

**Univerzita Karlova v Praze**

**Přírodovědecká fakulta**

**Ústav pro životní prostředí**



Studijní program: Ekologie a ochrana prostředí

Studijní obor: Ochrana životního prostředí

**Vliv organických látek produkovaných fytoplanktonem  
na koagulaci jejich buněk**

*Influence of algal organic matter on coagulation of phytoplanktonic cells*

**Bakalářská práce**

Štěpánka Stránská

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

srpen 2016

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracovala samostatně s využitím uvedené literatury a informací, na něž odkazuji. Rovněž prohlašuji, že předložená tištěná verze bakalářské práce je totožná s elektronickou verzí vloženou do SIS.

V Praze dne 1. 8. 2016

---

Podpis

Děkuji RNDr. Martinu Pivokonskému, PhD. za vedení mé bakalářské práce. Dále děkuji pracovníkům Ústavu pro hydrodynamiku AV ČR, v .v. i. za přínosné rady a pomoc při psaní práce.

Velké poděkování patří mé rodině a nejbližším přátelům za trpělivost a podporu během celého studia.

## Abstrakt

Při výskytu vodního květu čelí úpravný vody nejen zvýšenému výskytu sinic a řas, ale také vysokým koncentracím látek produkovaných těmito organismy, tzv. AOM (Algal Organic Matter). Přítomnost AOM pak může vést k produkci vody nevyhovující jakosti, projevující se nejen výskytem zvýšených koncentrací buněk mikroorganismů a AOM v upravené vodě, ale také výskytem celé řady dalších problémů, z nich nejzávažnější je tvorba toxických vedlejších produktů dezinfekce, tzv. DBPs (Disinfection By-Products). Prvořadým úkolem úpravy vody v těchto případech pak je odstranit buňky mikroorganismů v neporušeném stavu tak, aby nedošlo k uvolnění AOM do upravované vody.

Tato práce se zabývá vlivem AOM produkovaných fytoplanktonem na koagulaci jejich buněk. Účinnost koagulace je ovlivněna různými vlastnostmi buněk. Významná je především závislost dávky koagulačního činidla na ploše povrchu buněk a velikost a hodnota jejich povrchového náboje. Bylo prokázáno, že AOM mohou mít jak negativní tak i pozitivní vliv na koagulaci buněk sinic a řas. K inhibici koagulace dochází hlavně při vysokých koncentracích především nízkomolekulární složky AOM. Naopak pozitivní vliv na průběh koagulace mají vysokomolekulární AOM (zejména proteiny), které při nízkých koncentracích a v určitém rozmezí pH cca 4-6 významně přispívají k účinné koagulaci buněk.

Pro separaci zkoagulovaných buněk fytoplanktonu se dnes velmi často využívá dvoustupňové separace suspenze flotací rozpuštěným vzduchem (DAF – Dissolved Air Flotation) a následné pískové filtrace. Standardní postup pro úpravu vody s obsahem buněk sinic/řas a AOM zahrnuje koagulaci, sedimentaci/flotaci a filtraci. Koagulace je tak prvním a nezbytným krokem pro úpravu těchto typů vod. Vzhledem k tomu, že míra odstranění vlastních buněk i vliv AOM na jejich odstranitelnost jsou úzce závislé na druhu a růstové fázi mikroorganismu, složení a koncentraci AOM a celkovém náboji systému, je třeba další výzkum zaměřený na koagulaci jednotlivých druhů fytoplanktonu.

**Klíčová slova:** AOM (Algal Organic Matter) – organické látky produkované fytoplanktonem; koagulace; sinice; úprava vody

## Abstract

When algal or cyanobacterial populations increase in drinking water reservoirs, water treatment technologies have to cope not only with increased cell numbers but also with algal organic matter (AOM). The presence of cells and AOM in raw water causes some problems in the drinking water treatment process that can lead to the drinking water production of unsatisfactory quality. Residual algae cells and AOM can form toxic disinfection by-products (DBPs). Therefore, to maintain the cell integrity and prevent the release of AOM, it is essential for algae-polluted water treatment.

This thesis examines the influence of AOM on coagulation of algal and cyanobacterial cells. The efficiency of coagulation is affected by various algae characteristics. The important have particularly the dependence of the coagulant dose on the cell surface area and the size and value of the surface charge of cells. It has been demonstrated that AOM can have not only negative but also positive influence on coagulation of cells. The presence of high concentrations particularly of low molecular weight (MW) AOM results in inhibition of coagulation. On the other hand, coagulation is improved by low concentration of high-MW AOM (particularly proteins) at approximately pH 4-6.

Nowadays, for removal coagulated cells dissolved air flotation and subsequent sand filtration are often used. A commonly employed treatment chain for algae and AOM removal is coagulation, sedimentation/flotation and filtration. Coagulation is the first and a necessary treatment step for these types of waters. Since the removal rate of cells and the influence of AOM on their removability are closely dependent on the composition and the concentration of AOM and the total charge of the system, the species and the growth phase of the microorganism, further work on coagulation of individual species of phytoplankton is required.

Keywords: AOM – Algal Organic Matter; coagulation; cyanobacteria; water treatment

## Obsah

1. Úvod.....	7
2. Přírodní organické látky .....	9
2.1. Algal Organic Matter – látky produkované řasami a sinicemi .....	9
3. Odstranění AOM.....	13
3.1. Koagulace .....	14
3.2. Adsorpce na aktivním uhlí a membránová filtrace.....	17
3.3. Odstranění cyanotoxinů .....	17
4. Odstraňování buněk .....	18
4.1. Flotace rozpuštěným vzduchem (DAF) a sedimentace .....	24
4.2. Předoxidace.....	24
5. Vliv AOM na koagulaci buněk .....	27
6. Závěr .....	30
7. Seznam použitých zkratk .....	32
8. Literatura.....	34

# 1. Úvod

Sinice a řasy se celoročně nacházejí ve většině našich stojatých vod (Znachor, 2005), přičemž jejich běžně se vyskytující populace nepředstavují pro procesy úpravy vod většinou problém. Nicméně sezónní nárůst počtu sinic a řas a tvorba vodního květu mohou v relativně krátkém časovém úseku dramaticky navýšit početnost populací a mohou tak významně zkomplikovat úpravu vody (Henderson a kol., 2008a).

Hlavní příčinou vzniku vodního květu je eutrofizace vodních nádrží zapříčiněná nadměrným přísunem živin. Pro výskyt vodního květu je pak rovněž příhodné teplé a suché počasí na konci jara a teplotní stabilita vodního sloupce bez intenzivního míchání. Rozvoj vodního květu je omezen u nádrží s kratší dobou zdržení vody, než je generační doba sinic a řas, kdy dochází k vyplavení fytoplanktonu z nádrže. V ČR se vodní květ opakovaně nachází v 70 až 80 % sledovaných přehrad (Znachor, 2005).

Nárůst sinic a řas v nádržích je příčinou mnoha problémů při úpravě vody. Kromě odstraňování samotných buněk musí úpravny vody čelit i zvýšeným koncentracím látek produkovaných těmito buňkami, tzv. AOM (Algal Organic Matter) (Zhang a kol., 2010; Pivokonský a kol., 2016). Díky přítomnosti AOM při úpravě vody může docházet k produkci vody nevyhovující jakosti, zhoršení jejích organoleptických vlastností a k tvorbě karcinogenních látek při desinfekci vody (Li a kol., 2012). Přítomnost fytoplanktonu dále vede k zanášení filtračních membrán a pískových filtrů (Qu a kol., 2012; Li a kol., 2014), snížení účinnosti adsorpce na aktivním uhlí (Hnatuková a kol., 2011) a také poruchám koagulace dalších znečišťujících příměsí (Bernhardt a kol., 1985; Takaara a kol., 2007). Problém představují zvláště sinice, které do vody produkují své toxické látky tzv. cyanotoxiny (Harada, 2004). Kromě toho bylo prokázáno, že sinice, zejména pikosinice (o velikosti 0,2 až 2,0  $\mu\text{m}$ ), jako je např. *Synechococcus* sp., přispívají k tvorbě asimilovatelného organického uhlíku (AOC – Assimilable Organic Carbon), který podporuje opětovný růst bakterií v distribučních systémech (Ma a Liu, 2002; Okuda, 2006).

Pro zamezení případných problémů spojených s výskytem buněk fytoplanktonu, je obecně žádoucí buňky odstranit v rámci procesů úpravy vody neporušené (Li a kol., 2012) a to hned v počátečních fázích úpravy (Henderson a kol., 2008a). Základním procesem pro odstranění buněk je koagulace (Henderson a kol., 2008a; Gonzales-Torres a kol., 2014). Míra její účinnosti pak přímo ovlivňuje následné

kroky úpravy vody (Edzwald, 1993a; Henderson a kol., 2008a). Někteří autoři se zaměřili na vliv AOM na koagulaci anorganických částic (Bernhardt a kol., 1985; Henderson a kol., 2006; Takaara a kol., 2007, 2010; Šafaříková a kol., 2013), nicméně málo studií se zabývalo vlivem AOM na koagulaci buněk.

Cílem této bakalářské práce je formou literární rešerše shrnout dosavadní poznatky o vlivu AOM produkovaných fytoplanktonem na koagulaci jejich buněk při úpravě vody a vytvořit tak teoretický základ pro další výzkum zaměřený na koagulaci jednotlivých druhů fytoplanktonu.



## 2. Přírodní organické látky

Přírodní organické látky (Natural Organic Matter – NOM), které jsou součástí povrchových vod, zahrnují řadu organických sloučenin různých chemických struktur a vlastností (Edzwald, 1993b; Matilainen a kol., 2011). NOM lze rozdělit na organické látky rozpuštěné (Dissolved Organic Matter – DOM) a nerozpuštěné (Particulate Organic Matter – POM), mezi nimiž byla dohodou stanovena velikostní hranice 0,45  $\mu\text{m}$  (Leenheer a Croué, 2003).

NOM se dále dělí dle původu na látky alochtonní a autochtonní. Mezi alochtonními převládají hlavně huminové látky, mezi které řadíme huminové kyseliny a fulvokyseliny. Zatímco mezi autochtonními převažují látky nehumínové povahy, mezi které patří látky produkované řasami a sinicemi, tzv. AOM (Algal Organic Matter) (Gondar a kol., 2008; Pivokonský a kol., 2015). Nejvyšších koncentrací AOM v povrchových vodách dosahují při zvýšeném nárůstu fytoplanktonu (Leloup a kol., 2013).

### 2.1. Algal Organic Matter – látky produkované řasami a sinicemi

AOM mohou být uvolňovány do vody v důsledku metabolických procesů jako extracelulární organické látky (EOM – Extracellular Organic Matter) nebo intracelulární organické látky (IOM – Intracellular Organic Matter) při odumírání a rozkladu buněk (Li a kol., 2012; Ma a kol., 2012a). Dále můžeme rozlišovat celulární organické látky (COM – Cellular Organic Matter), které zahrnují IOM a organické látky vázané k povrchu buněk (SOM – Surface-bonded Organic Matter) (Takaara a kol., 2007). K produkci EOM dochází především během exponenciální fáze růstu, kdy je odumírání buněk sinic a řas nízké. K nejvyšší rychlosti uvolňování AOM pak dochází ve stacionární růstové fázi, kdy jsou AOM produkovány v rámci metabolických pochodů a zároveň v důsledku rozkladu buněk. Ve fázi odumírání, kdy dochází ke snižování počtu buněk, převažuje produkce IOM (Pivokonský a kol., 2006; Leloup a kol., 2013).

