

VLIV ORGANICKÝCH LÁTEK PRODUKOVANÝCH FYTOPLANKTONEM NA KOAGULACI HUMINOVÝCH LÁTEK

**Mgr. Kateřina Novotná^{1,2)}, Ing. Šárka Drdová²⁾,
Mgr. Jana Načeradská, Ph.D.¹⁾, RNDr. Martin Pivokonský, Ph.D.¹⁾,
prof. Ing. Václav Janda, CSc.²⁾**

¹⁾ Ústav pro hydrodynamiku, Akademie věd ČR, v. v. i.,
Pod Paťankou 5, 166 12 Praha 6; pivo@ih.cas.cz

²⁾ Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Fakulta technologie ochrany prostředí,
Technická 5, 166 28 Praha 6; jandav@vscht.cz

Abstrakt

Příspěvek se zabývá výzkumem koagulace huminových látek v přítomnosti peptidové/proteinové složky látek produkovaných fytoplanktonem (AOM). Použity byly peptidy/proteiny izolované z AOM sinice *Microcystis aeruginosa*. Studována byla účinnost koagulace uvedených látek samostatně i současně s důrazem na jejich vzájemné působení. Ukázalo se, že pro odstranění huminových látek je potřebná podstatně vyšší dávka koagulačního činidla než pro srovnatelné množství sinicových peptidů/proteinů. Následně bylo také zjištěno, že přítomnost AOM peptidů/proteinů příznivě ovlivňuje koagulaci huminových látek (významně snižuje potřebnou dávku koagulačního činidla) a naopak, prokazatelně tedy dochází k interakcím mezi různými typy organických látek. Nejvyšší účinnosti koagulační bylo pro všechny sledované látky dosaženo v oblasti mírně kyselého pH, odstraněno bylo až 80 % DOC.

Úvod

Přírodní organické látky (NOM – natural organic matter) různého charakteru se zcela běžně vyskytují v povrchových vodních zdrojích [1]. Významně bývají zastoupeny huminové látky (až 50-65 % NOM) [2, 3], další důležitou složkou jsou látky produkované fytoplanktonem (AOM – algal organic matter) [4], jejichž množství může během roku silně kolísat a způsobovat tak výkyvy ve kvalitě surové vody [5]. Velký podíl AOM (až 65 %) je tvořen peptidy a proteiny [6, 7], dále AOM obsahují např. polysacharidy, aminocukry, aminokyseliny a enzymy [8]. Z hlediska výroby pitné vody je přítomnost NOM nežádoucí. Důvody jsou např. tvorba zdravotně závadných vedlejších produktů desinfekce vody, poruchy koagulace, zanášení membránových filtrů nebo inhibice adsorpce mikropolutantů [9]. K odstranění znečišťujících příměsí včetně přírodních organických látek se v rámci úpravy vody běžně využívá koagulace [10]. Nezbytné je při ní optimalizovat parametry, kterými jsou hlavně dávka koagulačního činidla a hodnota pH, přičemž tyto jsou silně závislé na charakteru znečišťujících látek [1, 6, 10]. Vlivem rozdílných vlastností odstraňovaných látek a podmínek koagulace se uplatňují různé mechanismy interakcí s koagulačními činidly [11], předpokládat lze i vzájemné působení organických látek [12]. Řada studií se věnuje výzkumu koagulace jednotlivých organických látek [10, 13, 14], žádoucí je ale zaměřit se i na jejich kombinace, jelikož v přírodních vodách se běžně vyskytují různé typy NOM současně [1, 3]. Tato studie se zabývá optimalizací koagulace huminových látek (HL), peptidové/proteinové složky AOM sinice *Microcystis aeruginosa* (sinicové

peptidy/proteiny – SP) a jejich kombinace. Pozornost je věnována mechanismům interakcí koagulace a vzájemnému působení organických látek.

