

MECHANISMY KOAGULACE PŘI ODSTRAŇOVÁNÍ PEPTIDŮ A PROTEINŮ PRODUKOVANÝCH FYTOPLANKTONEM

MAGDALENA BAREŠOVÁ^{a,b}, JANA NAČERADSKÁ^{a,b}, IVANA KOPECKÁ^{a,b}
a MARTIN PIVOKONSKÝ^a

^a Ústav pro hydrodynamiku AV ČR, v. v. i., Pod Paňankou 5, 166 12 Praha 6, ^b Ústav pro životní prostředí, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova v Praze, Benátská 2, 128 01 Praha 2
baresova@ih.cas.cz, naceradska@ih.cas.cz, kopecka@ih.cas.cz, pivo@ih.cas.cz

Došlo 5.12.13, přepracováno 20.2.14, přijato 13.3.14.

Klíčová slova: Al/Fe-peptidové/proteinové komplexy, koagulace, organické látky produkované fytoplanktonem, peptidy/proteiny, vazebná kapacita

Obsah

1. Úvod
2. Původ a charakterizace AOM
3. Koagulace AOM
 - 3.1. Vliv pH na odstranitelnost AOM peptidů/proteinů – mechanismy interakcí peptidové/proteinové složky s produkty hydrolyzy koagulačního činidla
 - 3.2. Mechanismy a hodnocení tvorby komplexních látek
4. Závěr a praktický význam

1. Úvod

Významnou součástí většiny povrchových vod jsou přírodní organické látky (NOM – Natural Organic Matter). Z chemického hlediska tyto látky představují složitou směs alifatických i aromatických uhlovodíkových struktur s mnoha typy funkčních skupin, např. amidových, karboxylových, hydroxylových, ketonických a dalších funkčních skupin. NOM jsou tvořeny převážně huminovými látkami (huminové kyseliny a fulvokyseliny) a látkami nehumínového charakteru (především proteiny a polysacharidy)¹. V povrchových vodách je zpravidla obsah huminových látek ve srovnání s látkami nehumínového charakteru vyšší. Nehumínové látky se v našich podmínkách ve zvýšených koncentracích vyskytují převážně ve vegetačním období při masovém rozvoji sinic a řas – jedná se o tzv. AOM (Algal Organic Matter). V případě využití povrchových zdrojů vody pro pitné účely mohou mít právě AOM značný dopad na proces úpravy vody^{2,3}. Již při velmi nízkých koncentracích (řádově ng l⁻¹) jsou

zdrojem nepříjemného zápachu a negativně ovlivňují i chuťové vlastnosti vody, jedná se o tzv. T&O (Taste and Odor) sloučeniny. Například 2-methylisoborneol a *trans*-1,10-dimethyl-*trans*-9-decalol, dva z nejvýznamnějších netoxických metabolitů, jsou příčinou zatuchlé zemité pachuti a zápachu vody⁴. AOM tvoří také řadu vedlejších produktů desinfekce vody, a to zejména při hygienickém zabezpečení vody chlorem a jeho sloučeninami, kdy dochází k tvorbě halogenovaných organických sloučenin, především trihalogenmethanů – THM (např. chloroform a dibromchlormethan) a halogenderivátů kyseliny octové – HAA (např. kyselina dichloroctová a trichloroctová). Do současné doby bylo detegováno přes 700 takových sloučenin vyskytujících se v pitné vodě zpravidla v koncentracích v řádech μg l⁻¹, z nichž některé jsou toxické nebo karcinogenní⁵. Vzniku těchto sekundárních kontaminantů lze účinně předcházet maximálně možným odstraněním organických látek při úpravě vody. Zatížení upravované vody zvýšeným obsahem AOM je nežádoucí také z důvodu výskytu obtížně odstranitelných cyanotoxinů⁶. Dále bylo prokázáno, že AOM mají inhibiční vliv na koagulaci ostatních ve vodě přítomných znečišťujících příměsí (např. zákalotvorné hlinitokřemičitanu)⁷. Tato skutečnost vede k poruchám koagulace doprovázeným zvýšenými koncentracemi zákalotvorných a organických látek, ale i hliníku a železa ve filtrátu^{7,8}. Navzdory skutečnosti, že v období rozvoje fytoplanktonu ve vodárenských nádržích mohou tyto látky významně komplikovat technologii úpravy vody, principy koagulace AOM ani vliv AOM na procesy probíhající při úpravě vody nebyly dosud uspokojivě objasněny. Cílem tohoto referátu je popis dosud známých mechanismů interakcí peptidové/proteinové složky AOM s produkty hydrolyzy hlinitých a železitých koagulačních činidel.

