a je odpovědný za elektrostatické interakce s kladně nabitými produkty hydrolýzy koagulačních činidel (Tan a kol., 2008, 2011). Interakce způsobují mechanismus koagulace, který v tomto případě probíhá prostřednictvím adsorpce a nábojové neutralizace (Pivokonský a kol., 2010). V některých případech (za přítomnosti elektrolytu, např. NaCl) může koagulace HL probíhat díky potlačení elektrické dvojvrstvy (Hilal a kol., 2008).

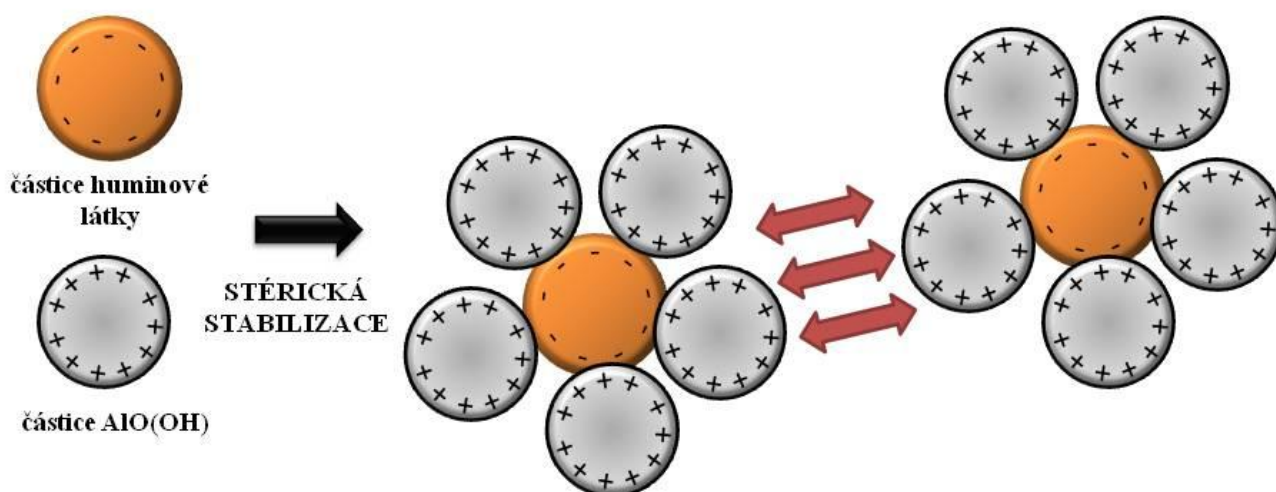
Při nízkých hodnotách pH ( $< 4,5$ ) formují HL s koagulačním činidlem, který se vyskytuje ve formě  $Al^{3+}$  rozpustné komplexy, jež nemohou být z vody koagulačním mechanismem odstraněny (Lu a kol., 1999). Naopak při pH v rozmezí 5 až 6 je koagulační mechanismus u HL a hlinitých koagulačních činidel nejintenzivnější (Lu a kol., 1999; Jiao a kol., 2015). Tento fakt je v souladu s naším případem, kdy byla pozorována největší účinnost koagulace v rozmezí pH 5,3 a 5,8 (obr. 12). Za těchto reakčních podmínek probíhají elektrostatické interakce mezi kladně nabitými hydratovanými oxidy hliníku a záporně nabitými částicemi HL. Přitažlivý charakter těchto interakcí vede ke vzniku nenabitých mikroagregátů pomocí postupné neutralizace povrchového náboje (obr. 13). Vedle tohoto mechanismu může při hodnotách pH 6 až 8 koagulace HL probíhat také mechanismem jejich adsorpce na sraženiny hydroxidů hliníku za vzniku hlinitých humátů (obr. 14). Tento mechanismus má oproti nábojové neutralizaci nižší účinnost. Adsorpce HL je umožněna také pomocí přitažlivých elektrostatických interakcí ale také tvorbou povrchových ligandových komplexních látek či vznikem vodíkových vazeb (Ochs a kol., 1994; Lu a kol., 1999; Koparal a kol., 2008; Pivokonský a kol., 2010). K adsorpci dochází zejména ve vodách s nižším obsahem HL, s vyšším obsahem solí a hydrogenuhličitanových iontů. Vyšší koncentrace HL mohou být příčinou inhibice koagulačního mechanismu (obr. 15) (Pivokonský a kol., 2010).



Obr. 13 Koagulace huminových látek prostřednictvím nábojové neutralizace



Obr. 14 Koagulace huminových látek mechanismem adsorpce při nízkém koncentračním poměru DOC huminových látek a hliníku



Obr. 15 Mechanismus inhibice koagulace huminových látek mechanismem adsorpce při vysokém koncentračním poměru DOC huminových látek a hliníku

Při pH nad 7 začínají postupně převažovat aniontové formy produktů hydrolyzy hliníku a dochází tak k elektrostatickému odpuzování mezi nimi a záporně nabitými HL. Toto odpuzování je příčinou snížení účinnosti koagulace a postupně vede až k jejímu úplnému zastavení.

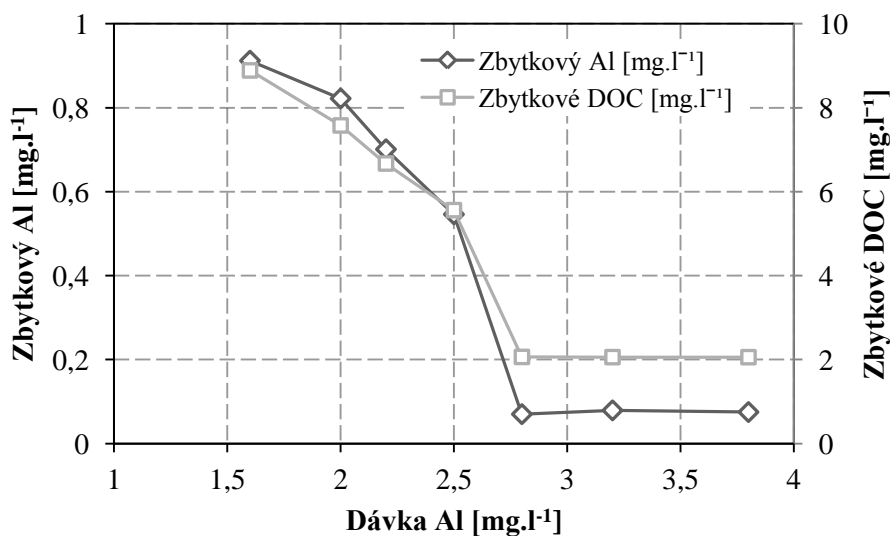


## 4.5 Koagulace sinicových peptidů a proteinů a HL

### 4.5.1 Optimalizace dávky koagulačního činidla

Sklenicové optimalizační zkoušky byly provedeny rovněž pro hodnocení vlivu dávky na koagulaci HL v přítomnosti sinicových peptidů /proteinů. Surová voda (demineralizovaná voda + 0,125 M  $\text{NaHCO}_3$  –  $\text{KNK}_{4,5}$  = 1,5  $\text{mmol.l}^{-1}$  + sinicové peptidy/proteiny –  $\text{DOC} = 5 \text{ mg.l}^{-1}$  + HL –  $\text{DOC} = 5 \text{ mg.l}^{-1}$ ) byla upravena pomocí 0,125 M  $\text{NaHCO}_3$  tak, aby pH koagulující suspenze mělo hodnotu 6. Z obr. 16 je patrné, že optimální koncentrace koagulačního činidla činí 2,8  $\text{mg.l}^{-1}$  (0,104  $\text{mmol.l}^{-1}$ ). Další přidávky koagulačního činidla již účinnost odstranění DOC ani hliníku nezvýšily.

Z koncentrací optimálních dávek koagulačního činidla pro koagulaci HL bez přítomnosti sinicových peptidů/proteinů ( $D_{\text{Al}} = 5,5 \text{ mg.l}^{-1}$ ) lze usuzovat, že přítomnost peptidů/proteinů značně napomáhá procesu koagulace HL.

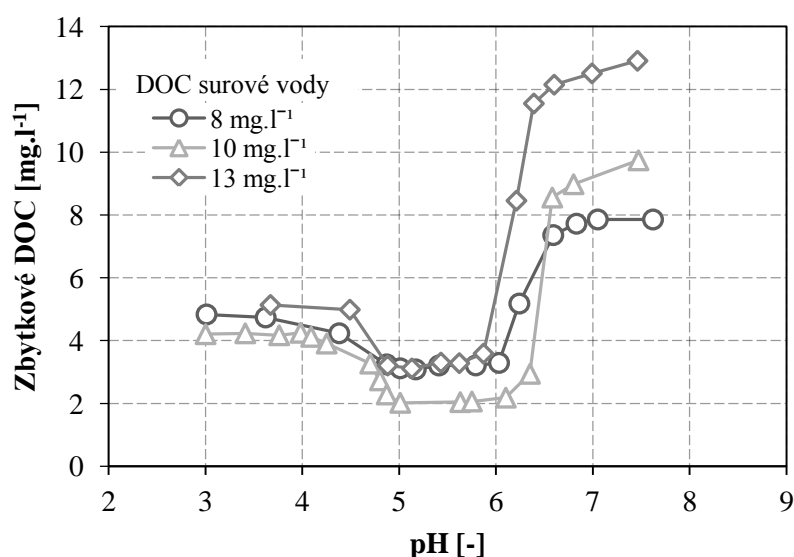


Obr. 16 Závislost zbytkových koncentrací Al a DOC na dávce Al u počáteční koncentrace DOC peptidů a proteinů 5  $\text{mg.l}^{-1}$  a HL 5  $\text{mg.l}^{-1}$

## 4.5.2 Optimalizace pH

Optimální dávka koagulačního činidla pro koagulaci HL za přítomnosti COM peptidů/proteinů ( $D_{Al} = 2,8 \text{ mg.l}^{-1}$ ) byla použita pro následnou optimalizaci pH. Obdobně jako v předchozích testech byla upravena hodnota pH (pomocí 0,1 M HCl, 0,125 M  $\text{NaHCO}_3$  a 0,1 M NaOH) tak, aby pH u koagulující suspenze bylo v rozmezí cca 3 až 9.