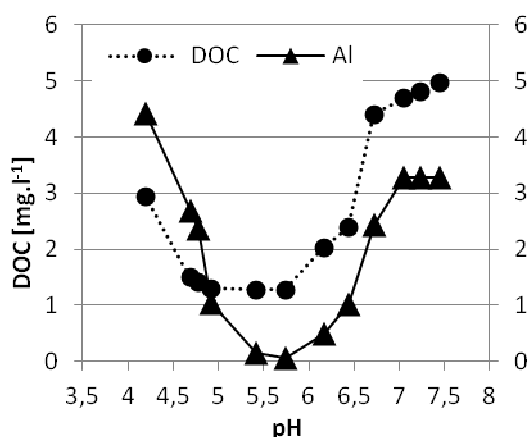
Materiál a metodika

Huminové látky byly získány vylouhováním vláknité rašeliny (Aqua Exotic, Slovensko). Kultivace sinice *Microcystis aeruginosa* a izolace peptidové/proteinové složky je blíže popsána v literatuře [7, 15]. Koncentrace rozpuštěného organického uhlíku (DOC - dissolved organic carbon) byla měřena analyzátozem Shimadzu TOC-V_{CPH} (Shimadzu Corporation, Japonsko). Koagulační pokusy (sklenicové zkoušky) byly prováděny pro HL i SP samostatně (výchozí koncentrace 5 mg.l⁻¹ DOC) a pro kombinaci HL a SP (5 mg.l⁻¹ DOC HL + 5 mg.l⁻¹ DOC SP) za využití Al₂(SO₄)₃.18H₂O jako koagulačního činidla; pro HL+SP pak ještě zcela bez použití činidla. Zvolené koncentrace DOC odpovídají hodnotám běžným pro přírodní vody [16, 17]. Pro sklenicové zkoušky byla použita osmimístná míchací kolona (LMK 8-03, Ústav pro hydrodynamiku AV ČR, v. v. i.). Hodnota pH byla vždy předem upravena pomocí 0,1 M HCl nebo 0,1 M NaOH. Podíl huminových látek na zbytkových koncentracích DOC byl stanovován pomocí UV absorbance při 254 nm [17, 18]. Použit byl UV/VIS 8452A spektrofotometr (Agilent Technologies, USA) s 1 cm kyvetou. Podíl peptidů/proteinů byl vypočten jako rozdíl mezi celkovou koncentrací DOC a koncentrací DOC HL. Relativní molekulové hmotnosti byly měřeny pomocí HPSEC (1260 series, Agilent Technologies, USA) s fluorescenčním detektorem (FLD) za využití kolon Agilent Bio SEC-5 100 Å, 300 Å a 500 Å zapojených do série (separační rozsah 100-1250000 Da). Detekce probíhala při vlnových délkách (excitační/emisní záření) 280/350 nm pro proteiny a 320/450 nm pro stanovení HL [19]. Molekulové hmotnosti byly určeny pomocí kalibrační křivky SEC standardů o molekulových hmotnostech 224 Da až 900 kDa (Sigma-Aldrich, USA).