AOM zahrnují širokou škálu chemických látek, jejichž složení závisí na druhu organismu, jeho růstové fázi a podmínkách prostředí (Pivokonský a kol., 2006; Henderson a kol., 2008b; Leloup a kol., 2013). Mezi hlavní skupiny látek produkovaných fytoplanktonem patří sacharidy a polysacharidy, dusíkaté látky

(aminokyseliny, peptidy, proteiny a nukleové kyseliny), organické kyseliny, lipidy, mastné kyseliny a toxiny (Cardozo a kol., 2007; Henderson a kol., 2008b).

Hlavními stavebními jednotkami polysacharidů produkovaných fytoplanktonem jsou glukosa, galaktosa, manna, arabinosa, xyloza, ribosa, fukosa, rhamnosa a uronové kyseliny (Paulsen a kol., 1998; Maksimova a kol., 2004). V malém množství se uvolňují jednoduché sacharidy a vícesytné alkoholy (např. mannitol a glycerol) (Hellebust, 1974). Přesné složení, množství a akumulace sacharidů závisí na dostupnosti živin a fotosyntetické aktivitě organismů (Fogg, 1971; Maksimova a kol., 2004).

Dusíkaté látky, které jsou často produkovány zelenými řasami, zahrnují aminokyseliny a peptidy. Avšak zauímají malou část z celkového EOM. Oproti tomu sinice produkují velké množství asimilovaných dusíkatých látek, jež jsou z větší části tvořeny polypeptidy a malým množstvím volných aminokyselin. Hlavními stavebními jednotkami těchto peptidů jsou glycin, kyselina glutamová, kyselina aspartová, alanin a serin (Hellebust, 1974).

Řasami nejčastěji uvolňovaná organická kyselina je kyselina glykolová. Ke zvýšené produkci její soli glykolátu dochází zejména při omezení fotosyntézy a nízké koncentraci oxidu uhličitého. Množství uvolněného glykolátu je závislé na druhu organismu. Řasy žijící za anaerobních podmínek dále uvolňují značné množství produktů fermentace zahrnujících kyselinu mravenčí, octovou a mléčnou (Fogg, 1971; Hellebust, 1974).

Lipidy jsou fytoplanktonem produkovány pouze v malém množství. Nenasycené mastné kyseliny či jejich peroxidy mohou být uvolňovány zejména organismy rodů *Chlamydomonas* a *Chlorella* spíše jako součást COM (Hellebust, 1974).

Dalšími látkami uvolňovanými buňkami fytoplanktonu jsou organické fosfáty (látky obsahující fosfor), které nalezneme spíše ve fázi odumírání organismů (lze je řadit k COM) (Fogg, 1971; Hellebust, 1974) a fenolové sloučeniny, jež jsou produkovány pouze některými druhy hnědých řas. Některé druhy (např. *Chlamydomonas globosa*, *Synura petersenii*, *Cryptomonas ovata*), jejichž zvýšený výskyt doprovází zápach, produkují těkavé látky zahrnující především aldehydy a ketony (Hellebust, 1974).

Důležitou součástí sinicových AOM jsou cyanotoxiny, které jsou produkovány v rámci jejich sekundárního metabolismu (Harada, 2004) a představují různorodou

skupinu přírodních toxinů, jež zahrnují více než 100 sloučenin, které se mohou výrazně lišit ve své chemické struktuře a toxicitě (Sivonen a Jones, 1999; Merel a kol., 2013). Produkce cyanotoxinů je ovlivněna řadou faktorů, například koncentrací živin, intenzitou světla, teplotou vody, pohybem vody a dobou zdržení. Cyanotoxiny se vyskytují především jako součást IOM v exponenciální fázi růstu. K jejich uvolnění může dojít v důsledku buněčné smrti, stárnutí či jiných okolností, jako je například alelopatie, nebo poměrně náhlé omezení přísunu živin (Merel a kol., 2013). Podle chemické struktury můžeme cyanotoxiny rozdělit do následujících skupin:

**1) Cyklické peptidy** jsou látky s poměrně velkou MW (800-1100 Da). Jsou tvořeny 5 nebo 7 aminokyselinami (AMK) s 2 koncovými AMK z lineárních peptidů. Tyto koncové AMK (nazývány také jako variabilní) jsou spojené za vzniku cyklického peptidu (Sivonen a Jones, 1999). Do této skupiny řadíme tyto toxiny:

Microcystin je tvořen 7 AMK, přičemž variabilní AMK umožňují vícenásobné kombinace (Sivonen a Jones, 1999). Je známo okolo 80 strukturních variant (Meriuloto a Spoof, 2008). Microcystin je produkován zejména rody *Anabaena*, *Microcystis*, *Oscillatoria (Planktothrix)*, *Nostoc* a *Anabaenopsis* (Sivonen a Jones, 1999; Kaebernick a Neilan, 2001). Většina microcystinů je ve vodě dobře rozpustná (Sivonen a Jones, 1999).

Nodularin je složen z 5 AMK a je uvolňován sinicí *Nodularia spumigena* (Sivonen a Jones, 1999).

**2) Alkaloidy** jsou skupinou heterocyklických dusíkatých sloučenin s obvykle nízkou MW (< 1000 Da) (Sivonen a Jones, 1999). Zahrnují tyto toxiny:

Cylindrospermopsin (415 Da) je tricyklický alkaloid (van Apeldoorn a kol., 2007). Produkovat ho mohou druhy *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Aphanizomenon ovalisporum*, *Raphidiopsis curvata* a *Umezakia natans* (Banker a kol., 1997; Fristachi a Sinclair, 2008).

Anatoxiny jsou nízkomolekulární látky (MW < 300 Da) (Sivonen a Jones, 1999) uvolňované hlavně rody *Anabaena*, *Aphanizomenon* a *Planktothrix* (van Apeldoorn a kol., 2007).

Saxitoxin je známý pro svou schopnost vyvolání paralytické otravy z měkkýšů (van Apeldoorn a kol., 2007). Je produkován rody *Aphanizomenon*, *Anabaena*, *Lyngbya* a *Cylindrospermopsis* (Sivonen a Jones, 1999).

Lyngbyatoxin je pak karcinogenní toxin uvolňovaný sinicemi rodu *Lyngbya* (van Apeldoorn a kol., 2007).

**3) Lipopolysacharidy (LPS)** mohou tvořit dráždivé toxiny, které se obecně nachází ve vnější membráně buněčné stěny, kde vytváří komplexy s proteiny a fosfolipidy (Sivonen a Jones, 1999).

Kromě toho se cyanotoxiny mohou také dělit na základě místa svého cílového působení na hepatotoxiny (microcystiny, nodulariny), neurotoxiny (anatoxiny, saxitoxiny), cytotoxiny (hepatotoxický cylindrospermopsin), dermatotoxiny (lyngbyatoxiny, aplysiatoxiny), endotoxiny (dráždivé lipopolysacharidy) (Sivonen a Jones, 1999).

Látky tvořící AOM se pohybují v širokém rozmezí molekulových hmotností. Nalezneme zde sloučeniny s MW od několika stovek Da až po stovky kDa (Pivokonský a kol., 2006; Henderson a kol., 2008b; Li a kol., 2012). Nízkomolekulární látky (< 10 kDa) jsou tvořeny aldehydy, aminy, aminokyseliny a peptidy, uhlovodíky, mono- a disacharidy (Pivokonský a kol., 2006; Huang a kol., 2007). Sloučeniny s MW > 10 kDa zahrnují většinou enzymatické proteiny. Vysokomolekulární látky (> 100 kDa) jsou zastoupeny především polysacharidy a proteiny (Henderson a kol., 2008b; Pivokonský a kol., 2014).

Nicméně AOM jsou tvořeny převážně biopolymery (> 50 %) (polysacharidy a proteiny) (Villacorte a kol., 2015). Ve studii González-López a kol. (2010) u řas *Porphyridium cruentum*, *Scenedesmus almeriensis*, *Muriellopsis* sp. a sinice *Synechocystis aquatilis* a *Arthrospira platensis* představovala proteinová složka 30 až 55 % z celkové sušiny. Zastoupení jednotlivých složek závisí na růstové fázi. V exponenciální růstové fázi převažují polysacharidy, avšak s postupem stáří kultury dochází k navýšení proteinové složky (Henderson a kol., 2008b; Villacorte a kol., 2015). Ve studii Villacorte a kol. (2015) u sinice *Microcystis* sp. zaujímaly polysacharidy v exponenciální fázi růstu 90 % z celkového množství AOM, během stacionární růstové fáze byl pak pozorován nárůst proteinové složky na 30 %. Tento nárůst proteinové složky ve stacionární fázi zaznamenal i Pivokonský a kol. (2014),

kde pro sinici *Microcystis aeruginosa* ve stacionární fázi zaujímal proteinová složka 42 % EOM. Tento nárůst lze vysvětlit postupným uvolňováním většího množství COM ve stacionární růstové fázi, které jsou oproti EOM tvořeny převážně z peptidů/proteinů (Pivokonský a kol., 2006; Leloup a kol., 2013). Ve studii Pivokonský a kol. (2014) pak u COM tvořila u sinice *Microcystis aeruginosa* proteinová složka 63 % z celkového obsahu organických látek vyjádřených jako koncentrace rozpuštěného organického uhlíku (Dissolved Organic Matter – DOC).

AOM se skládají hlavně z hydrofilních látek (Leloup a kol., 2013; Pivokonský a kol., 2014). Ve studii Leloup a kol. (2013) u řasy *Euglena gracilis* a sinice *Microcystis aeruginosa* tvořila hydrofilní složka v exponenciální růstové fázi 75 % z celkového množství AOM. Podobné výsledky byly získány i v dalších studiích (Li a kol., 2012; Pivokonský a kol., 2014). COM složka je pak ještě více hydrofilní (Li a kol., 2012). Například pro sinici *Microcystis aeruginosa* dosahovala hydrofilní složka 87 % COM (Pivokonský a kol., 2014). Hydrofilní část AOM je tvořena sacharidy, hydroxykyselinami, nízkomolekulárními karboxylovými kyselinami, aminokyselinami, aminosacharidy, peptidy, nízkomolekulárními alkylalkoholy, aldehydy a ketony, zatímco do hydrofobní části se řadí uhlovodíky, vysokomolekulární alkylaminy, vysokomolekulární alkylkarboxykyseliny a aromatické kyseliny, fenoly a huminové látky (Edzwald, 1993b).

### 3. Odstranění AOM

Přítomnost AOM při úpravě vody způsobuje poruchy koagulace dalších znečišťujících příměsí prostřednictvím tvorby rozpustných povrchových komplexů mezi AOM a koagulačními činidly železa a hliníku (Bernhardt a kol., 1985; Šafaříková a kol., 2013), čímž dochází k nárůstu spotřeby koagulačního činidla a zvýšení zákalu a obsahu zbytkového železa či hliníku ve filtrátu (Bernhardt a kol., 1985; Takaara a kol., 2007). Mezi další problémy patří zanášení membrán při membránové filtraci (Qu a kol., 2012; Li a kol., 2014) a snižování účinnosti adsorpce antropogenních mikropolutantů na aktivním uhlí nízkomolekulárními AOM (Hnat'uková a kol., 2011). AOM jsou také potenciálními prekurzory karcinogenních DBPs, zejména trihalogenmetanů a halogenderivátů kyseliny octové vznikajících při desinfekci vody, a tzv. T&O sloučenin (Taste and Odour) (Li a kol., 2012). Kromě toho jsou AOM zdrojem nebezpečných cyanotoxinů (Harada, 2004). Na základě

těchto skutečností, je žádoucí, aby při procesu úpravy vody byly přítomny co nejnižší koncentrace AOM a proces odstranění AOM byl vysoce účinný.