2. Původ a charakterizace AOM

AOM jsou produkovány dvěma základními mechanismy. Metabolickými pochody sinic a řas se AOM do povrchových vod dostávají jako tzv. extracelulární organické látky (EOM – Extracellular Organic Matter), při odumírání a rozkladu vlastních buněk fytoplanktonu jsou pak uvolňovány tzv. intracelulární organické látky (IOM – Intracellular Organic Matter)^{9,10} a organické látky vázané na povrchu buněk (SOM – Surface-bonded/Surface-retained Organic Matter)¹¹. Společně lze označit IOM a SOM jako tzv. celulární organické látky (COM – Cellular Organic Matter)⁷. AOM jsou do vody uvolňovány rovněž v důsledku mechanického nebo chemického poškození buněk sinic a řas při úpravě vody¹⁰.

Chemické složení AOM je velmi různorodé, závisí především na druhu a růstové fázi organismu^{2,12}, fyziolo-

gických podmínkách¹², fotosyntetické aktivitě vlastních buněk mikroorganismů a případně na podmínkách jejich kultivace¹³. Významný vliv mají především hodnota pH, iontová síla, teplota¹, intenzita a doba slunečního záření, obsah živin a organických látek a koncentrace O₂ a CO₂ ve vodě či kultivačním médiu¹². Množství a diverzita AOM narůstá během růstové křivky fytoplanktonu^{11,14}. V průběhu exponenciální fáze růstu je odumírání buněk relativně nízké a AOM jsou uvolňovány především metabolickou činností organismů ve formě EOM. Ve stacionární fázi růstu již dochází k úhynu organismů a nárůst koncentrací organických látek je částečně způsoben i autolytickými procesy¹⁴. Se stářím kultury se tak postupně zvyšuje podíl COM na celkové koncentraci AOM^{7,14}.

Dominantní složkou AOM jsou peptidy/proteiny a sacharidy¹². Jak již bylo uvedeno, složení AOM se značně liší v závislosti na růstové fázi fytoplanktonu. V exponenciální a stacionární růstové fázi převládají sacharidy nad peptidy a proteiny, během stárnutí kultury fytoplanktonu však dochází k postupnému nárůstu koncentrace peptidů a proteinů^{7,14,15}. Například u sinice *Microcystis aeruginosa* byl prokázán nárůst jejich podílu z 10 % na počátku kultivace až na cca 40 % ve stacionární fázi růstu. Peptidy a proteiny pak skládě AOM dominují ve fázi odumírání fytoplanktonu. U sinice *M. aeruginosa* tvoří peptidová/proteinová složka až cca 66% podíl z celkových AOM, u *Anabaena flos-aquae* 51% podíl a pouze 29% podíl peptidů/proteinů byl stanoven v případě zelené řasy *Scenedesmus quadricauda*¹⁴. Zelená řasa *Chlorella vulgaris* pak obsahuje cca 40% podíl peptidů a proteinů z celkového množství produkované organické hmoty, *Asterionella formosa* 19% a *Melosira* sp. pak 16% podíl⁹. Spolu s druhem mikroorganismu a jeho růstovou fází se nemění pouze zastoupení peptidové/proteinové složky AOM, ale roste také celkové množství a rozšiřuje se i diverzita peptidů/proteinů^{11,14,16}.

3. Koagulace AOM

Dosavadní výzkum v oblasti koagulace AOM prokázal jejich relativně nízkou míru odstranitelnosti při konvenční úpravě vody^{17,18}. Účinnost koagulace AOM je ovlivněna především druhem a růstovou fází organismu, typem a dávkou koagulantu a především reakčním pH (cit.^{16,18}). AOM ovlivňují koagulační procesy pomocí řady mechanismů. V závislosti na koncentraci, složení a vlastnostech, jako je např. distribuce molekulových hmotností, velikost povrchového náboje či hodnota izoelektrického bodu, vykazují AOM pozitivní i negativní účinky na koagulaci¹⁰. Při nízkých koncentracích mohou AOM účinnost koagulace zvyšovat, naopak jejich vysoké koncentrace koagulaci významným způsobem narušují^{3,16,19}. Vliv polysacharidových převážně nenabitých AOM na koagulaci částic může být při jejich nízkých koncentracích (1–2 mg l⁻¹ DOC) podobný efektu neiontových polymerních flokulačních činidel, kdy adhezi na povrchu

znečišťujících částic umožňují tvorbu tzv. mezičásticových polymerních můstků¹⁹. Naopak při vysokých koncentracích především nabitých proteinových složek AOM může v závislosti na hodnotě pH docházet vlivem odpuzivých elektrostatických interakcí k inhibici koagulačních procesů^{16,19,20}.