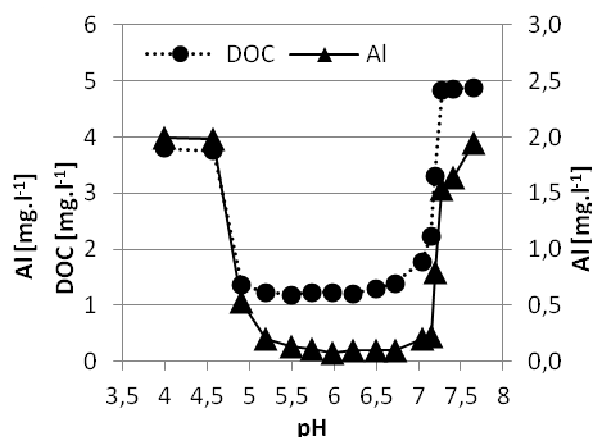
Výsledky a diskuze

1) Koagulace huminových látek a AOM peptidů/proteinů samostatně

Testovanými parametry koagulace byly dávka koagulačního činidla a hodnota pH. Použity byly dávky činidla odpovídající koncentracím Al 0,2-8,0 mg.l⁻¹. Pro optimalizaci dávky bylo na základě studií využívajících síran hlinitý při koagulaci organických látek [10, 20] zvoleno pH 6,0. Bylo zjištěno, že potřebná dávka koagulačního činidla se pro jednotlivé NOM významně liší. Pro huminové látky o výchozí koncentraci DOC 5 mg.l⁻¹ činí optimum 5,5 mg.l⁻¹ Al, zatímco pro AOM peptidy/proteiny o stejné koncentraci DOC jen 2,0 mg.l⁻¹ Al. Za využití uvedených dávek koagulačního činidla bylo dosaženo nejnižších zbytkových koncentrací DOC i Al, při dalším zvyšování dávky už nedocházelo ke zlepšení účinnosti koagulace. Z výsledků vyplývá, že optimální dávku koagulačního činidla nelze stanovit jen na základě výchozí koncentrace NOM, určující je také charakter organických látek. Molekulová hmotnost použitých huminových látek byla stanovena v rozmezí asi 4-11 kDa, zatímco molekulové hmotnosti SP se pohybují řádově od jednotek po stovky kDa, na stejnou koncentraci DOC tak připadá u huminových látek větší množství molekul, které je třeba destabilizovat. Při nízkých dávkách činidla dochází kromě nedostatečného odstranění organických látek i k nárůstu zbytkových koncentrací Al, a to z důvodu nízké tvorby odstranitelných částic [20]. Pro sledování vlivu pH na účinnost koagulace (při optimální dávce činidla) byly zvoleny hodnoty v rozmezí pH 4,0 až 7,5. Výchozí koncentrace HL i SP byly opět 5 mg.l⁻¹ DOC. Nejlepšího odstranění huminových látek (asi 70 % DOC) bylo dosaženo při hodnotách pH 4,9-5,7. Mimo uvedené optimum rostou zbytkové koncentrace DOC i Al, závislost účinnosti koagulace na hodnotě pH je znázorněna na obr. 1. Stanovené optimum pH pro koagulaci HL se shoduje i s dalšími studiemi, kde jsou využita činidla



Obr. 1. Zbytkové koncentrace DOC a Al po koagulaci HL (při optimální dávce koagulačního činidla) v závislosti na pH (výchozí DOC 5 mg.l⁻¹)



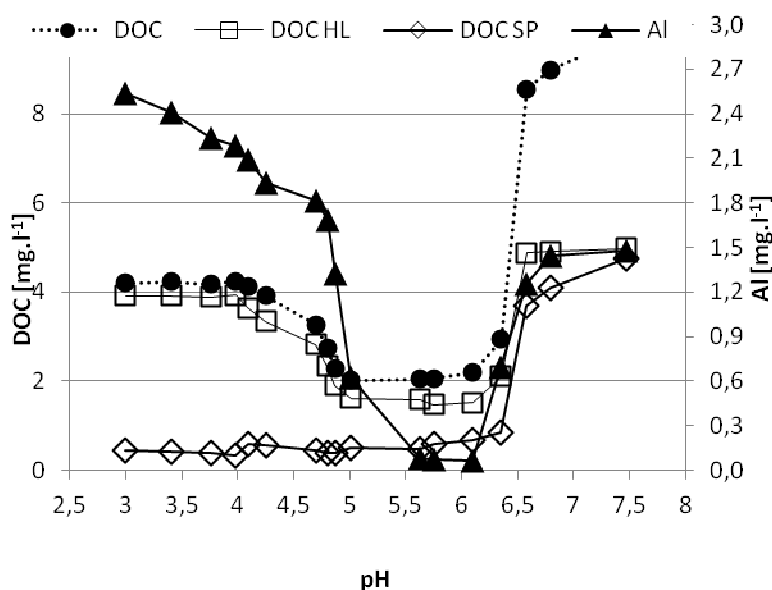
Obr. 2. Zbytkové koncentrace DOC a Al po koagulaci SP (při optimální dávce koagulačního činidla) v závislosti na pH (výchozí DOC 5 mg.l⁻¹)