Pro odstranění AOM jsou dostupné konvenční metody úpravy vody zahrnující koagulaci, sedimentaci a pískovou filtraci (Pivokonský a kol., 2009a, b, 2012; de la Cruz a kol., 2011). Jako doplňující kroky se do procesu úpravy vody mohou zařadit předoxidace (Ma a kol., 2012b, Wang a kol., 2013) (viz kapitola 4.2.), adsorpce na aktivním uhlí (Hnatuková a kol., 2011; Zhang a kol., 2011) či membránová filtrace (Nicolaisen, 2003).

### 3.1. Koagulace

Odstranění AOM pomocí konvenčních postupů úpravy vody je málo účinné (Pivokonský a kol., 2009a, b). Účinnost koagulace AOM závisí především na hodnotě pH, typu a dávce koagulačního činidla a také na druhu a růstové fázi organismu (Pivokonský a kol., 2009b; 2012). Ve studii Pivokonský a kol. (2009b), která se zabývala vlivem COM produkovaných sinicí *Microcystis aeruginosa* na úpravu vody, byla maximální dosažená účinnost odstranění COM 46 % při použití síranu železitého a 41 % pomocí síranu hlinitého.

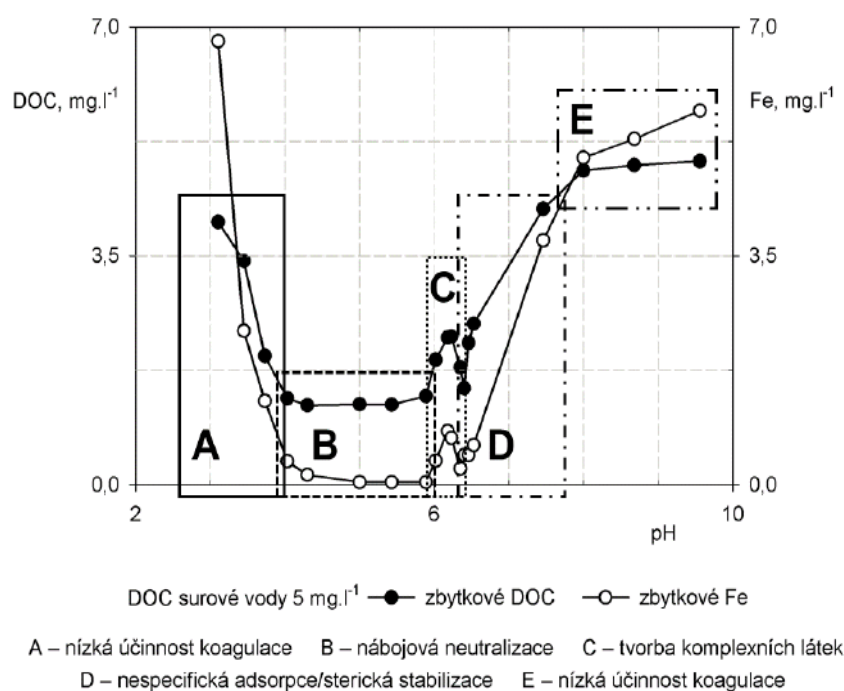
Při koagulaci jsou obecně s vyšší účinností odstraňovány vysokomolekulární látky (Pivokonský a kol., 2009a, b, 2012, 2015; Ma a kol., 2012a; Šafaříková a kol., 2013). Ve studii Šafaříková a kol. (2013) bylo zjištěno, že nízkomolekulární proteiny jsou odstraňovány s nižší účinností než vysokomolekulární proteiny s MW > 10 kDa, které byly při pH 4-5,5 s užitím železitého činidla zcela odstraněny. Podobně ve studii Pivokonský a kol. (2009a) zjistili, že se zvyšující se dávkou síranu železitého jsou lépe odstraňovány vysokomolekulární proteiny. Při dávce 10 mg.l<sup>-1</sup> Fe činila zbytková koncentrace proteinů vyjádřená jako koncentrace rozpuštěného organického uhlíku proteinových látek (DOC<sub>P</sub>) 1,50 mg.l<sup>-1</sup> a zahrnovala proteiny o MW 21, 234, 359, 440, 750 a přibližně 900 kDa. Při navýšení dávky na 20 mg.l<sup>-1</sup> Fe činila zbytková koncentrace DOC<sub>P</sub> 1,07 mg.l<sup>-1</sup>, která byla zastoupena pouze proteiny s MW 21, 234 a 359 kDa. Tato pozorování jsou v souladu i se studií Pivokonský a kol. (2009b), kde proteiny s MW 470 kDa a s MW > 900 kDa pomocí síranu železitého (při dávce 100 mg.l<sup>-1</sup> Fe<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> · 9H<sub>2</sub>O) byly zcela odstraněny. Zatímco u proteinů s MW 234 kDa bylo za stejných podmínek dosaženo 68% účinnosti odstranění a u proteinů s MW 21 kDa byla účinnost odstranění pouze 34 %.

Dále bylo zjištěno, že s vyšší účinností jsou odstraňovány proteinové látky než látky neproteinové povahy (např. polysacharidy) (Pivokonský a kol., 2009b; Ma a kol., 2012a). Účinnost odstranění proteinů a peptidů dosahuje 75 %, oproti tomu odstranění látek neproteinové povahy dosahuje pouze 22% účinnosti (Pivokonský a kol., 2009a). Peptidy a proteiny obsahující řadu funkčních skupin (např. hydroxylové, karboxylové, thiolové, aminové, amidové atd.) mohou nést v závislosti na hodnotě pH (při pH vyšším než je pH izoelektrického bodu daného proteinu) záporný náboj, jenž vede k elektrostatickým interakcím s kladně nabitými produkty hydrolýzy koagulačních činidel kovů (Burns a kol., 1996), díky čemuž je účinnost odstranění vyšší (Pivokonský a kol., 2009a). Naproti tomu organické látky neproteinové povahy jsou odstraňovány s nízkou účinností pravděpodobně v důsledku elektrické neutrality molekul polysacharidů a také díky skutečnosti, že tyto molekuly obsahují velké množství hydroxylových iontů ( $\text{OH}^-$ ), které kolem nich vytvářejí kompaktní hydratační vrstvu (Rinaudo, 2001).

Pro odstranění proteinů jsou pak účinnější železitá koagulační činidla (Pivokonský a kol., 2009b). Ve studii Pivokonský a kol. (2009b) byly zjištěny dávky činidel síranu železitého a hlinitého, při kterých docházelo k maximální účinnosti flokulace proteinů tvořící COM u sinice *Microcystis aeruginosa*. Pro síran železitý byla tato dávka rovna  $100 \text{ mg.l}^{-1}$  ( $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ ), pro síran hlinitý pak  $130 \text{ mg.l}^{-1}$  ( $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$ ). Z počáteční koncentrace COM  $4,12 \text{ mg.l}^{-1}$   $\text{DOC}_P$  činily pak zbytkové koncentrace COM  $1,07 \text{ mg.l}^{-1}$   $\text{DOC}_P$  při užití síranu železitého a  $2,06 \text{ mg.l}^{-1}$   $\text{DOC}_P$  při užití síranu hlinitého. Tato skutečnost je dána pravděpodobně tím, že hydroxid železitý, který je produktem hydrolýzy železitých solí, je oproti hydroxidu hlinitému méně rozpustný a také hydrolyzuje v daleko širším rozsahu hodnot pH (Duan a Gregory, 2003).

Hodnota pH při koagulaci ovlivňuje nejen povrchový náboj peptidů/proteinů, hydroxopolymerů a hydratovaných oxidů kovů, ale také mechanismy jejich interakcí (Obr. 1.). Při odstraňování peptidů/proteinů s užitím síranu železitého dochází při hodnotě  $\text{pH} < 4$  k neúčinné koagulaci. Důvodem je převládající kladný náboj daný protonizovanou aminoskupinou u peptidů/proteinů a výskytem železa ve formě rozpuštěných kladně nabitých kationtových komplexů. Nejúčinnější oblast pro odstranění peptidů/proteinů mechanismem nábojové neutralizace se nachází při použití železitého činidla v oblasti  $\text{pH} 4-6$  (Pivokonský a kol., 2012; Barešová

a kol., 2015). V případě hlinitých činidel se tato oblast pohybuje v hodnotách pH 5 až 6,5 a to díky rozdílné hydrolyze hliníku v závislosti na pH (Šafaříková a kol., 2013). V oblasti hodnot pH 6-6,2 dochází k narušení koagulace v důsledku tvorby rozpustných povrchových komplexů (Pivokonský a kol., 2006; Barešová a kol., 2015), které vznikají interakcí mezi deprotonizovanou karboxylovou skupinou peptidů/proteinů a kladně nabitými Fe-hydroxopolymery či Fe-hydratovanými oxidy/hydroxidy (Bernhardt a kol., 1985). Při hodnotách pH 6,5-8 pak dochází k nespecifické adsorpci (Barešová a kol., 2015). V závislosti na poměru koncentrací peptidů/proteinů a Al/Fe mohou nastat dvě situace. Pokud je poměr peptidů/proteinů a koagulantu nízký, může být koagulace podpořena tvorbou tzv. mezičásticových polymerních můstku, naopak pokud je poměr koncentrací vysoký, dochází k inhibici koagulace prostřednictvím tzv. sterické stabilizace (Bernhardt a kol., 1985; Pivokonský a kol., 2012; Barešová a kol., 2015). Při hodnotách pH > 8 již koagulace téměř neprobíhá vzhledem k převládajícímu negativnímu náboji systému (Barešová a kol., 2015).



**Obrázek 1. Průběh a mechanismy koagulace COM peptidů/proteinů *M. aeruginosa* v závislosti na pH (převzato z Barešová a kol., 2015)**



### 3.2. Adsorpce na aktivním uhlí a membránová filtrace

Jak již bylo uvedeno výše, koagulací jsou s vyšší účinností odstraňovány vysokomolekulární AOM (Pivokonský a kol., 2009b). Pro odstranění nízkomolekulárních látek je pak vhodná adsorpce na aktivním uhlí (AC – Activated Carbon), která může mít granulovanou (GAC – Granular Activated Carbon) či práškovou (PAC – Powdered Activated Carbon) podobu (Dixon a kol., 2011; Hnat'uková a kol., 2011; Zhang a kol., 2011). Důležitými mechanismy uplatňující se při adsorpci AOM jsou elektrostatické interakce a tvorba vodíkových můstků (Hnat'uková a kol., 2011).

Membránová filtrace je další metodou pro úpravu vody. Na základě velikosti pórů se rozlišuje mikrofiltrace (MF), ultrafiltrace (UF), nanofiltrace (NF) a reverzní osmóza (RO) (Nicolaisen, 2003). Užití membránové filtrace pro odstranění AOM má za negativní následek zanášení membrán EOM i IOM. Jako hlavní mechanismy se uplatňují tvorba tzv. koláčové vrstvy, hydrofobní adheze a ucpávání pórů (Qu a kol., 2012; Li a kol., 2014) v závislosti na koncentraci a charakteru AOM (Pivokonský a kol., 2016).

Pro účinnější odstraňování AOM je výhodná kombinace uvedených metod. Ve studii Dixon a kol. (2011) sledovali odstranění buněk, toxinů a jiných AOM pomocí systému koagulace-PAC-UF. Výsledky pro sinici *Anabaena circinalis* ukázaly, že při užití samotné UF bylo dosaženo 35% míry odstranění, zatímco v případech kombinací koagulace-UF a koagulace-PAC-UF se míra odstranění navýšila na 69 % a 71 %, resp. Kromě toho zařazení PAC před UF zmírňuje zanášení membrán (Zhang a kol., 2011).