Z výsledků studia vlastního odstranění AOM při úpravě vody je patrné, že s vyšší účinností jsou koagulovány proteinové než neproteinové látky (např. polysacharidy)^{10,18}. Odstranění AOM peptidů a proteinů dosahuje cca 75% účinnosti. Naproti tomu účinnost odstranění neproteinových AOM dosahuje pouhých 22 % (cit.¹⁸). Vyšší účinnosti koagulace především u nabitých proteinových složek AOM je dosahováno při použití železitých činidel, a to pravděpodobně díky skutečnosti, že hydroxid železitý vznikající hydrolyzou železitých solí je mnohem méně rozpustný a hydrolyzuje ve výrazně širším rozsahu pH než hydroxid hlinitý²¹.

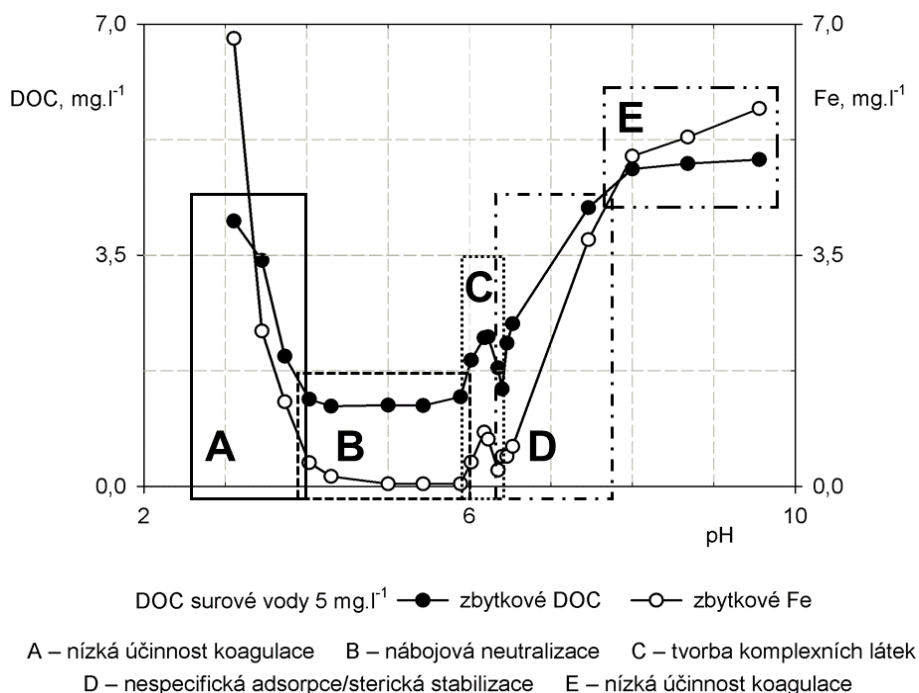
Z výsledků většiny doposud provedených experimentů^{3,10,16–18,22} je patrné, že limitována je především schopnost koagulace nízkomolekulárních organických látek, které jsou obtížněji odstranitelné koagulací než vysokomolekulární frakce. Obtížně koagulovatelné jsou především AOM peptidy s molekulovými hmotnostmi (MH) < 10 kDa (cit.¹⁶). Je zřejmé, že tyto nízkomolekulární peptidy je nutné odstranit jinými mechanismy, např. adsorpcí na aktivním uhlí²³.

3.1. Vliv pH na odstranitelnost AOM peptidů/proteinů – mechanismy interakcí peptidové/proteinové složky s produkty hydrolyzy koagulačního činidla

Jak již bylo řečeno, odstranitelnost organických látek produkovaných fytoplanktonem je úzce závislá na reakčních podmínkách, především na hodnotě pH (cit.^{16,18}). Peptidy a proteiny obsahují řadu funkčních skupin (–OH, –COOH, –SH, –NH₂, –CONH₂ atd.) nesoucích v určitém rozsahu pH náboj, který je příčinou jejich reaktivity a vede k elektrostatickým interakcím s hydroxopolymerem a hydratovanými oxidy kovů koagulačních činidel^{24,25}. Se změnami nábojových charakteristik AOM peptidů/proteinů, hydroxopolymerů a hydratovaných oxidů kovů se v závislosti na reakčním pH mění i mechanismy interakcí mezi těmito látkami. Příklad průběhu koagulace AOM peptidů/proteinů pomocí síranu železitého v závislosti na hodnotě pH je uveden na obr. 1. Na grafu je zvýrazněno pět reakčních oblastí, ve kterých dochází k odlišné účinnosti koagulace. Vyznačeným oblastem odpovídají jednotlivé typy mechanismů a interakcí.