na bázi Al [2, 21, 22]. Sinicové peptidy/proteiny byly nejméně odstraněny (asi 75 % DOC) v rozmezí pH 5,2 až 6,7. To jsou hodnoty srovnatelné pro použití činidel na bázi Fe [14]. Průběh koagulace SP v závislosti na pH ukazuje obr. 2. V uvedených optimálních rozmezích pH bylo vždy dosaženo i nejnižších koncentrací Al (pod 0,1 mg.l⁻¹). Ze závislosti účinnosti koagulace na pH vyplývá, že zásadní význam mají nábojové charakteristiky interagujících látek, které jsou určovány právě hodnotou pH. Optimum pro koagulaci jak huminových látek, tak peptidové/proteinové složky AOM se nachází v mírně kyselé oblasti pH, kde je hlavním mechanismem koagulace nábojová neutralizace [18, 21, 23]. Huminové látky mají velké množství ionizovatelných skupin (např. -OH, -COOH), které při určitém pH podléhají disociaci a HL tak získávají záporný náboj [24, 25]. Ten u huminových látek převažuje nad pH 4,0 [11], při stanoveném optimu jsou tedy huminové látky záporně nabitě. Rovněž peptidy a proteiny nesou řadu funkčních skupin (-OH, -COOH, -SH, -NH₃⁺, =NH₂⁺ apod.), které v závislosti na pH ovlivňují nábojové charakteristiky peptidů/proteinů. Hodnoty izoelektrických bodů *pI* peptidů/proteinů sinice *Microcystis aeruginosa* (*pI* 4,8; 5,1; 5,3; 5,5; 5,6; 5,8; 6,1; 6,3; 6,5; 6,6; 7,0; 7,4; 7,8; 7,9; 8,1) ukazují, že při stanoveném optimálním pH u nich rovněž převládá záporný náboj [15]. Lze tedy usuzovat, že dominantní mechanismy koagulace jsou pro obě skupiny látek podobné. Kromě nábojové neutralizace se na koagulaci při vyšších hodnotách optimálního pH může částečně podílet i adsorpce organických látek na povrchu hydroxidů hliníku [10, 11, 22].

2) Vliv AOM peptidů/proteinů na koagulaci huminových látek

Pro zjištění vlivu sinicových peptidů/proteinů na koagulaci huminových látek byly provedeny sklenicové zkoušky se směsí těchto látek. Při výchozí koncentraci 5 mg.l⁻¹ DOC HL + 5 mg.l⁻¹ DOC SP a při hodnotě pH 6,0 byla optimální dávka činidla stanovena na 2,8 mg.l⁻¹ Al. To je podstatně méně než pro huminové látky, a naopak více než pro samotné peptidy/proteiny. Je tedy patrné, že proteinová složka AOM příznivě ovlivňuje koagulaci huminových látek. Nejméně odstranění HL+SP (až 80 % DOC; při optimální dávce činidla) bylo dosaženo v rozmezí pH asi 4,9-6,1, což se překrývá s optimálními hodnotami pro HL i SP samostatně, na koagulaci se tedy patrně podílejí obdobné mechanismy. Peptidy/proteiny jsou odstraňovány s vyšší účinností než huminové látky (SP tvoří jen asi 25 % zbytkových koncentrací DOC). To souhlasí

s předpokladem, že látky o malé molekulové hmotnosti koagulují hůře [14, 15], i s HPSEC analýzou nezkoagulovaných látek. Ukázalo se, že v roztoku zůstávají hlavně nízkomolekulární frakce NOM. Z výsledků je zřejmé, že dochází i k interakcím mezi huminovými látkami a peptidy/proteiny. SP díky svému částečně polymernímu charakteru patrně fungují jako pomocné koagulační činidlo a umožňují tvorbu mezičásticových vazeb [14], což má za následek vyšší účinnost koagulace. Závislost průběhu koagulace HL+SP na pH je znázorněna na obr. 3. Při pH pod dolní hranicí optima lze pozorovat částečné odstranění organických látek (hodnoty DOC pod 5 mg.l^{-1}), zatímco zbytkové koncentrace Al jsou vysoké a v nejnižších hodnotách pH se takřka rovnají koncentracím výchozím. K interakcím mezi HL a SP tedy může za