### 3.3. Odstranění cyanotoxinů

Cyanotoxiny zahrnují převážně nízkomolekulární látky (Sivonen a Jones, 1999), které jsou konvenčními způsoby úpravy vody odstraňovány s nízkou účinností (Šafaříková a kol., 2013; Pivokonský a kol., 2015). Cyanotoxiny jsou uvolňovány do vody převážně jako součást IOM, proto je při úpravě vody žádoucí zabránit lyzi buněk a tím i uvolnění cyanotoxinů (Li a kol., 2012; Merel a kol., 2013). Intracelulární cyanotoxiny lze účinně odstranit konvenční úpravou v rámci odstranění celých buněk fytoplanktonu. Pro zvýšení účinnosti odstranění

extracelulárních cyanotoxinů se využívají doplňující kroky úpravy vody, např. adsorpce na aktivním uhlí, membránová filtrace, chemická a biologická deaktivace zahrnující biologické procesy, užití ultrafialového světla a oxidantů (Westrick a kol., 2010). Tzv. pokročilé oxidační technologie (Advanced Oxidation Technologies – AOTs) využívají antioxidanty, katalyzátory a záření či jejich kombinace pro výrobu vysoce účinných, neselektivních oxidačních radikálů za účelem detoxikace organických sloučenin ve vodách (de la Cruz a kol., 2011). Mezi AOTs řadíme ozonaci, fotochemickou degradaci, fentonovou ( $\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 = \text{Fe}^{3+} + \text{HO}\cdot + \text{OH}^-$ ;  $\text{Fe}^{3+} + \text{H}_2\text{O}_2 = \text{HOO}\cdot + \text{H}^+$ ) a fotofentonovou oxidaci, a sonolýzu (Pantelić a kol., 2013).

Jedním z nejslibnějších AOTs je fotokatalýza s oxidem titaničitým ( $\text{TiO}_2$ ). Tato technologie vedla k úplné degradaci microcystinu a odstranění jeho toxicity pod UV světlem bez produkce nebezpečných látek. Proces je ovlivněn hlavně hodnotou pH, ale také intenzitou UV záření a počáteční koncentrací cyanotoxinu (Xiaogang a kol. 2006; Pantelić a kol., 2013). Ve studii Xiaogang a kol. (2006) bylo zjištěno, že k maximální počáteční rychlosti fotokatalytické degradace dochází při pH 4, kdy z počáteční koncentrace microcystinu-LR (MC-LR)  $20 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  bylo více než 95 % rozloženo během 120 minut pod intenzitou UV záření  $400 \mu\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$ . Za těchto kyselých podmínek byl pozorován exponenciální pokles MC-LR, oproti tomu za alkalických podmínek (pH 8,3) docházelo k značně pomalé počáteční rychlosti degradace.

#### 4. Odstraňování buněk

Buňky fytoplanktonu jsou obvykle odstraňovány pomocí schématu: předoxidace; koagulace a flokulace; flotace rozpuštěným vzduchem (DAF – Dissolved Air Flotation) nebo sedimentace a filtrace. Na procesy úpravy vody může mít vliv i morfologie buněk fytoplanktonu (konkrétně velikost, tvar a přívěsky), dále jejich pohyblivost, povrchový náboj, hustota buněk, případně složení a koncentrace EOM. Na jednotlivé procesy úpravy vody mají vliv různé vlastnosti buněk, viz Tab. 1. (Henderson a kol., 2008a). Nicméně klíčovým procesem pro odstranění buněk fytoplanktonu je koagulace (Henderson a kol., 2008a; Gonzales-Torres a kol., 2014), která je však citlivá na změny téměř všech výše uvedených vlastností buněk.

**Tabulka 1. Vliv vlastností buněk na procesy úpravy vody (Henderson a kol., 2008a)**

<b>Krok úpravy vody</b>	<b>Charakteristika buňky</b>
Předoxidace	žádný jednoznačný vztah
Koagulace/Flokulace	morfologie, pohyblivost, EOM, povrchový náboj
Sedimentace	morfologie, pohyblivost, hustota
Flotace (DAF)	morfologie, pohyblivost
Filtrace	morfologie, pohyblivost

Na účinnost koagulace mohou mít výrazný vliv konkrétní druhy sinic a řas a proto je důležité určit druhy fytoplanktonu vyskytující se v surové vodě (Bernhardt a Clasen, 1991; Aktas a kol., 2012). Podle studie Bernhardt a Clasen (1991) je odstranění buněk pomocí nábojové neutralizace, která je hlavním mechanismem koagulačního procesu, možné pouze za předpokladu, že buňky mají kulovitý tvar bez přívěšků. Proces nábojové neutralizace může být totiž narušován v důsledku stérické stabilizace (Bernhardt a Clasen, 1991; Edzwald, 1993a), při které jsou díky výskytu určitých morfologií buněk vyloučeny elektrostatické interakce či tvorba mezičásticových můstků, jako například u vláknité sinice *Oscillatoria rubescens*, jejíž vlákna mohou dosahovat až několika milimetrů a přesahují tak velikost vloček hydroxidů kovů. Jako jiný příklad může být uvedena rozsivka *Stephanodiscus hantzschii*, která má na povrchu svých buněk trny dosahující délky až 40 μm a v důsledku toho se její buňky nemohou k sobě dostatečně přiblížit, aby se mohly vytvořit mezičásticové můstky. U takovýchto problematických případů se zdá být vhodné dávkovat takové množství koagulačního činidla, aby se vytvořily dostatečně velké vločky hydroxidů kovů, ve kterých se mohou tyto buňky zachytit – mechanismus tzv. "sweep coagulation" (Bernhardt a Clasen, 1991). Avšak je nutné poznamenat, že ve studii Bernhardt a Clasen (1991) následovala po koagulačním procesu přímá filtrace, která je náchylná k zanášení těmito buňkami, zatímco DAF není takto limitována a je schopna odstranit buňky bez ohledu na jejich morfologii (Henderson a kol., 2008c).

Další problém při koagulačním procesu představují pohyblivé organismy, především malé řasy jako jsou Cryptomonadae (rody *Cryptomonas* a *Rhomonodas*). Tyto organismy se mohou snadno odtrhnout od již vzniklých vloček, proto pro zlepšení flokulace a separace vloček je žádoucí zabránit jejich pohybu (Bernhardt a Clasen, 1991). Pro inaktivaci pohybu a tím i usnadnění koagulace je doporučována

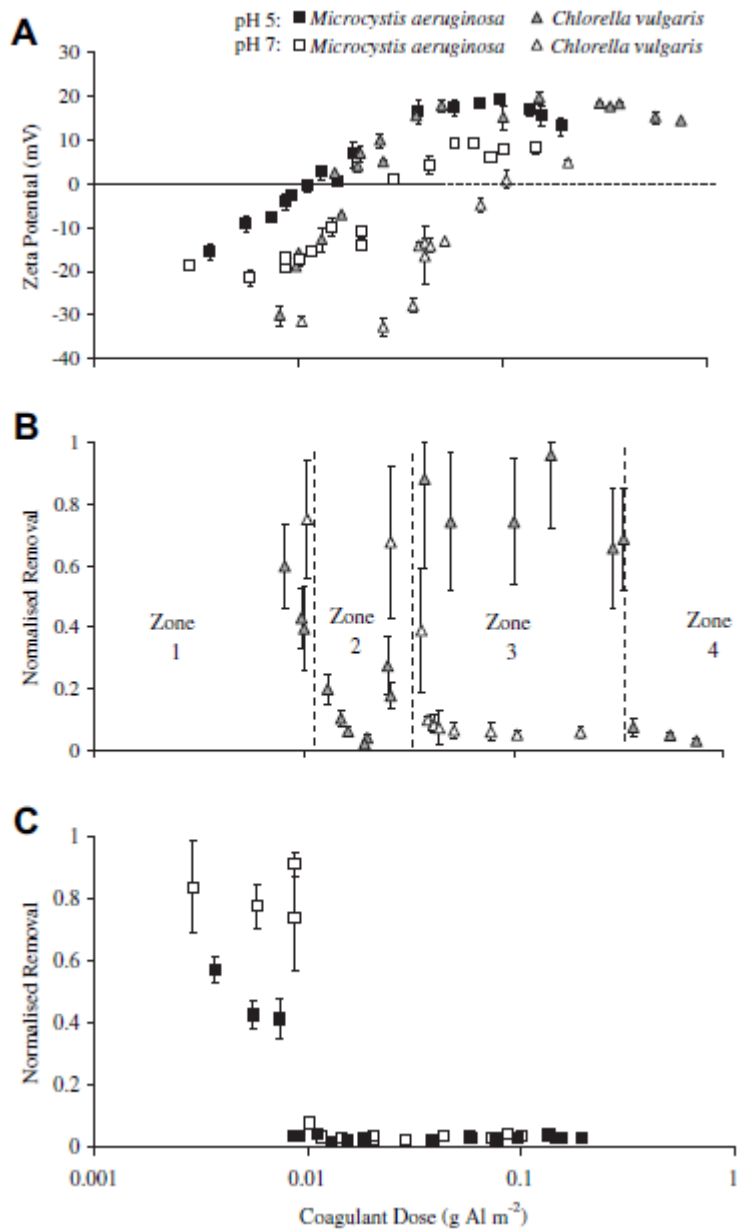
předoxidace (Petruševski a kol., 1996; Steynberg a kol., 1996), viz kapitola 4.2. Pozitivní průběh koagulace může nastat naopak u řas, jejichž buňky produkují látky gelové povahy, jako jsou především polysacharidy, pektiny, lipoproteiny a polyaminové kyseliny adsorbované na jejich buněčné stěně, které za určitých podmínek mohou sloužit jako pomocné koagulační činidlo (Bernhardt a Clasen, 1991).

Význam vlivu konkrétních druhů fytoplanktonu na účinnost koagulace popsali i ve studii Aktas a kol. (2012), kde pozorovali odstraňování buněk sinice *Microcystis aeruginosa*, pikosinice *Synechococcus* sp. a řasy *Chlorella vulgaris* pomocí kombinace koagulace-sedimentace. Bylo zjištěno, že *Microcystis aeruginosa* a *Chlorella vulgaris* byly odstraněny s vyšší účinností (98,9 % a 90,6 %, resp.) než *Synechococcus* sp., kde byla účinnost odstranění pouze 55,7 %. Nižší účinnost odstranění *Synechococcus* sp. je přičítána malé velikosti buněk, díky které při kagulaci vznikají malé nesedimentující vločky, které tak přispívají i ke zbytkovému zákalu vody. Nicméně v případě pokusu o odstranění této pikosinice společně se zbývajícími druhy, mohly její malé vločky uvíznout mezi masivními vločkami vytvořenými *Microcystis aeruginosa* a *Chlorella vulgaris*, což přispělo jak k odstranění buněk *Synechococcus* sp. tak ke snížení zbytkového zákalu.