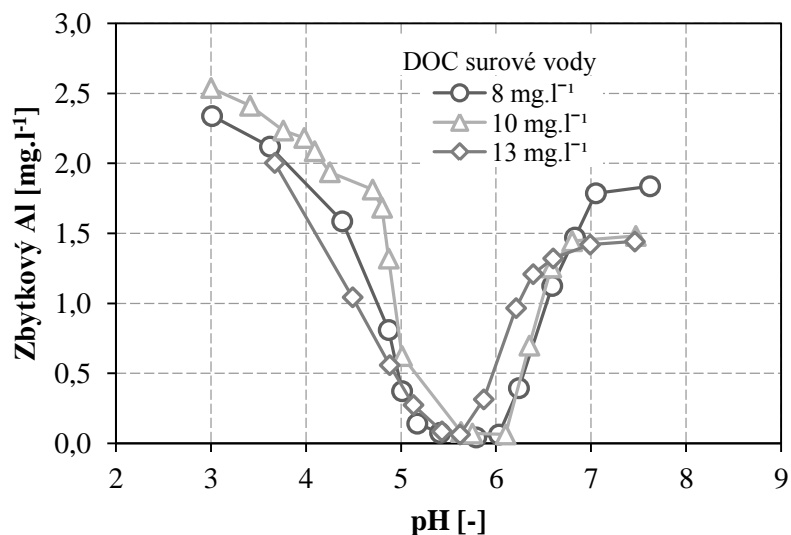
Z výsledků koagulačních testů (obr. 17) je zřejmé, že nejnižší zbytkové koncentrace DOC byly dosaženy obdobně jako při pokusech se samotnými HL a samotnými peptidy/proteiny v rozmezí pH cca 5 až 6. V optimálním rozmezí pH dochází u počátečních koncentrací DOC 8 a 13  $\text{mg.l}^{-1}$  k 60-75 % odstranění organických látek. Při počáteční koncentraci DOC 10  $\text{mg.l}^{-1}$  dochází k nejvyšší účinnosti odstranění organických látek (80 %). Příčinou je pravděpodobně skutečnost, že peptidy/proteiny fungují jako pomocné koagulační činidlo (mají polymerní charakter) a umožňují tvorbu mezičásticových můstků (Pivokonský a kol., 2012), čímž dochází k zefektivnění koagulačního procesu.



Obr. 17 Závislost zbytkové koncentrace DOC na pH při počáteční koncentraci DOC peptidů a proteinů 3, 5 a 8  $\text{mg.l}^{-1}$  a počáteční koncentraci DOC HL 5  $\text{mg.l}^{-1}$

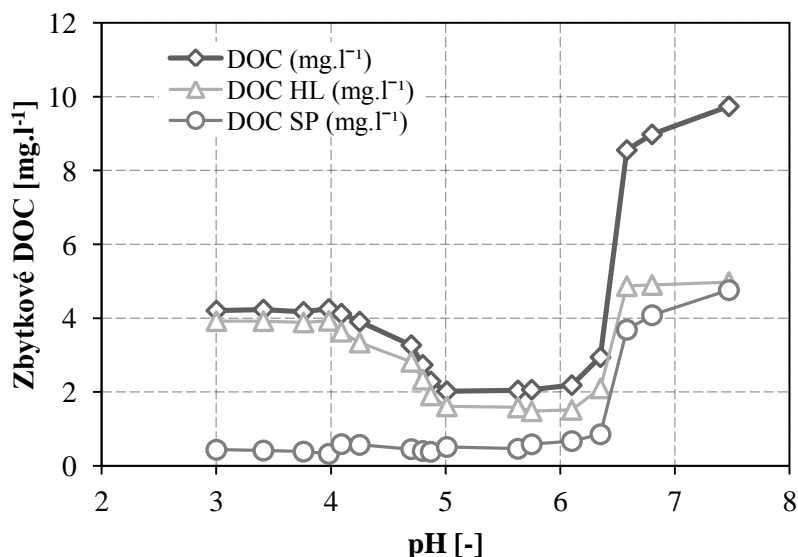
Optimální rozmezí pH pro odstranění Al z upravované vody bylo 5 až 6 (obr. 18), kde zbytkové koncentrace Al dosahovaly hodnot přibližně 0,07  $\text{mg.l}^{-1}$ . Z obou obrázků pro optimalizaci pH (obr. 17 a 18) je rovněž patrné, že v oblasti pH pod optimem (< 5) dochází k lepšímu odstranění DOC, zatímco odstranění koagulačního činidla prakticky neprobíhá.

Naopak v oblasti nad optimálním pH ( $> 6$ ) dochází k nárůstu zbytkových koncentrací především DOC, zbytkové koncentrace Al nedosahují požadovaných hodnot, avšak jsou výrazně nižší než při pH pod optimem ( $< 5$ ).



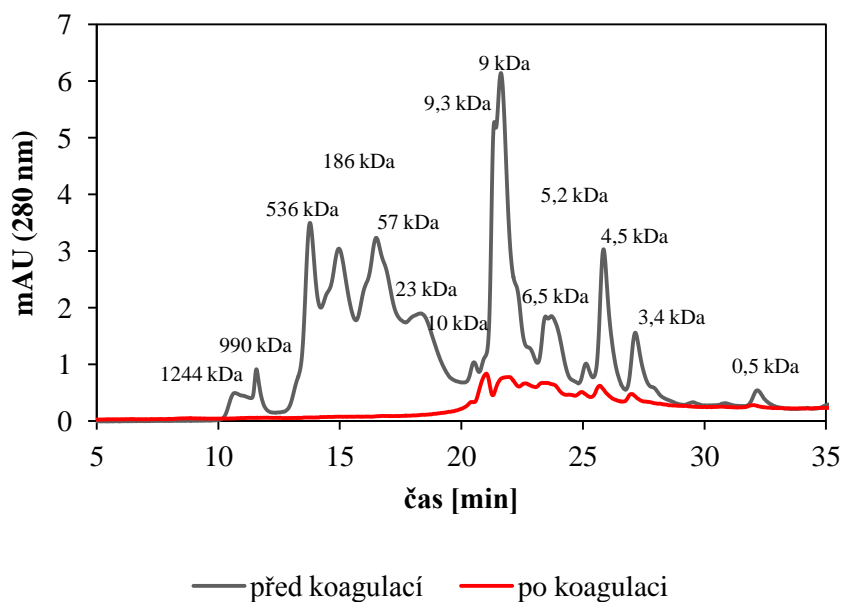
Obr. 18 Závislost zbytkové koncentrace Al na pH při počáteční koncentraci DOC peptidů a proteinů 3, 5 a 8 mg.l<sup>-1</sup> a počáteční koncentraci DOC HL 5 mg.l<sup>-1</sup>

Na obr. 19 jsou zobrazeny zbytkové koncentrace DOC HL, COM peptidů/proteinů a DOC obou komponent dohromady. Je zřejmé, že v celém rozsahu pH dochází k vyšší účinnosti odstranění peptidů/proteinů ve srovnání s HL.