Obr. 3. Zbytkové koncentrace DOC a Al po koagulaci HL+SP (při optimální dávce koagulačního činidla) v závislosti na pH (výchozí DOC 10 mg.l^{-1} : 5 mg.l^{-1} HL + 5 mg.l^{-1} SP)

určitých hodnot pH docházet i zcela bez účasti koagulačního činidla. Tento předpoklad potvrzují i výsledky sklenicových zkoušek bez činidla, kdy při určitých hodnotách pH (3,5 a méně) bylo odstraněno až 50 % DOC. Interakce peptidů/proteinů s dalšími koagulovanými složkami byla pozorována již dříve [13, 15], přičemž koagulaci patrně podporuje zejména vysokomolekulární frakce AOM [14, 26]. Na interakcích mezi HL a SP se může podílet více mechanismů, jedním z nich jsou hydrofobní interakce. Další možností kontaktu mezi NOM je tvorba vodíkových můstků mezi polárními molekulami a vznik solných můstků, což je kombinace vodíkové vazby a elektrostatické interakce [12]. Při koagulačních pokusech bez činidla byly pozorovány interakce jen do určité hodnoty pH (5,0). To lze vysvětlit rostoucím záporným nábojem HL i SP, a tedy silícími elektrostatickými repulzemi, které brání dostatečnému přiblížení molekul HL a SP. Protože při použití koagulačního činidla dochází k destabilizaci a neutralizaci huminových látek i AOM peptidů/proteinů, jsou interakce mezi nimi možné v podstatně širším rozmezí pH. V oblastech elektrostatických repulzí mezi HL a SP pak působí částice hydrolyzovaných kovů jako spojovací článek mezi oběma typy organických látek.

Shrnutí

Optimalizace parametrů koagulace je silně závislá na charakteru odstraňovaných látek. Potřebná dávka koagulačního činidla pro AOM peptidy/proteiny o koncentraci DOC 5 mg.l⁻¹ byla stanovena na 2,0 mg.l⁻¹ Al, zatímco pro stejné množství huminových látek na 5,5 mg.l⁻¹ Al. Ukázalo se, že proteinová složka AOM příznivě ovlivňuje koagulaci HL – při výchozí koncentraci 5 mg.l⁻¹ DOC HL + 5 mg.l⁻¹ DOC SP byla optimální dávka činidla stanovena na 2,8 mg.l⁻¹ Al, což je takřka dvakrát méně než pro HL samostatně. Prokazatelně tedy dochází k interakcím mezi huminovými látkami a AOM peptidy/proteiny, přičemž zvýšená koncentrace organických látek v důsledku přítomnosti AOM patrně nemusí vždy vyžadovat navýšení dávky koagulačního činidla. Optimální hodnoty pH se pro všechny studované látky nacházejí v mírně kyselé oblasti, kde je hlavním mechanismem koagulace nábojová neutralizace. Organické látky byly odstraněny až téměř z 80 %, přičemž AOM peptidy/proteiny koagulují snáze než HL.

Poděkování

Financováno z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum (MŠMT č. 20-SVV/2016).