Na základě výsledků studie Bernhardt a Clasen (1991), kde byl zdůrazněn vliv morfologie buněk pro průběh koagulace, se někteří autoři zaměřili na vliv dávky koagulačního činidla potřebné pro destabilizaci buněk v závislosti na různých vlastnostech buněk (Henderson a kol., 2008a; Aktas a kol., 2012). Ve studii Henderson a kol. (2008a) pozorovali vztah mezi plochou povrchu buňky a dávkou koagulačního činidla, přičemž pro buňky s malou plochou povrchu byly potřeba velmi nízké dávky koagulačního činidla a naopak. Avšak toto pozorování nebylo v souladu s výsledky studie Aktas a kol. (2012), kde i přes větší plochu povrchu buňky, sinice *Microcystis aeruginosa* (plocha povrchu buňky = 95  $\mu\text{m}^2$ ) vyžadovala pro neutralizaci náboje relativně nízké dávky koagulačního činidla. Při pH 6,5 činila dávka 100  $\text{mg.l}^{-1}$  polyaluminiumchloridu (PACl), při pH 7 činila dávka 400  $\text{mg.l}^{-1}$  PACl a bylo dosaženo 98,9% a 95,1% účinnosti odstranění buněk v daném pořadí. Oproti tomu pro 90,6% a 80,4% odstranění řasy *Chlorella vulgaris* (plocha buňky = 50  $\mu\text{m}^2$ ) bylo potřeba 200  $\text{mg.l}^{-1}$  (pH 6,5) a 300  $\text{mg.l}^{-1}$  (pH 7) PACl v daném pořadí. Rozdíly v těchto výsledcích mohou být vysvětleny inhibičním působením

přítomných AOM. Celkově lze říci, že plocha povrchu buňky může být použita pro predikci přibližné dávky koagulačního činidla, avšak reálná dávka bude ovlivněna složením a koncentrací AOM (Henderson a kol., 2008a; Aktas a kol., 2012). Proto se zdá být vhodnějším parametrem pro odhad potřebné dávky koagulačního činidla nábojová hustota buňky. Vztah mezi dávkou koagulačního činidla a hustotou náboje se zdá být silnější díky tomu, že je zde brán v úvahu i obsah AOM, které například u řasy *Chlorella vulgaris* přispívají k celkovému náboji systému z 84 % (Henderson a kol., 2010). Povrchy buněk řas a sinic mají záporný náboj v důsledku disociace, ionizace povrchových funkčních skupin či adsorpce iontů pocházejících z organického materiálu. Povrchový náboj buněk lze vyjádřit jako zeta potenciál buněk (Edzwald a kol., 1993b; Gregory, 2006). Zeta potenciál je mírou elektrokinetického potenciálu na pohybovém rozhraní elektrické dvojvrstvy. Toto rozhraní tvoří hranici mezi nabitým povrchem částice s adsorbovanými protionty, tj. Sternovou vrstvou a difúzní vrstvou. Zeta potenciál nám proto umožňuje měření zdánlivého povrchového náboje částice (Adamson a Gast, 1997). Při snížení negativního zeta potenciálu dochází ke snížení odpuzivých elektrostatických sil a může tak docházet k destabilizaci částic a jejich následnému odstranění (Edzwald a kol., 1993b; Gregory, 2006).

Zeta potenciál je ovlivňován dávkou koagulantu (Henderson a kol., 2010; Aktas a kol., 2012). Ve studii Henderson a kol. (2010) objevili 4 zóny koagulace u řasy *Chlorella vulgaris* při pH 5 s použitím síranu hlinitého (Obr. 2). V zóně 1. nebylo pozorováno žádné odstranění buněk při nízkých dávkách. Zóna 2. představovala počáteční oblast odstraňování při nízké dávce ( $0,0195 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2} \text{ Al}$ ), jež se shodovala se snížením velikosti zeta potenciálu na +3,8 mV. V zóně 3. došlo k restabilizaci systému, kdy hodnoty zeta potenciálu byly vysoce pozitivní (+15 mV). Poslední 4. zóna představovala druhou oblast odstraňování při vysokých dávkách činidla. Takový sled zón je běžně pozorován u organických i anorganických systémů při pH 5, kde 2. zóna odpovídá mechanismu neutralizace náboje, zatímco odstraňování v 4. zóně je přičítáno mechanismu "sweep coagulation" (Duan a Gregory, 2003). Aktas a kol. (2012) nepozorovali zónu restabilizace při koagulaci buněk sinice *Microcystis aeruginosa*, podobně jako Henderson a kol. (2010) (Obr. 2.), kde tato absence restabilizace byla přičítána vlivu AOM obsahujících biopolymery, které mohou působit jako pomocné koagulační činidlo, viz kapitola 5.



Obrázek 2. Vliv dávky koagulačního činidla vztahované na plochu buněk při pH 5 a 7 na A) zeta potenciál buněk, B) normalizovanou míru odstranění buněk *C. vulgaris* a C) *M. aeruginosa* (převzato z Henderson a kol., 2010)

Kromě dávky koagulačního činidla je hodnota zeta potenciálu ovlivňována i hodnotou pH (Aktas a kol., 2012; Procházková a kol., 2015). Buňky fytoplanktonu jsou obecně záporně nabité, Procházková a kol. (2015) u řasy *Chlorella vulgaris* zaznamenali v rozsahu pH 3-12 negativní zeta potenciál nabývající hodnot -28 mV při pH 4 a -21 mV při pH 7. V průběhu koagulace pak dochází k potlačování tohoto negativního zeta potenciálu. Ve studii Aktas a kol. (2012) bylo u druhů *Microcystis aeruginosa*, *Chlorella vulgaris*, *Synechococcus* sp. dokázáno, že rozmezí

optimálního zeta potenciálu pro odstranění buněk je při pH 7 užší, než při pH 6,5. Například pro sinici *Microcystis aeruginosa* bylo toto rozmezí při pH 6,5 -2,1 až +20,45 mV, při pH 7 pak +13,88 až +23,14 mV (za použití 0-500 mg.l<sup>-1</sup> PACl) a pro řasu *Chlorella vulgaris* bylo rozmezí +3,45 až +8,71 mV (pH 6,5), +7,2 až +13,2 mV (pH 7) za stejných podmínek. Jiného výsledku dosáhli Henderson a kol. (2008c) při užití hlinitého koagulačního činidla, kde pro řasu *Chlorella vulgaris* bylo optimální rozmezí zeta potenciálu užší při hodnotě pH 5, než při hodnotě pH 7. Při pH 7 bylo optimalizované odstranění pozorováno dokonce při zeta potenciálu -16,8 mV, zatímco při pH 5 bylo pouze 60 % buněk odstraněno při zeta potenciálu -6,1. To může být vysvětleno skutečností, že při pH 7 jsou přítomny vysoké koncentrace vysráženého amorfního hydroxidu hliníku a nízké koncentrace rozpuštěných kationtových produktů hydrolýzy hliníku (Duan a Gregory, 2003). Sraženiny se podílejí na odstraňování hlavně při "sweep coagulation", zatímco rozpuštěné produkty hydrolýzy jsou důležité při nábojové neutralizaci, což naznačuje, že při pH 7 je vysoká míra odstranění pozorovaná při relativně vysokých záporných hodnotách zeta potenciálu (-16,8 až -13,4 mV) důsledkem nejen nábojové neutralizace, ale i mechanismů uplatňujících se při "sweep coagulation" (Henderson a kol., 2008c). Obecně lze říci, že zeta potenciál je vhodným parametrem pro studování a řízení koagulačních procesů (Henderson a kol., 2006, 2008c, 2010; Aktas a kol., 2012). Henderson a kol. (2008c) ve své studii zabývající se koagulací a flotací druhů *Asterionella formosa*, *Melosira* sp., *Microcystis aeruginosa* a *Chlorella vulgaris* uvedli, že optimální účinnosti odstranění buněk i EOM bylo dosaženo při udržování zeta potenciálu mezi hodnotami -10 až +2 mV, nezávisle na tom, zda rozpětí potenciálu bylo upraveno změnou pH, dávkou koagulačního činidla či kombinací obojího. Navíc toto rozpětí zeta potenciálu je velmi blízké pro účinné odstranění NOM a kaolínu (Henderson a kol., 2006, 2008c).

Ze závěrů studie Gonzalez-Torres a kol. (2014) vyplývá, že na účinnost koagulace buněk má vliv i typ použitého koagulačního činidla. Vyšší účinnosti odstranění buněk u sinice *Microcystis aeruginosa* bylo dosaženo při použití železitého činidla (98,6-99,6 %), než při použití hlinitého činidla (95,9-97,6 %). Kromě toho vločky produkované za použití železitého činidla rostly rychleji, byly větší a pevnější. Rychlost růstu vloček při užití hlinitého činidla byla v rozmezí od 77 do 118  $\mu\text{m}\cdot\text{min}^{-1}$ , zatímco při užití železitého činidla se rychlost růstu pohybovala mezi

156 až 370  $\mu\text{m}\cdot\text{min}^{-1}$ , přičemž ustáleného stavu velikosti vloček bylo dosaženo pro hlinité činidlo mezi 5 až 15 minutami a pro železité činidlo mezi 3 a 5 minutami. Zajímavé je, že všechny vločky vytvořené v této studii pomocí železitého koagulačního činidla byly větší v porovnání s NOM vločkami vytvořenými pomocí síranu železitého a hlinitého (Jarvis a kol., 2005; Henderson a kol., 2006), což poukazuje opět na možný vliv vysokomolekulární proteinové složky AOM na koagulaci (Henderson a kol., 2010).

#### 4.1. Flotace rozpuštěným vzduchem (DAF) a sedimentace

Po koagulačním procesu může být upravovaná voda přivedena přímo na pískový filtr, nicméně z důvodu citlivosti filtračního procesu na charakter fytoplanktonu se na úpravách vody před filtrací zařazuje sedimentace nebo DAF (Henderson a kol., 2008a). Pro sedimentaci i DAF je klíčová vysoká účinnost koagulace (Edzwald, 1993a; Henderson a kol., 2008a, c). Pro vytvoření pevné vazby mezi částicí a bublinkou vzduchu a tím zajištění efektivní flotace, je nutná destabilizace částic, tedy aby částice vykazovaly hydrofobní charakter či nízký nebo nulový povrchový náboj (Edzwald, 1993a) odpovídající hodnotám zeta potenciálu přibližně v rozmezí -10 až +2 mV (Henderson a kol., 2008c).

Podle některých studií poskytuje vyšší účinnost separace zkoagulovaných buněk DAF (Teixeira a Rosa, 2007; Henderson a kol., 2008a; Kwak a Kim, 2015). Kwak a Kim (2015) uvádí, že sedimentace je schopna odstranit 70 až 80 % buněk, zatímco DAF je schopna odstranit více než 90 % buněk. Podle Henderson a kol. (2008a) je pomocí DAF možno dosáhnout dokonce až 99,8% účinnosti odstranění. Výhodou DAF oproti sedimentaci je schopnost odstranit i buňky s nízkou hustotou (Edzwald, 1993a) a tím i málo vyvinuté vločky (Teixeira a Rosa, 2007).