A – Oblast neúčinné koagulace

V rozsahu pH oblasti A (pH < 4) nedochází k odstranění peptidů/proteinů ani Fe. V této oblasti pH převládá v systému výrazný kladný náboj peptidů/proteinů daný množstvím protonizovaných aminoskupin –NH₃⁺ (počet deprotonizovaných kyselých funkčních skupin je naopak velmi malý) a železo se vyskytuje v rozpuštěném



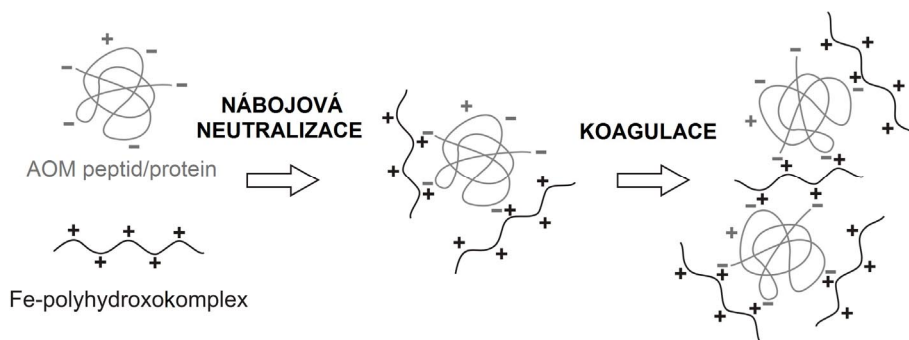
Obr. 1. Průběh a mechanismy koagulace peptidů/proteinů v závislosti na pH

stavu jako kladně nabitě kationtové komplexy $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$, $[\text{FeOH}(\text{H}_2\text{O})_5]^{2+}$, případně $[\text{Fe}(\text{OH})_2(\text{H}_2\text{O})_4]^+$. V důsledku převažujícího kladného náboje dochází k elektrostatickým repulzím mezi peptidy/proteiny na jedné straně a formami Fe na straně druhé, v důsledku čehož koagulace prakticky neprobíhá^{16,22}, viz obr. 1.

B – Oblast účinné koagulace mechanismem nábojové neutralizace

Oblast B (pH 4–6) znázorňuje případ, kdy koagulace probíhá naopak s maximální účinností. V této oblasti pH nesou peptidy a proteiny již dostatečné množství záporného náboje daného disociací kyselých karboxylových skupin ($-\text{COO}^-$), díky čemuž mohou elektrostaticky interagovat

s kladně nabitými Fe-hydroxopolymermi nebo Fe-hydratovanými oxidy/hydroxidy – $[\text{Fe}(\text{OH})_3(\text{H}_2\text{O})_3(\text{aq})]^0$. Tyto přitažlivé interakce vedou k postupné neutralizaci povrchového náboje peptidových a proteinových řetězců a následně tak umožňují vznik nenabitých agregátů (obr. 2)^{16,19,22}. Bylo prokázáno, že oblast s nejvyšší účinností koagulace se částečně posouvá k vyšším hodnotám pH s klesající počáteční koncentrací AOM peptidů/proteinů, a to z rozmezí hodnot pH 4–6 při počáteční koncentraci rozpuštěného organického uhlíku (DOC – dissolved organic matter) 8 mg l⁻¹ na rozmezí pH 5,5–7,5 při počáteční koncentraci DOC 1 mg l⁻¹ (cit.^{16,22}). Zvýšení dolní hranice optimálního rozsahu pH pro odstraňování Fe ze 4 (DOC 8 mg l⁻¹) na 5,5 (DOC 1 mg l⁻¹) lze vysvětlit nízkými kon-



Obr. 2. Tvorba mikroagregátů mechanismem nábojové neutralizace peptidů/proteinů Fe-polyhydroxokomplexy

centracemi peptidů a proteinů, které neposkytují na svých vedlejších řetězcích dostatečné množství záporně nabitých míst k reakci s kladně nabitými železitými hydroxopolymermi^{16,22}. V této souvislosti je třeba zdůraznit, že v případě hlinitých koagulačních činidel je vzhledem k rozdílné hydrolyze Al v závislosti na pH oblast účinné koagulace mechanismem nábojové neutralizace posunuta do rozsahu pH 5–6,5 (cit.²⁶).