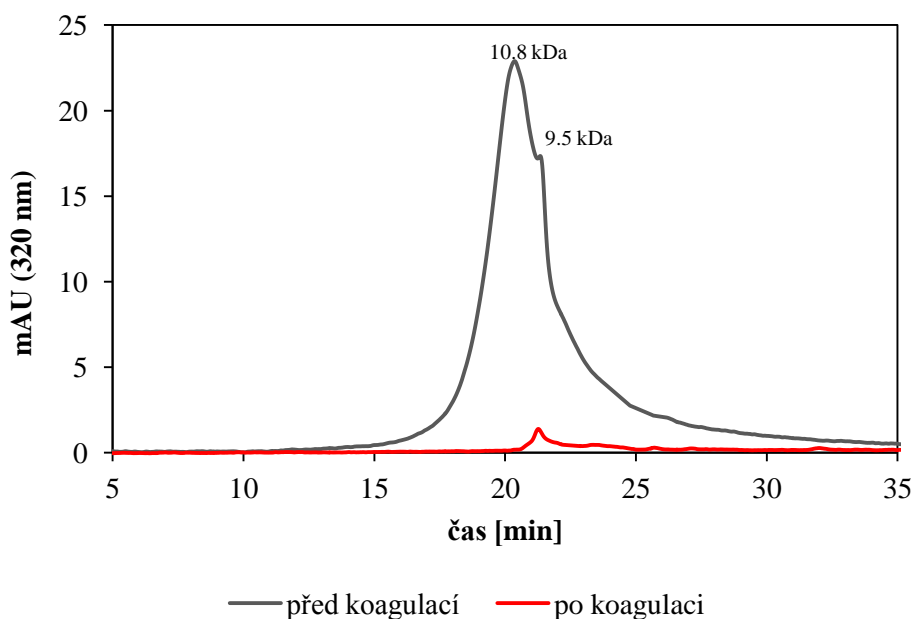


Obr. 19 Závislost zbytkových koncentrací DOC pro HL a COM peptidy/proteiny na pH při počátečních koncentracích DOC HL 5 mg.l<sup>-1</sup> a COM peptidů/proteinů 5 mg.l<sup>-1</sup>

Zastoupení jednotlivých MW peptidů/proteinů a HL před a po koagulaci jsou zobrazeny na obr. 20 a 21. Je patrné, že dochází k vyšší účinnosti odstranění vysokomolekulárních organických látek. U obou typů organických látek došlo ke kompletnímu odstranění frakcí s MW > 10 kDa. Ve zbytkových koncentracích organických látek byly identifikovány peptidy o MW přibližně 0,5; 3,4; 4,5; 5,2; 6,5; 9; 9,3 a 10 kDa a HL s MW zhruba 9,5 kDa. Získané výsledky odpovídají studiím Pivokonský a kol. (2009, 2012), Ma a kol. (2012a) a Šafaříková a kol. (2013), jenž rovněž prokázaly vyšší účinnost odstranění vysokomolekulárních organických látek ve srovnání s látkami nízkomolekulárními.



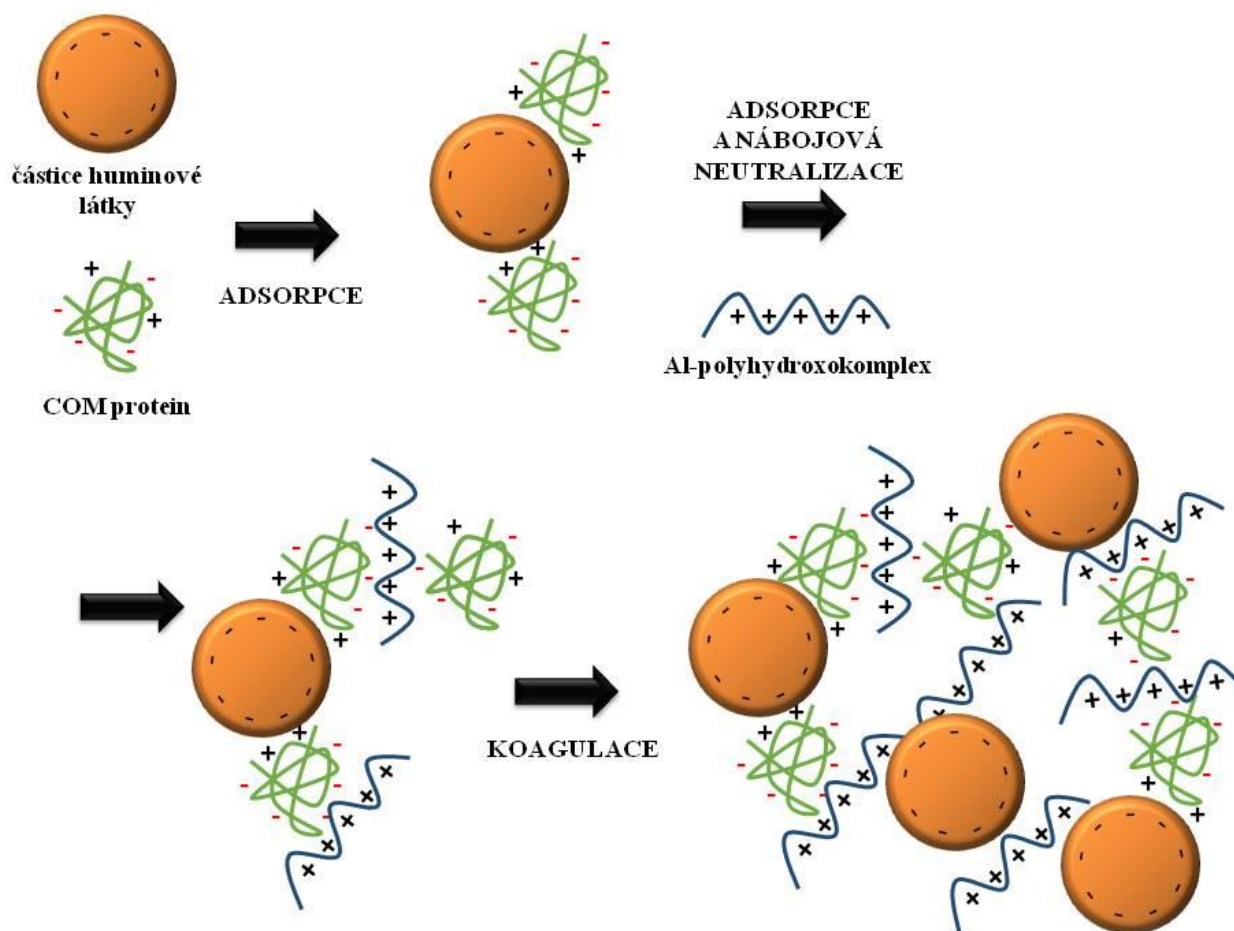
Obr. 20 Molekulové hmotnosti COM peptidů/proteinů před koagulací a po koagulaci za přítomnosti HL



Obr. 21 Molekulové hmotnosti HL před koagulací a po koagulaci za přítomnosti COM peptidů/proteinů

### 4.5.3 Mechanismy koagulace

Z výsledků popsaných v kapitole 4.5.2 je patrné, že převažujícím mechanismem koagulace HL za přítomnosti COM peptidů/proteinů je nábojová neutralizace. Ta se projevuje zejména při pH 5 až 6, kdy je koagulační mechanismus nejúčinnější. Huminové látky v tomto optimu disponují nábojem záporným a produkty hydrolýzy koagulačního činidla naopak charakterizuje náboj kladný a dochází tedy k vzájemné interakci. V tomto optimu zároveň u proteinů/peptidů převažuje náboj záporný, ale jsou přítomny i kladně nabitě funkční skupiny ( $-\text{NH}_3^+$ ), to vede k interakci peptidů/proteinů s oběma dalšími komponenty a může také docházet ke vzájemnému spojování všech tří typů částic za tvorby nenabitých mikroagregátů (obr. 22). Tento fakt vede k efektivnější koagulaci, a tedy k nižší spotřebě dávky koagulačního činidla než je tomu u koagulace samotných HL. Sinicové peptidy a proteiny v tomto případě pravděpodobně plní funkci pomocného koagulačního činidla.



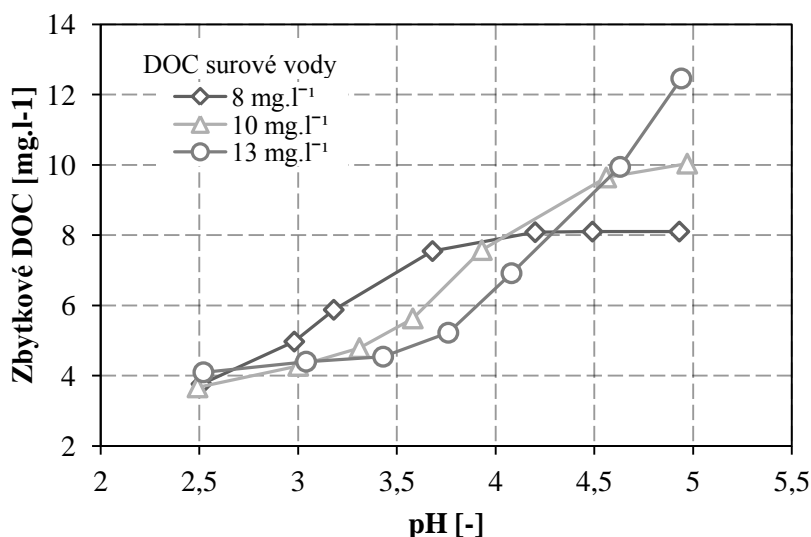
Obr. 22 Koagulační mechanismus huminových látek za přítomnosti koagulačního činidla a sinicových peptidů a proteinů