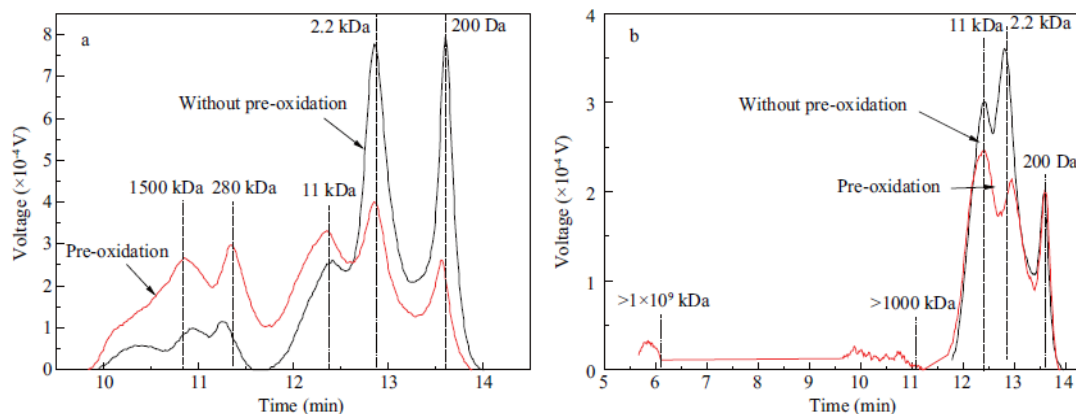
#### 4.2. Předoxidace

Pro zvýšení účinnosti koagulace buněk fytoplanktonu a AOM je možné do procesu úpravy vody zařadit krok předoxidace (Sukeník a kol., 1987; Ma a Liu., 2002; Henderson a kol., 2008a; Ma a kol., 2012b, Wang a kol., 2013). Jako oxidační činidla se v praxi užívají  $\text{Cl}_2$ ,  $\text{ClO}_2$ ,  $\text{O}_3$ ,  $\text{KMnO}_4$  a  $\text{K}_2\text{FeO}_4$  (Sukeník a kol., 1987; Henderson a kol., 2008a; Ma a kol., 2012a, b). Zvýšení účinnosti odstraňování buněk a AOM předoxidací je přičítáno změně vnější stavby buněk (prokázáno



např. na *Scenedesmus*) (Ma a Liu., 2002), zabránění pohybu organismů (např. *Rhodomonas minuta*, *Cryptomonas* sp., *Euglena* sp.) (Petruševski a kol., 1996; Steynberg a kol., 1996), vylučování biopolymerů, které mohou sloužit jako pomocné koagulační činidlo, např. chitinu, který obsahuje fibril rozsivek *Cyclotella* a *Stephanodiscus hantzschii* (Petruševski a kol., 1996) a dále degradaci EOM (Wang a kol., 2013).

Nicméně předoxidace přináší i svá negativa. Se zvyšující se dávkou oxidačního činidla je pozorováno narušování buněčných membrán a tím uvolňování COM (Sukenik a kol., 1987; Ma a kol., 2006; Wang a kol., 2013). Ve studii Wang a kol. (2013) pozorovali vliv předoxidace  $\text{KMnO}_4$  na koagulaci sinice *Microcystis aeruginosa* pomocí koagulačního činidla  $\text{PACl}$ . Ve stacionární růstové fázi bylo EOM tvořeno látkami o MW 200 Da, 2,2 kDa, 11 kDa, 280 kDa a 1500 kDa. Po předoxidaci s  $2 \text{ mg.l}^{-1} \text{ KMnO}_4$  se relativní množství frakcí s MW 200 Da a 2,2 kDa snížilo z 27,6 % a 42,1 % v uvedeném pořadí, na 18,6 % a 19,9 %. Tento pokles může být dán oxidací těchto nízkomolekulárních látek a jejich rozkladem na oxid uhličitý. Avšak relativní množství frakcí s MW 11 kDa, 280 kDa a 1500 kDa se podstatně zvýšilo a to zejména u frakce s MW 280 kDa, u které došlo k navýšení z 5,3 % na 21,8 % (Obr. 3.). Tento jev může být důsledkem poškození řas doprovázeného únikem vysokomolekulárních COM. Při nižších koncentracích tyto vysokomolekulární sloučeniny mohou napomáhat koagulaci prostřednictvím tvorby mezičásticových polymerních můstků (Bernhardt a kol., 1985; Pivokonský a kol., 2006). Avšak při vyšších dávkách oxidačního činidla může dojít až k lyzi buněk a tím uvolnění velkého množství COM (Ma a kol., 2012a, b; Xie a kol., 2013), čímž naopak dochází k inhibici koagulace (Bernhardt a kol., 1985). Ve studii Wang a kol. (2013) tato vysoká koncentrace představovala  $6 \text{ mg.l}^{-1} \text{ KMnO}_4$ , kdy bylo pozorováno zjevné roztržení na povrchu buňky a výskyt sloučenin s MW > 200 kDa a dokonce i vyšší než  $1 \times 10^9 \text{ kDa}$  (Obr. 3.). Rozklad vysokomolekulárních látek na nízkomolekulární (Ma a kol., 2006, 2012a; Xie a kol., 2013) přináší jejich nižší účinnost koagulace (Ma a kol., 2012a; Šafaříková a kol., 2013; Pivokonský a kol., 2015). Předoxidace tak přispívá ke zvýšení zbytkových koncentrací organických látek a tím i k nárůstu prekurzorů DBPs a T&O sloučenin (Li a kol., 2012; Xie a kol., 2013).

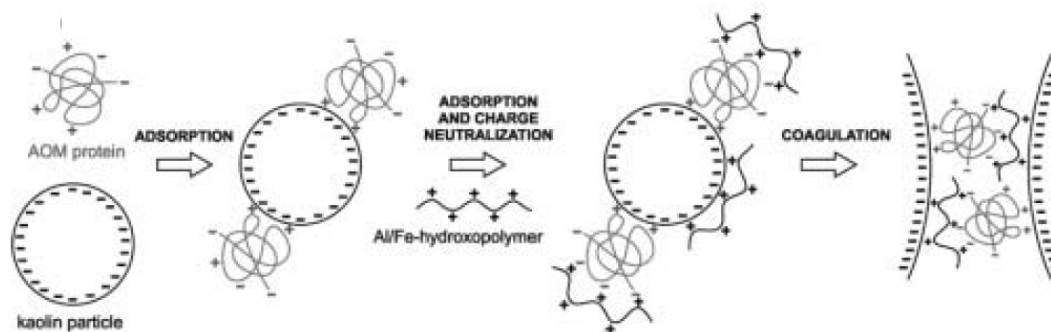


**Obrázek 3. Distribuce molekulových hmotností EOM před a po předoxidaci 2 mg l<sup>-1</sup> (a) nebo 6 mg l<sup>-1</sup> (b) KMnO<sub>4</sub> (převzato z Wang a kol., 2013)**

Při předoxidaci chlorem nebo oxidem chloričitým se pak mohou přímo tvořit nežádoucí DBPs, zejména trihalogenmetany a halogenderiváty kyseliny octové (Henderson a kol., 2008a; Zhou a kol., 2014). Jako účinnější oxidační činidla jsou proto vhodné O<sub>3</sub> a KMnO<sub>4</sub>, které jsou široce používány při úpravě vody (Xie a kol., 2013). Xie a kol. (2013) uvádí, že míra odstranění buněk *Microcystis aeruginosa* se po předoxidaci zvýšila o více než 15 %. Po předoxidaci KMnO<sub>4</sub> bylo toto navýšení z 56,7 % na více než 72,8 %, přičemž nejvyšší míra odstraňování byla 78,0 % při dávce 1,0 mg.l<sup>-1</sup> KMnO<sub>4</sub> a po předoxidaci ozonem z 56,7 % na 78 %, s nejvyšší mírou odstraňování 80,2 % při dávce 2,0 mg.l<sup>-1</sup> O<sub>3</sub>. Avšak pro zvýšení účinnosti koagulace buněk fytoplanktonu a AOM předoxidací je vhodnější užít KMnO<sub>4</sub> (Chen a kol., 2009; Ma a kol., 2012b; Xie a kol., 2013). Ve studii Xie a kol. (2013) nepozorovali žádné změny v počtu živých buněk sinice *Microcystis aeruginosa* po 10 minutách oxidace 0,4 až 2,0 mg.l<sup>-1</sup> KMnO<sub>4</sub>. Naopak po 10 minutách oxidace 0,4 až 2,0 mg.l<sup>-1</sup> ozonu bylo pozorováno vážné poškození buněk, kdy po nízké dávce 0,4 mg.l<sup>-1</sup> ozonu zůstalo méně než 2 % celých buněk. Předoxidace s užitím KMnO<sub>4</sub> dále zvyšuje míru odstraňování buněk přítomností MnO<sub>2</sub>, který je produktem redukce KMnO<sub>4</sub> a může se chovat jako pomocné koagulační činidlo (Petruševski a kol., 1996; Chen a Yeh, 2005; Chen a kol., 2009). Chen a Yeh (2005) pomocí skenovacího elektronového mikroskopu (SEM) zjistili, že MnO<sub>2</sub> se adsorbuje na povrchu buněk, zvyšuje tak jejich specifickou hmotnost a tím i následnou sedimentaci vloček.

## 5. Vliv AOM na koagulaci buněk

Různé složení a koncentrace AOM mohou ovlivňovat dávku koagulačního činidla působením na povrchový náboj buněk (Bernhardt a kol., 1985), tvorbou povrchových komplexů s koagulačními činidly Al/Fe (Šafaříková a kol., 2013), či rušením průběhu koagulace prostřednictvím stérické stabilizace (Bernhardt a kol., 1985; Bernhardt a Clasen, 1991). Na základě několika studií je však patrné, že AOM mohou mít negativní ale i pozitivní vliv na průběh koagulace (Bernhardt a kol., 1985; Takaara a kol., 2007; Henderson a kol., 2010; Ma a kol., 2012a, b; Šafaříková a kol., 2013; Pivokonský a kol., 2015). Bernhardt a kol. (1985) a Šafaříková a kol. (2013) se zabývali vlivem AOM na koagulaci anorganických částic (křemen či kaolín). Bernhardt a kol. (1985) uvádí, že polysacharidy, které jsou součástí EOM, se mohou při nízkých koncentracích ( $< 1\text{-}2 \text{ mg.l}^{-1}$  DOC) chovat jako aniontové polyelektrolyty a napomáhat aglomeraci křemenných částic tvorbou mezičásticových polymerních můstků. Ve studii Šafaříková a kol. (2013) pozorovali vliv COM peptidů/proteinů sinice *Microcystis aeruginosa* na koagulaci částic kaolínu. Došli k závěru, že při pH 4-6 pro železité a při pH 5-6,5 pro hlinité koagulační činidlo mají COM peptidy/proteiny pozitivní vliv na koagulaci kaolínových částic. Peptidy/proteiny vykazující amfoterní charakter, mohou v uvedeném rozsahu pH díky přítomnosti kladně nabitých  $-\text{NH}_3^+$  a  $-\text{NH}_2^+$  i záporně nabitých  $-\text{COO}^-$  skupin interagovat s negativně nabitými kaolínovými částicemi. Kladně nabité hydroxopolymery Al/Fe pak mohou elektrostaticky interagovat se zápornými  $-\text{COO}^-$  skupinami peptidů/proteinů navázanými na částicích kaolínu a zároveň se samotnými záporně nabitými částicemi kaolínu, čímž dochází k tvorbě již zmiňovaných mezičásticových polymerních můstků (Obr. 4.). Naopak při vyšších hodnotách pH nesly peptidy/proteiny vázané na kaolínových částicích více záporně nabitých  $-\text{COO}^-$  skupin, čímž docházelo ke zvýšení negativní hustoty náboje, stabilizaci kaolínových částic a v důsledku toho ke značnému ztížení procesu destabilizace, kdy je třeba dávkovat vyšší množství koagulačního činidla (Bernhardt a kol., 1985).