C – Oblast narušení koagulace tvorbou komplexních látek

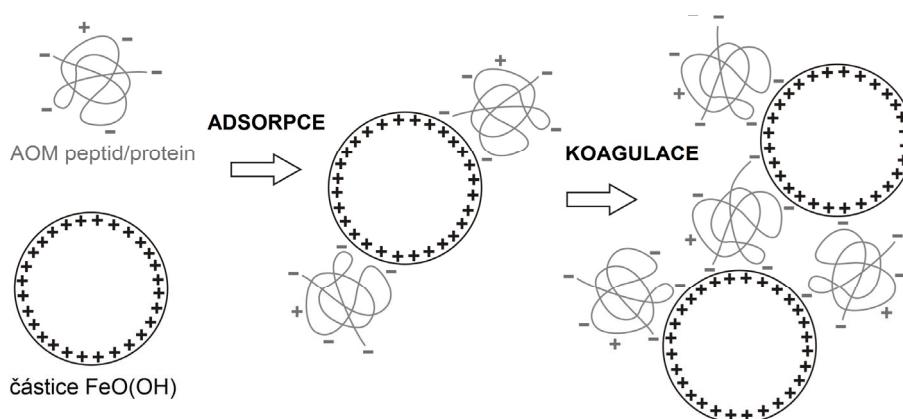
Oblast C zvýrazňuje nárůst koncentrací DOC i Fe při pH okolo 6 (max. při 6,2). Snížení účinnosti koagulace je v této oblasti způsobeno tvorbou polynukleárních směsných ligandových povrchových komplexních sloučenin^{11,14,16,26}, k jejichž vzniku vede interakce mezi $-\text{COO}^-$ skupinami na povrchu peptidů/proteinů a rozpuštěným či mikrokoloidním Fe. Vznik povrchových Fe-organických komplexů a zejména významná komplexační kapacita AOM peptidů/proteinů kolem pH 6 (obvyklá hodnota reakčního pH při koagulaci většiny povrchových vod s obsahem NOM)^{21,27} brání hydrolyze koagulačního činidla a tvorbě kladně nabitých hlinitých či železitých polyhydroxokomplexů nutných k destabilizaci znečišťujících příměsí. Počáteční stádia hydrolyzy iontů kovů (Al/Fe-monohydroxokomplexy) jsou prostřednictvím těchto interakcí vázány v organické hmotě ve formě stabilních rozpuštěných či mikrokoloidních Al/Fe-peptidových/proteinových komplexních sloučenin a nemohou se dále účastnit koagulačního procesu^{14,16,26}. Kromě toho hliník či železo vázané v molekulách proteinů blokuje negativně nabitá místa na jejich povrchu, čímž zabraňuje jejich koagulaci mechanismem nábojové neutralizace. Tvorba komplexních sloučenin tak vede k poklesu účinnosti koagulace, neúměrnému nárůstu účinné dávky koagulačního činidla a zvýšení zbytkových koncentrací organických látek a koagulantu (Al či Fe) v upravované vodě^{3,11,14,16,26}. Nicméně, je třeba zdůraznit, že při dostatečně vysoké dávce koagulantu a $\text{pH} > 7$ lze Al-, resp. Fe-peptidové/proteinové komplexy účinně odstranit mechanismem tzv. enmeshmentu, při kterém dochází v důsledku vysoké

dávky koagulantu k velmi rychlé tvorbě sraženiny hydratovaných oxidů kovů, která do své struktury strhává ostatní ve vodě obsažené koloidní příměsi²¹. Takto vysoké dávky koagulačního činidla však mají za následek vznik nadměrného množství odpadního kalu a vyšší ekonomickou náročnost procesu¹⁶. Mechanismy a hodnocení tvorby komplexních látek jsou podrobněji popsány v kap. 3.2.