## 4.6 Koagulace sinicových peptidů a proteinů a HL bez přítomnosti koagulačního činidla

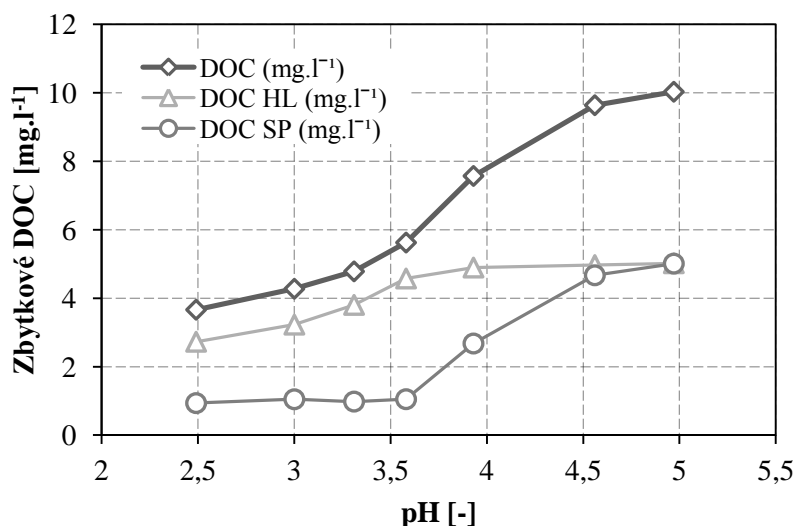
### 4.6.1 Vliv pH na koagulaci

Z optimálních dávek koagulačního činidla uvedených v kapitolách 4.2.1 a 4.5.1 je patrné, že peptidy/proteiny izolované ze sinice *Microcystis aeruginosa* slouží jako pomocné koagulační činidlo při koagulaci HL. Studie Šafaříková a kol. (2013) při koagulačních zkouškách s kaolinovými částicemi rovněž potvrdila, že přítomnost sinicových peptidů/proteinů zvyšuje účinnost jejich koagulace. Identický efekt byl pozorován při koagulačních zkouškách HL s COM peptidy/proteiny za nepřítomnosti koagulačního činidla. Největší efektivita odstranění obou komponent byla pozorována v pH přibližně  $< 4,5$  (obr. 23), kdy mezi nimi může docházet k přitažlivým interakcím. Z obr. 23 je také zřejmé, že

se zvyšující se počáteční koncentrací DOC peptidů/proteinů dochází k rozšíření horní hranice optimálního pH. Na obr. 24 jsou uvedeny zbytkové koncentrace HL a sinicových peptidů a proteinů samostatně a je zde patrný značný rozdíl v jejich odstranění. Stejně jako za přítomnosti koagulačního činidla (obr. 19) dochází za jeho nepřítomnosti k výrazně lepšímu odstranění peptidů a proteinů. Zatímco peptidy a proteiny jsou odstraňovány až z 80 %, HL dosahují maximálního odstranění pouze 40 %.



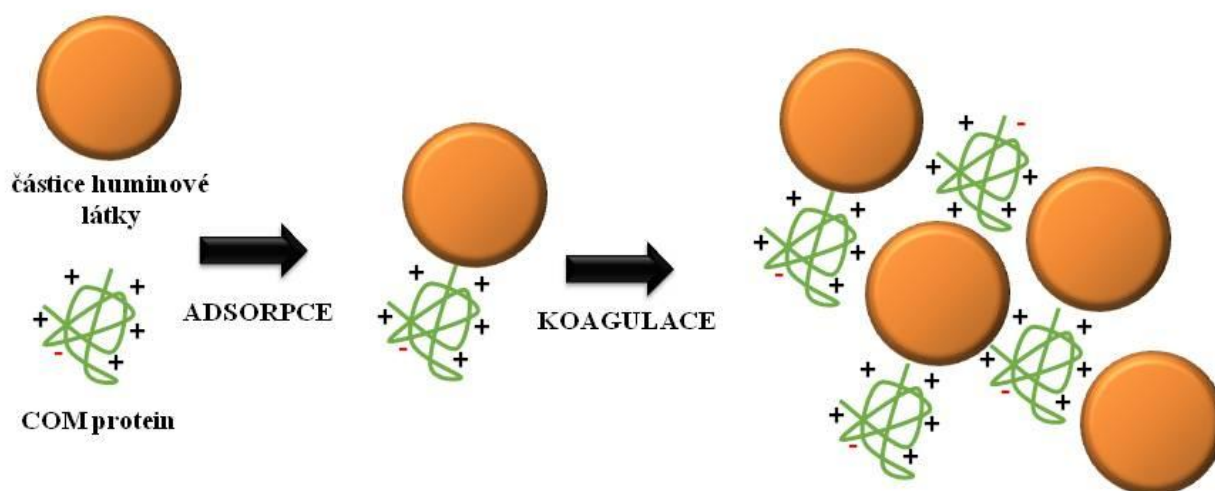
Obr. 23 Závislost zbytkových koncentrací DOC HL a COM peptidů/proteinů na pH při počátečních koncentracích DOC HL 5 mg.l<sup>-1</sup> a COM peptidů/proteinů 3, 5 a 8 mg.l<sup>-1</sup> bez přítomnosti koagulačního činidla



Obr. 24 Závislost zbytkových koncentrací DOC HL a COM peptidů/proteinů na pH při počáteční koncentraci DOC HL 5 mg.l<sup>-1</sup> a DOC COM peptidů/proteinů 5 mg.l<sup>-1</sup> bez přítomnosti koagulačního činidla

## 4.6.2 Mechanismy koagulace

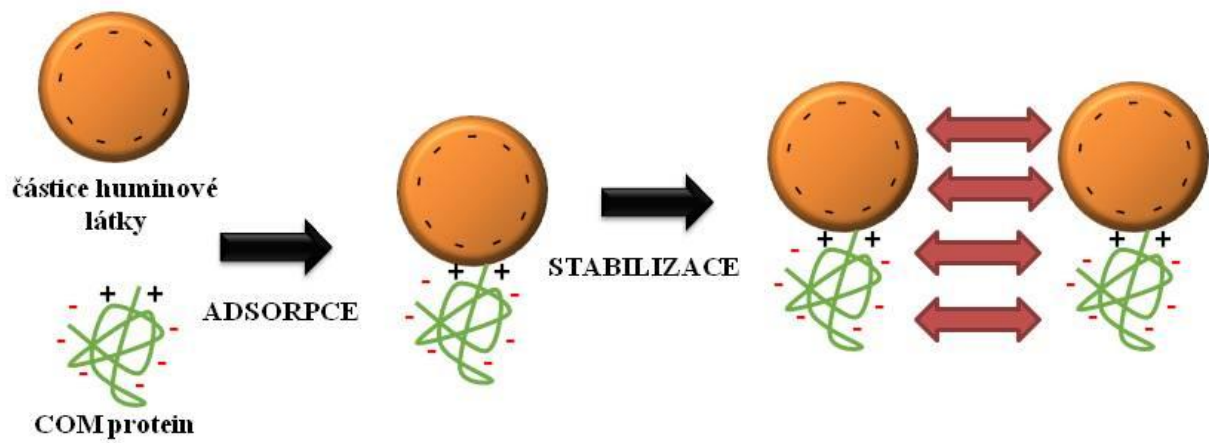
Jak bylo zjištěno z hodnot izoelektrických bodů ( $pI$ ) (kapitola 4.1.3), u COM peptidů/proteinů převládá při  $pH < 4,5$  kladný náboj, a to především díky protonizaci povrchových skupin ( $-NH_3^+$ ,  $=NH_2^+$ ,  $-COOH$ ). U HL rovněž dochází k protonizaci povrchových funkčních skupin ( $-COOH$ ) což je spojeno s výraznou redukcí záporného náboje HL. To vede ke snížení repulzních elektrostatických sil mezi HL a peptidy/proteiny. Za těchto podmínek mohou jednotlivé částice obou komponent interagovat pomocí vodíkových můstků či Van der Waalsových sil a může tedy probíhat koagulační mechanismus (obr. 25).



Obr. 25 Koagulační mechanismus huminových látek a sinicových peptidů a proteinů bez přítomnosti koagulačního činidla při  $pH < 4,5$

Při hodnotách  $pH > 4,5$  disponují HL záporným nábojem a u peptidů/proteinů se rovněž začíná uplatňovat náboj záporný. HL a peptidy a proteiny tedy mezi sebou mohou reagovat pomocí záporně nabitých funkčních skupin HL a kladně nabitých skupin COM peptidů/proteinů. Po této reakci však dochází k obnažení záporně nabitých funkčních skupin peptidů/proteinů a toto spojení vykazuje celkový záporný náboj, v systému tak začínají převládat odpudivé elektrostatické interakce a koagulace se v tomto bodě zastavuje (obr. 26).





Obr. 26 Inhibice koagulace huminových látek a sinicových peptidů a proteinů bez přítomnosti koagulačního činidla při  $\text{pH} > 4,5$

## 5 Závěr

Zásadní vliv na koagulaci všech použitých složek prováděných experimentů (COM peptidy/proteiny, HL a produkty hydrolýzy koagulačního činidla) má velikost a znaménko náboje, který nesou na svém povrchu. Nábojové poměry koagulujícího systému jsou pak úzce závislé na hodnotě reakčního pH.

U COM peptidů/proteinů izolovaných ze sinice *Microcystis aeruginosa* docházelo k nejúčinnější koagulaci v rozmezí pH 5-6,5. V tomto rozmezí nesou peptidy/proteiny na svém povrchu dostatečné množství záporně nabitých funkčních skupin a tudíž může docházet k elektrostatickým interakcím s kladně nabitými produkty hydrolýzy koagulačního činidla. Při nižších hodnotách pH (< 4,5) peptidy/proteiny nesou převážně kladný náboj a nemohou tak interagovat s produkty hydrolýzy koagulačního činidla, které mají rovněž náboj kladný. Při pH > 7 pak opět oba komponenty disponují záporným nábojem, který umožňuje repulsní elektrostatické interakce účinně eliminující koagulační proces.