**Obrázek 4. Mechanismus vzniku mezičásticových polymerních můstků vedoucí ke koagulaci (pH 5-6,5 pro Al-čínidlo a 4-6 pro Fe-čínidlo) (Pivokonský a kol., 2016)**

U buněk fytoplanktonu nesoucích rovněž záporný povrchový náboj (Edzwald a kol., 1993b; Gregory, 2006; Cheng a kol., 2010) lze tedy předpokládat, že by vysokomolekulární AOM mohly rovněž působit jako pomocné koagulační činidlo a zvyšovat účinnost koagulace buněk tvorbou mezičásticových polymerních můstků. Tento pozitivní vliv vysokomolekulárních EOM i COM na průběh koagulace buněk popsaly následující studie (Henderson a kol., 2010; Ma a kol., 2012a; Pranowo a kol., 2013; Wang a kol., 2013). Ve studii Pranowo a kol. (2013) po předoxidaci buněk *Chlorella* sp. pomocí  $O_3/H_2O_2$  pozorovali, že při užití chitosanu byly vytvořeny mnohem větší vločky (střední velikost v rozmezí 554,9 až 863,7  $\mu m$ ), než při užití PACl (střední velikost v rozmezí od 27,7 do 37,4  $\mu m$ ). To lze vysvětlit lepší schopností chitosanu tvořit mezičásticové polymerní můstky než PACl a také jeho vyšší hustotou náboje a molekulovou hmotností. Nicméně je velmi pravděpodobné, že k procesu flokulace přispěly EOM/IOM (Pranowo a kol., 2013). Dále se uvádí, že proces flokulace může být výrazně podpořen prostřednictvím tvorby komplexu mezi opačně nabitými polymery (Fan a kol., 2000; Lee a Liu, 2000), např. ve studii Pranowo a kol. (2013) tvorbou komplexu mezi kladně nabitým chitosanem a záporně nabitými proteiny či neutrálními sacharidy obsaženými v IOM.

Tvorba větších vloček pomocí AOM při odstraňování buněk byla pozorována i v dalších studiích (Henderson a kol., 2006; Gonzalez-Torres a kol., 2014). Henderson a kol. (2006) se zabývali koagulací NOM, buněk řasy *Chlorella vulgaris* a kaolínových částic. Zjistili, že vločky buněk *Chlorella vulgaris* vytvořené pomocí hlinitého koagulačního činidla při pH 5 dosahovaly větších velikostí, avšak rostly pomaleji a byly křehčí ve srovnání s vločkami NOM a kaolínových částic. Také ve studii Gonzalez-Torres a kol. (2014) bylo pomocí železitého koagulačního činidla

dosaženo větších vloček řas oproti vločkám NOM, získaných v jiných studiích (Jarvis a kol., 2005; Henderson a kol., 2006). Srovnání je uvedeno v Tab. 2.

**Tabulka 2. Vlastnosti vloček vyprodukovaných za různých podmínek koagulace (převzato z Gonzalez-Torres a kol., 2014)**

Typ vločky	Koagulační činidlo	pH	CN/SF	Ustálená velikost vločky (μm)	Faktor pevnosti (%) <sup>a</sup>
<i>M. aeruginosa</i> (1)	Al <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	6	CN	492 ± 21	25
<i>M. aeruginosa</i> (1)	Al <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	6	SF	661 ± 61	41
<i>M. aeruginosa</i> (1)	FeCl <sub>3</sub>	6	CN	871 ± 49	25
<i>M. aeruginosa</i> (1)	FeCl <sub>3</sub>	6	SF	935 ± 39	72
<i>C. vulgaris</i> (2)	Al <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	5	CN	800	12,5
Kaolín (2)	Al <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	7	SF	600	33
NOM (2)	Al <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	5,5		500	80
NOM (3)	Al <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	5,5-6,5		400	40-56
NOM (3)	Fe <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	4,5		700	40-64

(1) Gonzalez-Torres a kol. (2014); (2) Henderson a kol. (2006); (3) Jarvis a kol. (2005)

CN - nábojová neutralizace

SF - "sweep coagulation"

<sup>a</sup> Pro smykovou rychlost 200 rpm

Pozitivní vliv AOM na koagulaci buněk byl také pozorován ve studii Henderson a kol. (2010). V této studii pozorovali 4 oblasti v průběhu koagulace u buněk řasy *Chlorella vulgaris* při pH 5 s použitím síranu hlinitého (viz kapitola 4.), přičemž zjistili, že v případě koagulace buněk sinice *Microcystis aeruginosa* nebyla pozorována oblast restabilizace, jako v případě řasy *Chlorella vulgaris*. Kromě toho na rozdíl od řasy *Chlorella vulgaris*, byla u sinice *Microcystis aeruginosa* potřeba nižší dávka koagulačního činidla (0,0087 g.m<sup>-2</sup> Al) k dosažení dobrého odstranění odpovídající zeta potenciálu -4,2 mV. Tento jev je opět přičítán skutečnosti, že při pH 5 jsou vysokomolekulární AOM částečně deprotonizovány a mohou sloužit k tvorbě mezičásticových polymerních můstků (Bernhardt a kol., 1985). Absence restabilizační oblasti u *Microcystis aruginosa* byla přičítána vysokému obsahu vysokomolekulární složky AOM (> 500 kDa), která tvořila přibližně 45 % oproti *Chlorella vulgaris*, kde tato složka zaujímalala přibližně 5 % (Henderson a kol., 2008b).

## 6. Závěr

Z předkládané literární rešerše vyplývají tyto závěry:

- Klíčovým procesem pro odstranění buněk fytoplanktonu je koagulace, jejíž účinnost je však značně ovlivněna různými vlastnostmi buněk.
- Vhodným parametrem pro řízení koagulace je zeta potenciál. Zeta potenciál je ovlivňován hodnotou pH a dávkou koagulačního činidla, avšak z dostupné literatury vyplývá, že optimální účinnosti odstranění buněk i EOM je dosaženo při udržování zeta potenciálu mezi hodnotami -10 až +2 mV.
- Vliv AOM na koagulaci buněk fytoplanktonu může být negativní i pozitivní v závislosti na jejich složení a koncentraci, na druhu a růstové fázi mikroorganismu a celkovém náboji v systému. Inhibice koagulace je způsobena vyššími koncentracemi AOM, zejména prostřednictvím tvorby povrchových komplexů s Al/Fe koagulačními činidly či rušením průběhu koagulace v důsledku stérické stabilizace. Pozitivní vliv na koagulaci pak vykazuje vysokomolekulární složka AOM (proteiny), která v nízkých koncentracích a v určitém rozmezí pH (4-6 pro Fe-činidla a 5-6,5 pro Al-činidla) může napomáhat koagulaci tvorbou mezičásticových polymerních můstků.
- Pro zvýšení účinnosti koagulace buněk je doporučována předoxidace. Nicméně dávka oxidačního činidla musí být přiměřená, aby docházelo k uvolňování pouze nízkých koncentrací COM, které mohou napomáhat koagulaci a nedocházelo k významnějšímu porušení buněk, uvolnění velkého množství COM a tím k inhibici koagulace.
- Pro účinné odstranění buněk fytoplanktonu při úpravě vody je doporučována dvoustupňová separace suspenze s užitím DAF, která je oproti sedimentaci méně ovlivnitelná vlastnostmi buněk a je schopna dosáhnout až jejich 99,8% odstranění. Tato inovace ovšem přináší vysoké počáteční investice, provozní náklady i komplikovanou obsluhu.
- Vliv AOM jako bioflokulantu nebyl doposud zcela objasněn a v této oblasti je zapotřebí další výzkum.

- Z výše uvedeného vyplývá, že konvenční postup úpravy pitné vody zahrnující koagulaci za použití Al/Fe solí následovanou sedimentací a filtraceí proto zůstává cenově nejefektivnější metodou úpravy vody s obsahem fytoplanktonu. Její optimalizace je proto zcela nezbytná.

## 7. Seznam použitých zkratek

AC (Activated Carbon) – aktivní uhlí

AMK – aminokyselina

AOC (Assimilable Organic Carbon) – asimilovatelný organický uhlík

AOM (Algal Organic Matter) – organické látky produkované fytoplanktonem

AOTs (Advanced Oxidation Technologies) – pokročilé oxidační technologie

COM (Cellular Organic Matter) – celulární organické látky

DAF (Dissolved Air Flotation) – flotace rozpuštěným vzduchem

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

DOC (Dissolved Organic Carbon) – rozpuštěný organický uhlík

DOC<sub>P</sub> – rozpuštěný organický uhlík proteinových látek

EOM (Extracellular Organic Matter) – extracelulární organické látky

GAC (Granular Activated Carbon) – granulované aktivní uhlí

IOM (Intracellular Organic Matter) – intracelulární organické látky

LPS – lipopolysacharidy

MC-LR – microcystin-LR (L – leucin, R – arginin)

MF – mikrofiltrace

MW (Molecular Weight) – molekulová hmotnost

NF – nanofiltrace

NOM (Natural Organic Matter) – přírodní organické látky

PAC (Powdered Activated Carbon) – práškové aktivní uhlí

PACl – polyaluminiumchlorid

POM (Particulate Organic Matter) – nerozpuštěné organické látky

RO – reverzní osmóza

SEM – skenovací elektronový mikroskop



SOM (Surface-bonded/Surface-retained Organic Matter) – organické látky vázané na povrchu buněk

T&O (Taste and Odour Compounds) – sloučeniny způsobující nepříjemný zápach a negativně ovlivňující chuťové vlastnosti vody

UF – ultrafiltrace

## 8. Literatura

- Adamson, A.W., Gast, A.P.: Physical chemistry of surfaces. John Wiley & Sons, Inc., New York, 1997, 784 s.
- Aktas, T.S., Takeda F., Maruo, Ch., Chiba, N., Nishimura, O. (2012): A comparison of zeta potentials and coagulation behaviors of cyanobacteria and algae. *Desalination and Water Treatment* 48 (1-3), 294-301.
- Banker, R., Carmeli, S., Hadas, O., Teltsch, B., Poral, R., Sukenik, A. (1997): Identification of cylindrospermopsin in *Aphanizomenon ovalisporum* (cyanophyceae) isolated from Lake Kinneret, Israel. *Journal of Phycology* 33 (4), 613-616.
- Barešová, M., Načeradská, J., Kopecká, I., Pivokonský, M. (2015): Mechanismy koagulace při odstraňování peptidů a proteinů produkovaných fytoplanktonem. *Chemické listy* 109 (2), 98-104.
- Bernhardt, H., Clasen, J. (1991): Flocculation of micro-organisms. *Journal of Water Supply: Research and Technology – AQUA* 40 (2), 76-87.
- 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.
- 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.
- Cardozo, K.H.M., Guaratin, T., Barros, M.P., Falcão, V.R., Tonon, A.P., Lopes, N.P., Campos, S., Torres, M.A., Souza, A.O., Colepicolo, P., Pinto, E. (2007): Metabolites from algae with economical impact. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 146 (1-2), 60-78.
- de la Cruz, A.A., Antoniou, M.G., Pelaez, M., Hiskia, A., Song, W., O'Shea, K.E., He, X., Dionysiou, D.D. (2011): Can we effectively degrade microcystins? – implications for impact on human health. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry* 11, 19-37.
- Dixon, M.B., Richard, Y., Ho, L., Chow, C.W.K., O'Neill, B.K., Newcombe, G. (2011): A coagulation-powdered activated carbon-ultrafiltration – Multiple barrier approach for removing toxins from two Australian cyanobacterial blooms. *Journal of Hazardous Materials* 186 (2-3), 1553-1559.
- Duan, J., Gregory, J. (2003): Coagulation by hydrolysing metal salts. *Advances in Colloid and Interface Science* 100-102, 475-502.
- Edzwald, J.K. (1993a): Algae, bubbles, coagulants, and dissolved air flotation. *Water Science and Technology* 27 (10), 67-81.
- Edzwald, J.K. (1993b): Coagulation in drinking water treatment: Particles, organics and coagulants. *Water Science and Technology* 27 (11), 21-35.