Literatura

1. Sharp, E. L., Jarvis, P., Parsons, S. A., Jefferson, B. (2006): Impact of fractional character on the coagulation of NOM. *Colloids Surf. A* 286, 104-111.
2. Lin, J.-L., Huang, C., Dempsey, B., Hu, J.-Y. (2014): Fate of hydrolyzed Al species in humic acid coagulation. *Water Res.* 56, 314-324.
3. Marhaba, T., Van, D. (2000): The variation of mass and disinfection by-product formation potential of dissolved organic matter fractions along a conventional surface water treatment plant. *J. Hazard. Mater. A* 74, 133-147.
4. Her, N., Amy, G., Park, H.-R., Song, M. (2004): Characterizing algogenic matter (AOM) and evaluating associated NF membrane fouling. *Water Res.* 38, 1427-1438.
5. Leloup, M., Nicolau, R., Pallier, V., Yéprémian, C., Feuillade-Cathalifaud, G. (2013): Organic matter produced by algae and cyanobacteria: Quantitative and qualitative characterization. *J. Environ. Sci.* 25, 1089-1097.
6. Pivokonský, M., Klouček, O., Pivokonská, L. (2006): Evaluation of the production, composition and aluminium and iron complexation of algogenic organic matter. *Water Res.* 40, 3045-3052.
7. 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 Res.* 51, 37-46.
8. 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 Res.* 46, 1233-1240.
9. Pivokonský, M., Načeradská, J., Kopecká, I., Barešová, M., Jefferson, B., Li, X., Henderson, R. K. (2016): The impact of algogenic organic matter on water treatment plant operation and water quality: A review. *Crit. Rev. Env. Sci. Tec.* 46, 291-335.
10. Matilainen, A., Vepsäläinen, M., Sillanpää, M. (2010): Natural organic matter removal by coagulation during drinking water treatment: A review. *Adv. Colloid Interface Sci.* 159, 189-197.

11. Duan, J., Gregory, J. (2003): Coagulation by hydrolysing metal salts. *Adv. Colloid Interface Sci.* 100-102, 475-502.
12. 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 Res.* 48, 108-118.
13. Henderson, R. K., Parsons, S. A., Jefferson, B. (2010): The impact of different cell and algogenic organic matter (AOM) characteristics on the coagulation and flotation of algae. *Water Res.* 44, 3617-3624.
14. 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 Res.* 46, 5583-5590.
15. 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. *Sep. Purif. Technol.* 118, 46-57.
16. McDonald, S., Bishop, A. G., Prenzler, P. D., Robards, K. (2004): Analytical chemistry of freshwater humic substances. *Anal. Chim. Acta* 527, 105-124.
17. Volk, C., Bell, K., Ibrahim, E., Verges, D., Amy, G., Lechevallier, M. (2000): Impact of enhanced and optimized coagulation on removal of organic matter and its biodegradable fraction in drinking water. *Water Res.* 34, 3247-3257.
18. Wang, Z., Teychene, B., Abbott Chalew, T. E., Ajmani, G. S., Zhou, T., Huang, H., Wu, X. (2014): Aluminum-humic colloid formation during pre-coagulation for membrane water treatment: Mechanisms and impacts. *Water Res.* 61, 171-180.
19. Her, N., Amy, G., McKnight, D., Sohn, J., Yoon, Y. (2003): Characterization of DOM as a function of MW by fluorescence EEM and HPLC-SEC using UVA, DOC, and fluorescence detection. *Water Res.* 37, 4295-4303.
20. Gregor, J. E., Nokes, C. J., Fenton, E. (1997): Optimising Natural Organic Matter Removal from Low Turbidity Waters by Controlled pH Adjustment of Aluminium Coagulation. *Water Res.* 31, 2949-2958.
21. Cheng, W. P., Chi, F. H., Yu, R. F. (2004): Effect of phosphate on removal of humic substances by aluminium sulfate coagulant. *J. Colloid Interface Sci.* 272, 153-157.
22. Lu, X., Chen, Z., Yang, X. (1999): Spectroscopic study of aluminium speciation in removing humic substances by Al coagulation. *Water Res.* 33, 3271-3280.
23. Gonzalez-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 Res.* 60, 197-209.
24. Jones, M. N., Bryan, N. D. (1998): Colloidal properties of humic substances. *Adv. Colloid Interface Sci.* 78, 1-48.
25. 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 Res.* 42, 2111-2123.
26. Bernhardt, H., Hoyer, O., Schell, H., Lüsse, B. (1985): Reaction mechanisms involved in the influence of algogenic organic matter on flocculation. *Z. Wasser Abwass. For.* 18, 18-30.