Optimální pH pro koagulaci HL se pohybovalo v rozmezí 5-6. V tomto rozmezí pH mají HL záporný povrchový náboj a produkty hydrolýzy koagulačního činidla náboj kladný. Při pH hodnotách vyšších než je zmíněné optimum oba disponují nábojem záporným a naopak v nižších hodnotách pH jsou produkty hydrolýzy koagulačního činidla rozpuštěné, tudíž netvoří sraženinu, která je nutným předpokladem koagulace.

Obdobným způsobem dochází ke koagulaci huminových látek za přítomnosti COM peptidů/proteinů i koagulačního činidla. Z optimálních dávek koagulačního činidla pro koagulaci HL ( $D_{AI} = 5,5 \text{ mg.l}^{-1}$ ), sinicových peptidů a proteinů ( $D_{AI} = 2,03 \text{ mg.l}^{-1}$ ) a těchto dvou komponent dohromady ( $D_{AI} = 2,8 \text{ mg.l}^{-1}$ ) bylo zjištěno, že přítomnost sinicových peptidů a proteinů výrazně koagulaci napomáhá. V tomto případě byla koagulace nejúčinnější v rozmezí pH 5-6. Dále bylo zjištěno, že při velmi nízkých hodnotách pH (< 4) probíhá koagulace HL a COM peptidů/proteinů i bez přítomnosti koagulačního činidla.

Rovněž bylo prokázáno, že za optimálních reakčních podmínek (pH 6) dochází koagulačním mechanismem k odstranění především vysokomolekulárních COM proteinů a vysokomolekulárních huminových kyselin s MW > 10kDa. Residua nízkomolekulárních peptidů a HL (fulvokyseliny) v upravené vodě zůstávají.

## 6 Praktický význam výsledků práce

Výsledky diplomové práce prokazují, že odstranitelnost přírodních organických látek (HL a sinicové peptidy/proteiny) úzce závisí na hodnotě pH. Optimální rozmezí pH pro odstranění těchto látek se pohybuje v rozmezí 5 až 6,5. Ve vodárenské praxi však často dochází k úpravě surové vody při hodnotách pH kolem 7 i vyšším (tato hodnota se v rámci jednotlivých úprav může lišit dle charakteru upravované vody a dle použitého koagulačního činidla), které jsou vhodné především pro odstraňování zákalotvorných látek (hlinitokřemičitanů). Zásadním důvodem úpravy vody při těchto hodnotách pH jsou obavy z vyšších zbytkových koncentrací železa nebo hliníku (podle typu použitého koagulačního činidla) v upravené vodě, avšak výskyt organických látek přírodního původu v surové vodě vyžaduje snížení pH do oblasti mezi 5 až 6, aby došlo k jejich účinné eliminaci.

Dalším aspektem úpravy vody s obsahem NOM je optimalizace dávky koagulačního činidla, která je obvykle optimalizována na zákal a/nebo huminové látky jejichž koncentrace je během roku relativně konstantní. Látky produkované sinicemi jsou v našich zeměpisných šířkách pouze sezónní záležitostí a často jsou při optimalizaci koagulačních mechanismů opomíjeny. Sinicové COM mohou během vegetačního období tvořit významný podíl přírodních organických látek, které se v surové vodě vyskytují a mohou tak zásadním způsobem měnit podmínky koagulačního procesu. Tyto látky často proces koagulace narušují, ale za určitých podmínek ho mohou svou přítomností výrazně podporovat (kapitola 4.5). Je tedy nutné, obzvláště při sezónním rozvoji fytoplanktonu, v optimalizačních procesech s těmito látkami počítat a zahrnout je do celkové bilance znečišťujících příměsí obsažených v surové vodě.

Závěrem lze konstatovat, že ve vodárenské praxi dochází k řešení problému s výskytem přírodních organických látek pouze zvýšením jednotlivých dávek koagulačního činidla, avšak tento krok je v úpravě vody zcela nedostačující a nesprávný. V případě, že nedojde ke změně reakčních podmínek (pH), které vyplývají z charakteru přírodních organických látek, nemá zvýšení dávky koagulačního činidla prakticky žádné opodstatnění.

## 7 Literatura

- Alberts, J.J.; Takács, M.; Egeberg, P.K. (2002):** Total luminiscence spectral characteristics of natural organic matter (NOM) size fractions as defined by ultrafiltration and high performance size exclusion chromatography (HPSEC). *Organic Geochemistry* 33 (7), 817-828.
- Alborzfar, M.; Jonsson, G.; Gron, Ch. (1998):** Removal of natural organic matter from two types of humic ground waters by nanofiltration. *Water Research* 32 (10), 2983-2994.
- Amin, S.; Jayson, J. (1996):** Humic substances uptake by hydrotalcites and pilcs. *Water research* 30 (2), 299-306.
- And, W.S.; Elimelech, M. (2007):** Protein (BSA) fouling of reverse osmosis membranes: Implication for wastewater reclamation. *Journal of Membrane Science* 296 (1-2), 83-92.
- Bache, D.H.; Gregory, R.:** Flocs in Water Treatment. IWA Publishing, Londýn, 2007, 297 s.
- Bernhardt, H.; Hoyer, O.; Schell, H.; Lüsse, B. (1985):** Reaction mechanisms involved in the influence of algogenic organic matter on flocculation. *Zeitschrift für Wasser und Abwasserforschung* 18 (1), 18-30.
- Bernhardt, H.; Lüsse, B.; Hoyer, O. (1986):**The addition of calcium to reduce the impairment of flocculation by algogenic organic matter. *Zeitschrift für Wasser und Abwasserforschung* 19 (6), 219-228.
- Bernhardt, H.; Shell, H.; Hoyer, O.; Lüsse, B. (1991):** Influence of algogenic organic substances on flocculation and filtration. *WISA* 1, 41-57.
- Biersmith, A.; Benner, R. (1998):** Carbohydrates in phytoplankton and freshly produces dissolved organic matter. *Marine Chemistry* 63 (1-2), 131-144.
- Bláha, L.; Babica, P.; Maršálek, B. (2009):** Toxins produced in cyanobacterial water blooms – toxicity and risks. *Interdisciplinary Toxicology* 2 (2), 36-41.
- Bláhová, L.; Babica, P.; Maršálková, E.; Maršálek, B.; Bláha, L. (2007):** Concentrations and seasonal trends of extracellular microcystins in freshwaters of the Czech Republic – results of national monitoring program. *Clean – Soil, Air, Water* 35 (4), 348-354.
- Bolto, B. (1995):** Soluble polymers in water purification. *Progress in Polymer Science* 20, 987-1041.
- Bolto, B.; Dixon, D.; Eldridge, R. (2004):** Ion exchange for the removal of natural organic matter. *Reactive & Functional Polymers* 60, 171-182.
- Bolto, B.; Dixon, D.; Eldridge, R.; King, S.; Linge, K. (2002):** Removal of natural organic matter by ion exchange. *Water Research* 36 (20), 5057-5065
- Bond, T.; Huang, J.; Templeton, M.R.; Graham, N. (2011):** Occurrence and control of nitrogenous disinfection by-products in drinking water – A review. *Water Research* 45 (12), 4341-4354.
- Burns, N.L.; Holmberg, K.; Brink, C. (1996):** Influence of surface charge on protein adsorption at an amphoteric surface: Effects of varying acid to base ratio. *Journal of Colloid and Interface Science* 178 (1), 116-122.
- Cao, X.; Li, H.; Yue, Y.; Wu, Y. (2013):** pH-Induces conformational changes of BSA in fluorescent AuNCs@BSA and its effects on NCs emission. *Vibrational Spectroscopy* 65, 186-192.