- Fan, A., Turro, N.J., Somasundaran, P. (2000): A study of dual polymer flocculation. *Colloids Surfaces A: Physicochemical and engineering aspects* 162 (1-3), 141-148.
- Fogg, G.E. (1971): Extracellular products of algae in fresh water. *Archiv für Hydrobiologie – Beiheft Ergebnisse der Limnologie* 5, 1-25.
- Fristachi, A., Sinclair, J.L.: Occurrence of cyanobacterial harmful algal blooms: workgroup report. In: Cyanobacterial harmful algal blooms: state of the science and research needs (Hudnell, H.K.), Springer, New York, 2008, 949 s.
- Gondar, D., Thacker, S.A., Tipping, E., Baker, A. (2008): Functional variability of dissolved organic matter from the surface water of a productive lake. *Water Research* 42 (1-2), 81-90.
- 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.
- González-López, C.V., García, M. del C.C., Fernández, F.G.A., Bustos, C.S., Chisti, Y., Sevilla, J.M.F. (2010): Protein measurements of microalgal and cyanobacterial biomass. *Bioresource Technology* 101 (19), 7587-7591.
- Gregory, J.: Particles in water: Properties and Processes. CRC Press, Boca Raton, London, New York, 2006, 180 s.
- Harada, K.-I. (2004): Production of secondary metabolites by freshwater cyanobacteria. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 52 (8), 889-899.
- Hellebust, J.A.: Extracellular products. In: Algal physiology and biochemistry (Stewart, W.D.P., Ed.), University of California Press, Berkeley, 1974, 989 s.
- Henderson, R.K., Baker, A., Parsons, S.A., Jefferson, B. (2008b): 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. (2008a): 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. (2008c): Successful removal of algae through the control of zeta potential. *Separation Science and Technology* 43 (7), 1653-1666.
- 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.
- Henderson, R., Sharp, E., Jarvis, P., Parsons, S., Jefferson, B. (2006): Identifying the linkage between particle characteristics and understanding coagulation performance. *Water Science and Technology: Water Supply* 6 (1), 31-38.
- Hnaťuková, 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.

- Huang, H., Lee, N., Young, T., Gary, A., Lozier, J.C., Jacangelo, J.G. (2007): Natural organic matter fouling of low-pressure, hollow-fiber membranes: Effects of NOM source and hydrodynamic conditions. *Water Research* 41 (17), 3823-3832.
- Chen, J.-J., Yeh, H.-H. (2005): The mechanisms of potassium permanganate on algae removal. *Water Research* 39 (18), 4420-4428.
- Chen, J.-J., Yeh, H.-H., Tseng, I.-C. (2009): Effect of ozone and permanganate on algae coagulation removal-pilot and bench scale tests. *Chemosphere* 74 (6), 840-846.
- Cheng, Y.L., Juang, Y.C., Liao, G.Y., Ho, S.H., Yeh, K.L., Chen, C.Y., Chang, J.S., Liu, J.C., Lee, D.J. (2010): Dispersed ozone flotation of *Chlorella vulgaris*. *Bioresource Technology* 101 (23), 9092-9096.
- Jarvis, P., Jefferson, B., Parsons, S. (2005): Breakage, regrowth and fractal nature of natural organic matter flocs. *Environmental Science and Technology* 39 (7), 2307-2314.
- Kaebnick, M., Neilan, B.A. (2001): Ecological and molecular investigations of cyanotoxin production. *FEMS Microbiology Ecology* 35 (1), 1-9.
- Kwak, D.-H., Kim, M.-S. (2015): Flotation of algae for water reuse and biomass production: role of zeta potential and surfactant to separate algal particles. *Water science and technology* 72 (5), 762-769.
- Lee, C.H., Liu, J.C. (2000): Enhanced sludge dewatering by dual polyelectrolytes conditioning. *Water Research* 34 (18), 4430-4436.
- Leenheer, J.A., Croué, J.P. (2003): Characterizing aquatic dissolved organic matter. *Environmental Science and Technology* 37 (1), 18-26.
- Leloup, M., Nicolau, R., Pallier, V., Yéprémian, C., Feuillade-Cathalifaud, G. (2013): Organic matter produced by algae and cyanobacteria: Quantitative and qualitative characterization. *Journal of Environmental Sciences* 25 (6), 1089-1097.
- 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.
- Li, L., Wang, Z., Rietveld, L.C., Gao, N., Hu, J., Yin, D., Yu, S. (2014): Comparison of the Effects of Extracellular and Intracellular Organic Matter Extracted From *Microcystis aeruginosa* on Ultrafiltration Membrane Fouling: Dynamics and Mechanisms. *Environmental science and technology* 48 (24), 14549-14557.
- Ma, J., Fang, J.Y., Wang, L.N., Guo, J., Chen, Z.L. (2006): Effect of preozonation on characteristics of algae cells and algae-derived organic matter (AOM) with respect to their removal by coagulation. *Water Science and Technology: Water Supply* 6 (4), 145-152.
- Ma, J., Liu, W. (2002): Effectiveness and mechanism of potassium ferrate(VI) preoxidation for algae removal by coagulation. *Water Research* 36 (4), 871-878.

- Ma, M., Liu, R., Liu, H., Qu, J., Jefferson, W. (2012a): Effects and mechanisms of prechlorination on *Microcystis aeruginosa* removal by alum coagulation: Significance of the released intracellular organic matter. *Separation and Purification Technology* 86, 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.
- 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.
- 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, 1431-1442.
- Merel, S., Walker, D., Chicana, R., Snyder, S., Baurès, E., Thomas, O. (2013): State of knowledge and concerns on cyanobacterial blooms and cyanotoxins. *Environment international* 59, 303-327.
- Meriuloto, J.A.O., Spoof, L.E.M.: Cyanotoxins: sampling, sample processing and toxin uptake. In: Cyanobacterial harmful algal blooms: state of the science and research needs (Hudnell, H.K.), Springer, New York, 2008, 949 s.
- Nicolaisen, B. (2003): Developments in membrane technology for water treatment. *Desalination* 153 (1-3), 355-360.
- Okuda, T., Nishijima, W., Okada, M. (2006): Assimilable organic carbon (AOC) originating from picophytoplankton in drinking water. *Water Science and Technology: Water Supply* 6 (2), 169-176.
- Pantelić, D., Svirčev, Z., Simeunović, J., Vidović, M., Trajković, I. (2013): Characteristics, production and degradation routes in drinking water treatment with reference to the situation in Serbia. *Chemosphere* 91 (4), 421-441.
- Paulsen, B.S., Aslaksen, T., Freire-Nordi, C.S., Vieira, A.A.H., (1998): Extracellular Polysaccharides from *Ankistrodesmus densus* (Chlorophyceae), *Journal of Phycology* 34 (4), 638-641.
- Petruševski, B., van Breemen, A.N., Alaerts, G. (1996): Effect of permanganate pre-treatment and coagulation with dual coagulants on algae removal in direct filtration. *Journal of Water Supply: Research and Technology – AQUA* 45 (6), 316-326.
- 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. (2009a): 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., Bäumeltová, J., Bubáková, P. (2009b): The effect of cellular organic matter produced by cyanobacteria *Microcystis aeruginosa* on water purification. *Journal of Hydrology and Hydromechanics* 57 (2), 121-129.
- 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.
- Pivokonský, M., Načeradská, J., Brabenec, T., Novotná, K., Barešová, M., Janda, V. (2015): The impact of interactions between algal organic matter and humic substances on coagulation. *Water Research* 84, 278-285.
- 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. *Critical reviews in Environmental Science and Technology* 46 (4), 291-335.
- Pranowo, R., Lee, D.J., Liu, J.C., Chang, J.S. (2013). Effect of O<sub>3</sub> and O<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> on algae harvesting using chitosan. *Water Science and Technology* 67 (6), 1294-1301.
- Procházková, G., Kaštánek, P., Brányik, T. (2015): Harvesting freshwater *Chlorella vulgaris* with flocculant derived from spent brewer's yeast. *Bioresource Technology* 177, 28–33.
- Qu, F., Liang, H., Wang, Z., Wang, H., Yu, H., Li, G. (2012): Ultrafiltration membrane fouling by extracellular organic matters (EOM) of *Microcystis aeruginosa* in stationary phase: Influences of interfacial characteristics of foulants and fouling mechanisms. *Water Research* 46 (5), 1490-1500.
- Rinaudo, M. (2001): Relation between the molecular structure of some polysaccharides and original properties in sol and gel states. *Food Hydrocolloids* 15 (4-6), 433-440.
- Sivonen, K., Jones, G.: Cyanobacterial toxins. In: Toxic cyanobacteria in water. A guide to their public health consequences, monitoring and management (Chorus, I., Bartram, J., Eds.), E & FN Spon Press, London, 1999, 416 s.
- Steynberg, M.C., Pieterse, A.J.H., Geldenhuys, J.C. (1996): Improved coagulation and filtration as a result of morphological and behavioural changes due to pre-oxidation. *Journal of Water Supply: Research and Technology – AQUA* 45 (6), 292-298.
- Sukenik, A., Teltch, B., Wachs, A.W., Shelef, G., Nir, I, Levanon, D. (1987): Effect of oxidants on microalgal flocculation. *Water Research* 21 (5), 533-539.

- 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. (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 polyaluminium chloride in drinking water treatment. *Water Research* 44 (13), 3781-3786.
- Teixeira, M.R., Rosa, M.J. (2007): Comparing dissolved air flotation and conventional sedimentation to remove cyanobacterial cells of *Microcystis aeruginosa* Part II. The effect of water background organics. *Separation and Purification Technology* 53 (1), 126-134.
- van Apeldoorn, M.E., van Egmond, H.P., Speijers, G.J.A., Bakker, G.J.I. (2007): Toxins of cyanobacteria. *Molecular Nutrition and Food Research* 51 (1), 7-60.
- Villacorte, L.O., Ekowati, Y., Neu, T.R., Kleijn, J.M., Winters, H., Amy, G., Schippers, J.C., Kennedy, M.D. (2015): Characterisation of algal organic matter produced by bloom-forming marine and freshwater algae. *Water Research* 73, 216-230.
- Wang, L., Qiao, J., Hu, Y., Wang, L., Zhang, L., Zhou, Q., Gao, N. (2013): Pre-oxidation with KMnO<sub>4</sub> 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.
- Westrick, J.A., Szlag, D.C., Southwell, B.J., Sinclair, J. (2010): A review of cyanobacteria and cyanotoxins removal/inactivation in drinking water treatment. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 397 (5), 1705-1714.
- Xiaogang, F., Fei, R., Degang, F., Chunwei, Y., Yan, H. (2006): Photocatalytic degradation of trace-level of microcystin-LR by nano-film of titanium dioxide. *Chinese Science Bulletin* 51 (10), 1191-1198.
- Xie, P., Ma, J., Fang, J., Guan, Y., Yue, S., Li, X., Chen, L. (2013): Comparison of permanganate preoxidation and preozonation on algae containing water: Cell integrity, characteristics, and chlorinated disinfection byproduct formation. *Environmental Science and Technology* 47 (24), 14051-14061.
- Zhang, X.J., Chen, C., Ding, J.Q., Hou, A., Li, Y., Niu, Z.B., Su, X.Y., Xu, Y.J., Laws, E.A. (2010): The 2007 water crisis in Wuxi, China: Analysis of the origin. *Journal of Hazardous Materials* 182 (1-3), 130-135.
- Zhang, Y., Tian, J., Nan, J., Gao, S., Liang, H., Wang, M., Li, G. (2011): Effect of PAC addition on immersed ultrafiltration for the treatment of algal-rich water. *Journal of Hazardous Materials* 186 (2-3), 1415-1424.

Zhou, S., Shao, Y., Gao, N., Li, L., Deng, J., Zhu, M., Zhu, S. (2014): Effect of chlorine dioxide on cyanobacterial cell integrity, toxin degradation and disinfection by-product formation. *Science of the total environment* 482-483, 208-213.

Znachor, P. (2005): Vodní květy řas a sinic. *Scientific American* 7, 42-51.