- Caron, F.; Siemann, S.; Riopel, R. (2014):** Characterization of Natural Organic Matter (NOM) in groundwater contaminated with  $^{60}\text{Co}$  and  $^{137}\text{Cs}$  using ultrafiltration, Solid Phase Extraction and fluorescence analysis. *Journal of Environment Radioactivity* 138, 331-340.
- Chang, R.:** Physical Chemistry for the Biosciences, second ed. University Science Books, USA, 2005, 683 s.
- Cheng, W.P.; Chi, F.H. (2002):** A study of coagulation mechanisms of polyferric sulfate reacting with humic acid using a fluorescence-quenching method. *Water Research* 36 (18), 4583-4591.
- Cheng, W.P.; Chi, F.H.; Li, Ch. Ch.; Yu, R.F. (2008):** A study on the removal of organic substances from low-turbidity and low-alkalinity water with metal-polysilicate coagulants. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 25 (2-3), 238-244.
- Choi, Y.H.; Nason, J.A.; Kweon, J.H. (2013):** Effects of aluminum hydrolysis products and natural organic matter on nanofiltration fouling with PACl coagulation pretreatment. *Separation and Purification Technology* 120, 78-85.
- Chow, C.W.K.; House, J.; Velzeboer, R.M.A., Drikas, M.; Burch, M.D.; Steffensen, D.A. (1998):** The effect of ferric chloride flocculation on cyanobacterial cells. *Water Research* 32 (3), 808-814.
- Chow, C.W.K.; Drikas, M.; House, J.; Burcj, M.D.; Velzeboer, R.M.A. (1999):** The impact of conventional water treatment processes on cell of the cyanobacterium *Mycrocystis aeruginosa*. *Water Research* 33 (15), 3253-3262.
- Dawson, R.M.C.; Elliott, D.C.; Elliott, W.H.; Jones, K.M.:** Data for biochemical research. Oxford University Press, New York, 1986, 580 s.
- Dolejš, P. (1993):** Influence of algae and their exudates on removal of humic substances and optimal dose of coagulant. *Water Science and Technology* 27 (11), 123-132.
- Domany, Z.; Galambos, I.; Vatai, G.; Bekassy-Molnar, E. (2002):** Humic substances removal from drinking water by membrane filtration. *Desalination* 145 (1-3), 333-337.
- Duan, J.; Gregory, J. (2003):** Coagulation by hydrolysing metal salts. *Advances in Colloid and Interface Science* 100-102, 475-502.
- Duan, J.; Wang, J.; Graham, N.; Wilson, F. (2002):** Coagulation of humic acid by aluminium sulphate in saline water conditions. *Desalination* 150 (1), 1-14.
- Ebie, K.; Amano, S. (1993):** Fundamental behavior of humic acid and kaolin in direct sand filtration of simulated natural surface water. *Water Science & Technology* 27 (11) 61-70.
- Edwards, G.A.; Amirtharajah, A. (1985):** Removing colour caused by humic acids. *Journal of Americas Water Works Association* 77, 50-57.
- Edzwald, J.K.; Becker, W.C.; Tambini, S.J. (1982):** Aspect of direct filtration in treatment of low turbidity humic acids waters. *Journal of Environmental Engineering* 103, 989-1000.
- Eggins, B.R.; Palmer, F.L.; Byrne, J.A. (1997):** Photocatalytic treatment of humic substances in drinking water. *Water Research* 31 (5), 1223-1226.
- El-Rehaili, A.M.; Weber Jr., W.J. (1987):** Correlation of humic substance trihalomethane formation potential and adsorption behavior to molecular weight distribution in raw and chemically treated waters. *Water Research* 21 (5), 573-582.

- Estey, T.; Kang, J.; Schwendeman, S.P.; Carpenter, J.F. (2006):** BSA degradation under acidic conditions: A model for protein instability during release from PLGA delivery systems. *Journal of Pharmaceutical sciences* 95 (7), 1626-1639.
- Fang, J.; Ma, J.; Yang, X.; Shang, Ch. (2010a):** Formation of carbonaceous and nitrogenous disinfection by-products from the chlorination of *Microcystis aeruginosa*. *Water Research* 44 (6), 1934-1940.
- Fang, J.; Yang, X.; Ma, J.; Shang, Ch.; Zhao, Q. (2010b):** Characterization of algal organic matter and formation of DBPs from chlor(am)ination. *Water Research* 44 (20), 5897-5906.
- Fogg, G.E. (1983):** The ecological significance of extracellular products of phytoplankton photosynthesis. *Botanica Marina* 26 (1), 3-14.
- Gessner, A.; Lieske, A.; Paulke, B.R.; Müller, R.H. (2002):** Influence of surface charge density on protein adsorption on polymeric nanoparticles: analysis by two-dimensional electrophoresis. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 54 (2), 165-170.
- Ghernaout, B.; Ghernaout, D.; Saiba, A. (2010):** Algae and cyanotoxins removal by coagulation/flocculation: A review. *Desalination and Water Treatment* 20 (1-3), 133-143.
- Gonzales-Torres, A.; Putnam, J.; Jefferson, B.; Stuetz, R.M.; Henderson, R.K. (2014):** Examination of the physical properties of *Microcystis aeruginosa* flocs produced on coagulation with metal salts. *Water Research* 60, 197-209.
- Gregor, J.; Nokes, C.; Fenton, E. (1997):** Optimising natural organic matter removal from low turbidity waters by controlled pH adjustment of aluminium coagulation. *Water Research* 31 (12), 2949-2958.
- Gregory, J.:** Particles in water: Properties and Processes. CRC Press, Boca Raton, London, New York, 2006, 180 s.
- Guilherme, S.; Rodriguez, M.J. (2014):** Occurrence of regulated and non-regulated disinfection by-products in small drinking water systems. *Chemosphere* 114, 425-432.
- Hall, E.S.; Packham, R.F. (1965):** Coagulation of organic color with hydrolysing coagulant. *Journal of American Water Works Association* 57 (9) 1149-1166.
- Henderson, R.K.; Baker, A.; Parsons, S.A.; Jefferson, B. (2008a):** Characterisation of algogenic organic matter extracted from cyanobacteria, green algae and diatoms. *Water Research* 42 (13), 3435-3445.
- Henderson, R.K.; Parsons, S.A.; Jefferson, B. (2008b):** The impact of algal properties and pre-oxidation on solid-liquid separation of algae. *Water Research* 42 (8-9), 1827-1845.
- Henderson, R.K.; Parsons, S.A.; Jefferson, B. (2010):** The impact of differing cell and algogenic organic matter (AOM) characteristics on the coagulation and flotation of algae. *Water Research* 44 (12), 3617-3624.
- Hilal, N.; Al-Abri, M.; Moran, A.; Al-Hinai, H. (2008):** Effects of heavy metals and polyelectrolytes in humic substance coagulation under saline condition. *Desalination* 220 (1-3), 85-95.
- Hirayama, K.; Akashi, S.; Furuya, M.; Fukuhara, K. (1990):** Rapid confirmation and revision of the primary structure of bovine serum albumin by ESIMS and frit-FAB LC/MS. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 173 (2), 639-646.

- Hnat'uková, P.; Kopecká, I.; Pivokonský, M. (2011):** Adsorption of cellular peptides of *Microcystis aeruginosa* and two herbicides onto activated carbon: Effect of surface charge and interactions. *Water Research* 45 (11), 3359-3368.
- Hong, H.Ch.; Mazumder, A.; Wong, M.H.; Liang, Y. (2008):** Yield of trihalomethanes and haloacetic acids upon chlorinating algal cells, and its prediction via algal cellular biochemical composition. *Water Research* 42 (20), 4941-4948.
- Hong, S.; Elimelech, M. (1997):** Chemical and physical aspects of natural organic matter (NOM) fouling of nanofiltration membranes. *Journal of Membrane Science* 132 (2), 159-181.
- Horáková, M. a kolektiv:** Analytika vody. VŠCHT, Praha, 2003, 335 s.
- Hoyer, O.; Lüsse, B.; Bernhardt, H. (1985):** Isolation and characterization of extracellular organic matter (EOM) from algae. *Zeitschrift für Wasser und Abwasserforschung* 18 (2), 76-90.
- Huang, B.X.; Kim, H.; Dass, Ch. (2004):** Probing three-dimensional structure of bovine serum albumin by chemical cross-linking and mass spectrometry. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* 15 (8), 1237-1247.
- Jarvis, P.; Sharp, E.; Pidou, M.; Molinder, R.; Parsons, S.A.; Jefferson, B. (2012):** Comparison of coagulation performance and floc properties using a novel zirconium coagulant against traditional ferric and alum coagulants. *Water Research* 46 (13), 4179-4187.
- Jiang, J.; Graham, N.J.D.; Harward, C. (1993):** Comparison of polyferric sulphate with other coagulants for the removal of algae and algae-derived organic matter. *Water Science & Technology* 27 (11), 221-230.
- Jiao, R.; Xu, H.; Xu, W.; Yang, X.; Wang, D. (2015):** Influence of coagulation mechanisms on the residual aluminum – The roles of coagulant species and MW of organic matter. *Journal of Hazardous Materials* 290, 16-25.
- Jekel, M.R. (1985):** The stabilization of dispersed mineral particles by adsorption of humic substances. *Water Research* 20 (12), 1543-1554.
- Jung, A.V.; Chanudet, V.; Ghanbaja, J.; Lartiges, B.S.; Bersillon, J.L. (2005):** Coagulation of humic substances and dissolved organic matter with ferric salt: An electron energy loss spectroscopy investigation. *Water Research* 39 (16), 2849-3862.
- Jurczak, T.; Tarczynska, M.; Izydorczyk, K.; Mankiewicz, J.; Zalewski, M.; Meriluoto, J. (2005):** Elimination of microcystins by water treatment processes – examples from Sulejow Reservoir, Poland. *Water Research* 39 (11), 2394-2406.
- Kim, H.C.; Yu, M.J. (2007):** Characterization of aquatic humic substances to DBPs formation in advanced treatment processes for conventionally treated water. *Journal of Hazardous Materials* 143 (1-2), 486-493.
- Koparal, A.S.; Yildiz, Y.S.; Keskinler, B.; Demircioglu, N. (2008):** Effect of initial pH on the removal of humic substances from wastewater by electrocoagulation. *Separation and purification Technology* 59 (2), 175-182.
- Kopecká, I.; Pivokonský, M.; Pivokonská, L.; Hnat'uková, P.; Šafaříková, J. (2014):** Adsorption of peptides produced by cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* onto granular activated carbon. *Carbon* 69, 595-608.

- Lee, D.; Cheng, Y.; Wong, R. (2013):** Characteristic of natural organic matters in raw and treated drinking water: Comparison study. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers* 44 (1), 103-110.
- Lee, S.A.; Fane, A.G.; Waite, T.D. (2005):** Impact of natural organic matter on floc size and structure effects in membrane filtration. *Environmental Science & Technology* 39 (17), 6477-6486.
- Leenheer, J.A.; Croue, J.P. (2003):** Characterizing aquatic dissolved organic matter. *Environmental Science and Technology* 37 (1), 18A-26A.
- Leenheer, J.A.; Wershaw, R.L.; Brown, G.K., Reddy, M.M. (2003):** Characterization and diagenesis of strong-acid carboxyl groups in humic substances. *Applied Geochemistry* 18 (3), 471-482.
- Li, Q.; Jonas, U.; Zhao, X.S.; Kappl, M. (2008):** The forces at work in colloidal self-assembly: a review on fundamental interactions between colloidal particles. *Asia-Pacific Journal of Chemical Engineering* 3 (3), 255-268.
- Li, L.; Gao, N.; Deng, Y.; Yao, J.; Zhang, K. (2012):** Characterization of intracellular & extracellular algae organic matters (AOM) of *Microcystis aeruginosa* and formation of AOM-associated disinfection byproducts and odor & taste compounds. *Water Research* 46 (4), 1233-1240.
- Lin, L.; Xu, B.; Lin, Y.; Hu, Ch.; Ye, T.; Zhang, T.; Tian, F. (2014):** A comparison of carbonaceous, nitrogenous and iodinated disinfection by-products formation potential in different dissolved organic fractions and their reduction in drinking water treatment processes. *Separation and Purification Technology* 133, 82-90.
- Liang, Y.; Hilal, N.; Langston, P.; Starov, V. (2007):** Interaction forces between colloidal particles in liquid: Theory and experiment. *Advances in Colloid and Interface Science* 134-135, 151-166.
- Liu H.; Hu, Ch.; Zhao, H.; Qu, J. (2009):** Coagulation of humic acid by PACL with high content of Al<sub>13</sub>: The role of aluminum speciation. *Separation and Purification Technology* 70 (2), 225-230.
- Liu, T.; Chen, Z.; Yu, W.; Shen, J.; Gregory, J. (2011):** Effect of two-stage coagulant addition on coagulation-ultrafiltration process for treatment of humic-rich water. *Water Research* 45 (14), 4260-4268.
- Lu, X.; Chen, Z.; Yang, X. (1999):** Spectroscopic study of aluminium speciation in removing humic substances by Al coagulation. *Water Research* 33 (15), 3271-3280.
- Lui, Y.S.; Qui, J.W.; Zhang, Y.L.; Wong, M.H.; Liang, Y. (2011):** Algal-derived organic matter as precursors of disinfection by-products and mutagens upon chlorination. *Water Research* 45 (3), 1454-1462.
- Ma, M.; Liu, R.; Liu, H.; Qu, J.; Jefferson, W. (2012a):** Effects and mechanisms of pre-chlorination on *Microcystis aeruginosa* removal by alum coagulation: Significance of the released intracellular organic matter. *Separation and Purification Technology* 86 (15), 19-25.
- Ma, M.; Liu, R.; Liu, H.; Qu, J. (2012b):** Effect of moderate pre-oxidation on the removal of *Microcystis aeruginosa* by KMnO<sub>4</sub>-Fe(II) process: Significance of the in-situ formed Fe(III). *Water Research* 46 (1), 73-81.
- Ma, S.; Wang, Z.; Zhang, J.; Sun, D.; Liu, G. (2015):** Detection analysis of surface hydroxyl active sites and simulation calculation of the surface dissociation constant of aqueous diatomite suspension. *Applied Surface Science* 327, 453-461.



- Mao, Y.; Wang, X.; Yang, H.; Wang, H.; Xie, Y.F. (2014):** Effects of ozonation on disinfection formation and speciation during subsequent chlorination. *Chemosphere* 114, 515-520.
- Maksimova, I.V.; Bratkovskaya, L.B.; Plekhanov, S.E. (2004):** Extracellular carbohydrates and polysaccharides of the algae *Chlorella pyrenoidosa* Chick S-39. *Biology Bulletin* 31 (2), 175-181.
- Marhaba, T.F.; Pu, Y. (2000):** Rapid delineation of humic and non-humic organic matter fractions in water. *Journal of Hazardous Materials A73* (3), 221-234.
- Martin-Mousset, B.; Croue, J.P.; Lefebvre, E.; Legube, B. (1997):** Distribution and characterization of dissolved organic matter of surface waters. *Water Research* 31, 541-553.
- Matilainen, A.; Gjessing, E.T.; Lahtinen, T.; Hed, L.; Bhatnagar, A.; Sillanpää, M. (2011):** An overview of the methods used in the characterisation of natural organic matter (NOM) in relation to drinking water treatment. *Chemosphere* 83 (11), 1431-1442.
- Matilainen, A.; Vepsäläinen, M.; Sillanpää, M. (2010):** Natural organic matter removal by coagulation during drinking water treatment: A review. *Advanced in Colloid and Interface Science* 159 (2), 189-197.
- McDonald, S.; Bishop, A.G.; Prenzler, P.D.; Robards, K. (2004):** Analytical chemistry of freshwater humic substances. *Analytica Chimica Acta* 527 (2), 105-124.
- McDonald, S.; Pringle, J.M.; Bishop, A.G.; Prenzler, P.D.; Robards, K. (2007):** Isolation and seasonal effects on characteristics of fulvic acids isolated from Australian floodplain river and billabong. *Journal of Chromatography* 1153 (1-2), 203-213.
- Muscolo, A.; Sidari, M.; Nardi, S. (2013):** Humic substance: Relationship between structure and activity. Deeper informatic suggests univocal findings. *Journal of Geochemical Exploration* 129, 57-63.
- Myat, D.T.; Mergen, M.; Zhao, O.; Stewart, M.B.; Orbell, J.D.; Gray, S. (2012):** Characterisation of organic matter in IX and PACl treated wastewater in relation to the fouling of hydrophobic polypropylene membrane. *Water Research* 46 (16), 5151-5164.
- Myat, D.T.; Stewart, M.B.; Mergen, M.; Zhao, O.; Orbell, J.D.; Gray, S. (2014):** Experimental and computational investigations of the interactions between model organic compounds and subsequent membrane fouling. *Water Research* 48, 108-118.
- Newcombe, G. (1994):** Activated carbon and soluble humic substances: adsorption, desorption, and surface charge effects. *Journal of Colloid and Interface Science* 164 (2), 452-462.
- Norde, W.; Favier, J.P. (1992):** Structure of adsorbed and desorbed proteins. *Colloids and Surfaces* 64 (1), 87-93.
- Nguyen, M.L.; Westerhoff, P.; Baker, L.; Hu, Q.; Esparza-Soto, M.; Sommerfeld, M. (2005):** Characteristics and reactivity of algae-produced dissolved organic carbon. *Journal of Environmental Engineering – ASCE* 131 (11), 1574-1582.
- Ochs, M.; Čosović, B.; Stumm, W. (1994):** Coordinative and hydrophobic interaction of humic substances with hydrophilic Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> and hydrophobic mercury surfaces. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 58 (2), 639-650.
- Pantelić, D.; Svirčev, Z.; Simeunović, J.; Vidović, M.; Trajković, I. (2013):** Cyanotoxins: Characteristics, production and degradation routes in drinking water treatment with reference to the situation in Serbia. *Chemosphere* 91 (4), 421-441.

- Peuravuori, J.; Pihlaja, K. (1997):** Isolation and characterisation of natural organic matter from lake water: Comparison of isolation with solid adsorption and tangential membrane filtration. *Environment International* 23 (4), 441-451.
- Peuravuori, J.; Pihlaja, K.; Välimäki, N. (1997):** Isolation and characterization of natural organic matter from lake water: Two different adsorption chromatographic methods. *Environment International* 23 (4), 453-464.
- Pietsch, J.; Bornmann, K.; Schmidt, W. (2002):** Relevance of intra- and extracellular cyanotoxins for drinking water treatment. *Acta Hydrochimica et Hydrobiologica* 30 (1), 7-15.
- Pitter, P.:** Hydrochemie. Vydavatelství VŠCHT, Praha, 2009, 568 s.
- Pivokonský, M.; Klouček, O.; Pivokonská, L. (2006):** Evaluation of the production, composition and aluminum and iron complexation of algogenic organic matter. *Water Research* 40 (16), 3045-3052.
- Pivokonský, M.; Polášek, P.; Pivokonská, L.; Tomášková H. (2009):** Optimized reaction conditions for removal of cellular organic matter of *Microcystis aeruginosa* during the destabilization and aggregation process using ferric sulphate in water purification. *Water Environment Research* 81 (5), 514-522.
- Pivokonský, M.; Pivokonská, L.; Bubáková, P.; Janda, V. (2010):** Úprava vody s obsahem huminových látek. *Chemické listy* 104, 1015-1022.
- Pivokonský, M.; Bubáková, P.; Pivokonská, L.; Knesl, B.:** Tvorba suspenze při úpravě vody. Teorie a praxe. SOVAK ČR, Líbeznice, 2011, 218 s.
- Pivokonský, M.; Šafaříková, J.; Bubáková, P.; Pivokonská, L. (2012):** Coagulation of peptides and proteins produced by *Microcystis aeruginosa*: Interaction mechanisms and the effect of Fe-peptide/protein complexes formation. *Water Research* 46 (17), 5583-5590.
- Pivokonský, M.; Šafaříková, J.; Barešová, M.; Pivokonská, L.; Kopecká, I. (2014):** A comparison of the character of algal extracellular versus cellular organic matter produced by cyanobacterium, diatom and green alga. *Water Research* 51, 37-46.
- Qin, J.; Htun Oo, M.; Kekre, K.; Knosp, F.; Miller, P. (2006):** Impact of coagulation pH on enhanced removal of natural organic matter in treatment of reservoir water. *Separation and Purification Technology* 49 (3), 295-298.
- Rodriguez, E.; Onstad, G.D.; Kull, T.P.J.; Metcalf, J.S.; Acero, J.L.; Gunten, U. (2007):** Oxidative elimination of cyanotoxins: Comparison of ozone, chlorine, chlorine dioxide and permanganate. *Water Research* 41 (15), 3381-3393.
- Sano, D.; Ishifuji, S.; Sato, Y.; Imae, Y.; Takaara, T.; Masago, Y.; Omura, T. (2011):** Identification and characterization of coagulation inhibitor proteins derived from cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *Chemosphere* 82 (8), 1096-1102.
- Sarpola, A.; Hellman, H.; Hietapelto, V.; Jalonen, J.; Jokela, J.; Rämö, J.; Saukkoriipi, J. (2007):** Hydrolysis products of water treatment chemical aluminium sulfate octadecahydrate by electrospray ionization mass spectrometry. *Polyhedron* 26 (12), 2851-2858.
- Sharp, E.L.; Parson, S.A.; Jefferson, B. (2006):** Coagulation of NOM: linking to treatment. *Water Science and Technology* 53 (7), 67-76.

- Shi, B.; Wei, Q.; Wang, D.; Zhu, Z.; Tang, H. (2007):** Coagulation of humic acid: The performance of performed and non-performed Al species. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 296 (1-3), 141-148.
- Shin, J.Y.; Spinette, R.F.; O'Melia, C.R. (2008):** Stoichiometry of coagulation revisited. *Environmental Science and Technology* 42 (7), 2582-2589.
- Siéliéchi, J.M.; Lartiges, B.S.; Kayem, G.J.; Hupont, S.; Frochot, C.; Thieme, J.; Ghanbaja, J.; d'Espinose de la Caillerie, J.B.; Barrés, O.; Kamga, R.; Levitz, P. Michot, L.J. (2008):** Changes in humic acid conformation during coagulation with ferric chloride: Implications for drinking water treatment. *Water Research* 42 (8-9), 2111-2123.
- Singer, P.C. (1999):** Humic substances as precursors for potentially harmful disinfection by-products. *Water Science & Technology* 40 (9), 25-30.
- Šafaříková, J.; Barešová, M.; Pivokonský, M.; Kopecká, I. (2013):** Influence of peptides and proteins produced by cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* on the coagulation of turbid waters. *Separation and Purification Technology* 118, 49-57.
- Takaara, T.; Sano, D.; Konno, H.; Omura, T. (2005):** Affinity isolation of algal organic matters able to form complex with aluminium coagulant. *Water Science and Technology: Water Supply* 4 (5-6), 95-102.
- Takaara, T.; Sano, D.; Konno, H.; Omura, T. (2007):** Cellular proteins of *Microcystis aeruginosa* inhibiting coagulation with polyaluminium chloride. *Water Research* 41 (8), 1653-1658.
- Takaara, T.; Sano, D.; Masago, Y.; Omura, T. (2010):** Surface-retained organic matter of *Microcystis aeruginosa* inhibiting coagulation with polyaluminum chloride in drinking water treatment. *Water Research* 44 (13), 3781-3786.
- Tan, W.F.; Koopal, L.K.; Weng, L.P.; van Riemsdijk, W.H.; Norde, W. (2008):** Humic acid protein complexation. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 72 (8), 2090-2099.
- Tan, W.F.; Norde, W.; Koopal, L.K. (2011):** Humic substance charge determination by titration with a flexible cationic polyelectrolyte. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 75 (19), 5749-5761.
- Tang, W.; Zeng, G.; Gong, J.; Liang, J.; Xu, P.; Zhang, Ch.; Huang, B. (2014):** Impact of humic/fluvic acid on the removal of heavy metals from aqueous solutions using nanomaterials: A review. *Science of the Total Environment* 468-469, 1014-1027.
- Tomášková, H.; Pivokonská, L.; Pivokonský, M. (2008):** Frakcionace přírodních organických látek a hliníku při optimalizaci úpravy vody destabilizací a agregací nečistot. *Chemické listy* 102, 1131-1137.
- Valentine, M.:** Water treatment - Principles and practices of water supply operation series. American Water Works Association, Denver, 2010, 512 s.
- Vandamme, D.; Foubert, I.; Fraeye, I.; Muylaert, K. (2012):** Influence of organic matter generated by *Chlorella vulgaris* on five different modes of flocculation. *Bioresource Technology* 124, 508-511.
- Vodrážka, Z.:** Biochemie. Nakladatelství Academia, Praha, 2002, 192 s.
- Wang, L.; Qiao, J.; Hu, Y.; Wang, L.; Zhang, L.; Zhou, Q.; Gao, N. (2013):** Pre-oxidation with  $\text{KMnO}_4$  changes extra-cellular organic matter's secretion characteristics to improve algal removal by coagulation with a low dosage of polyaluminium chloride. *Journal of Environmental Sciences* 25 (3), 452-459.

- Wang, W.; Wang, W.; Fan, Q.; Wang, Y.; Qiao, Z.; Wang, X. (2014a):** Effects of UV radiation on humic acid coagulation characteristics in drinking water treatment processes. *Chemical Engineering Journal* 256, 137-143.
- Wang, W.S.; Tischer, R.G. (1973):** Study of extracellular polysaccharides produced by a blue-green alga, *Anabaena flos-aquae* A-37. *Archiv für Mikrobiologie* 91 (1), 77-81.
- Wang, Z.; Teychene, B.; Chalew, T.E.A.; Ajmani, G.S.; Zhou, T.; Huang, H.; Wu, X. (2014b):** Aluminium-humic colloid formation during pre-coagulation for membrane water treatment: Mechanisms and impacts. *Water Research* 61, 171-180.
- Widrig, D.L.; Gray, K.A.; McAuliffe, K.S. (1996):** Removal of algae-derived organic material by preozonation and coagulation: monitoring changes in organic quality by pyrolysis-GC-MS. *Water Research* 30 (11), 2621-2632.
- Yang, J.; Jia, J.; Liao, J.; Wang, Y. (2004):** Removal of fulvic acid from water electrochemically using active carbon fiber electrode. *Water Research* 38 (20), 4353-4360.
- Yang, Z.L.; Gao, B.Y.; Yue, Q.Y.; Wang, Y. (2010):** Effect of pH on the coagulation performance of Al-based coagulants and residual aluminium speciation during the treatment of humic acid-kaolin synthetic water. *Journal of Hazardous Materials* 178 (1-3), 596-603.
- Yildiz, Y.S.; Koparal, A.S.; Keskinler, B. (2008):** Effect of initial pH and supporting electrolyte on the treatment of water containing high concentration of humic substances by electrocoagulation. *Chemical Engineering Journal* 138 (1-3), 63-72.
- Yoon, J.Y.; Kim, J.H.; Kim, W.S. (1999):** The relationship of interaction forces in the protein adsorption onto polymeric microspheres. *Colloids and Surfaces A* 153 (1-3), 413-419.
- Zhang, X.; Amendola, P.; Hewson, J.C.; Sommerfeld, M.; Hu, Q. (2012a):** Influence of growth phase on harvesting of *Chlorella zofingiensis* by dissolved air flotation. *Bioresource Technology* 116, 477-484.
- Zhang, X.; Minear, R.A. (2006):** Formation, adsorption and separation of high molecular weight disinfection byproducts resulting from chlorination of aquatic humic substances. *Water Research* 40 (2), 221-230.
- Zhang, Y.; Tang, C.Y.; Li, G. (2012b):** The role of hydrodynamics conditions and pH on algal-rich water fouling of ultrafiltration. *Water Research* 46 (15) 4783-4789.
- Zhang, Y.; Zhao, X.; Zhang, X.; Peng, S. (2015):** The change of NOM in a submerged UF membrane with three different pretreatment processes compared to an individual UF membrane. *Desalination* 360, 118-129.
- Zhao, Y.X.; Gao, B.Y.; Shon, H.K.; Cao, B.C.; Kim, J.H. (2011):** Coagulation characteristics of titanium (Ti) salt coagulant compared with aluminum (Al) and iron (Fe) salts. *Journal of Hazardous Materials* 185 (2-3), 1536-1542.
- Zhou, Q.; Cabaniss, S.C.; Maurice, P.A. (2000):** Considerations in the use of high-pressure size exclusion chromatography (HPSEC) for determining molecular weights of aquatic humic substances. *Water Research* 34 (14), 3505-3514.
- Zhou, S.; hao, Y.; Gao, N.; Zhu, S.; Li, L.; Deng, J.; Zhu, M. (2014):** Removal of *Microcystis aeruginosa* by potassium ferrate (IV): Impacts on cells integrity, intracellular organic matter release and disinfection by-products formation. *Chemical Engineering Journal* 251, 304-309.