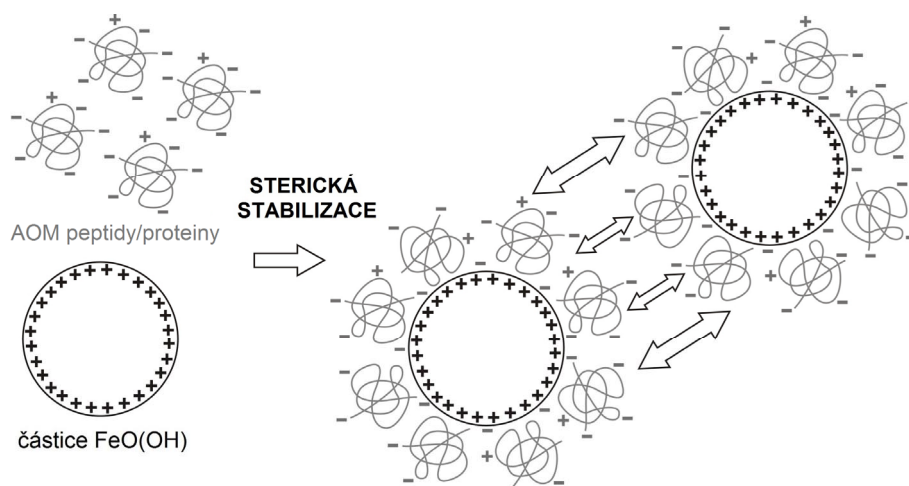
D – Oblast nespécifické adsorpce a sterické stabilizace

Z obr. 1 je dále patrné, že v oblasti D (pH 6,5–8) dochází k poměrně prudkému nárůstu zbytkových koncentrací DOC i Fe (cit.^{16,22}). V této oblasti pH se již obvykle tak výrazně neuplatňují klasické elektrostatické interakce vedoucí k postupné nábojové neutralizaci systému, naopak začíná převládat mechanismus nespécifické adsorpce. Účinnost adsorpce při koagulaci organických látek je obvykle ve srovnání s nábojovou neutralizací elektrostatickými interakcemi výrazně nižší^{16,19}. Bylo zjištěno, že její účinnost je úzce závislá na poměru koncentrací peptidových/proteinových látek a Al či Fe. Adsorpce jako koagulační mechanismus hraje důležitou roli především v případech, kdy poměr koncentrací AOM peptidů/proteinů a Al/Fe je nízký^{16,19,22}. Peptidy/proteiny mohou být adsorbovány na povrchu koloidních hydratovaných oxidů hliníku/železa a mohou tak zvyšovat účinnost koagulace tvorbou mezičásticových můstků (obr. 3). Naopak při vysokém poměru koncentrací DOC peptidové/proteinové frakce a Al či Fe dochází k obsazení prakticky celého povrchu částic hydratovaných oxidů Al/Fe peptidy a proteiny (obr. 4). Silná adsorpce tak může vést k tzv. sterické stabilizaci a následně inhibici koagulačního procesu^{16,19,22}. Mechanismem sterické stabilizace dochází ke zvýšení záporného náboje na povrchu částic hydratovaných oxidů hliníku/železa a následně k elektrostatické repulzi takto stabilizovaných částic^{19,28,29}. Jako hraniční byl stanoven poměr DOC peptidů/proteinů a Fe = 0,33 (cit.^{16,22}).

Mechanismus koagulace adsorpcí je obvykle vysvětlován pomocí tzv. elektrostatického patch modelu³⁰. Podle této teorie se mohou záporně nabitě peptidy a proteiny



Obr. 3. Koagulace mechanismem elektrostatického patch modelu při nízkém poměru koncentrací DOC peptidů/proteinů a Fe



Obr. 4. Inhibice koagulace mechanismem sterické stabilizace při vysokém poměru koncentrací DOC peptidů/proteinů a Fe

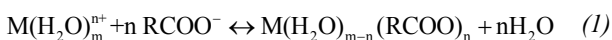
poutat ke koloidním částicím hydratovaných oxidů kovů (pH nulového bodu náboje $\text{FeO(OH)} \sim 7,5$), což vede ke vzniku záporně nabitých míst na povrchu koloidních částic hydratovaných kovů (obr. 3). Při vzájemné srážce takto nabitých částic dochází současně k upevnění opačně nabitých ploch na povrchu těchto částic. Dalším možným vysvětlením mechanismu nespecifické adsorpce je vznik vodíkových vazeb mezi funkčními skupinami peptidů/proteinů a povrchem hydratovaných oxidů kovů^{24,25}.

E – Oblast neúčinné koagulace

Při $\text{pH} > 8$ (oblast E) již koagulace prakticky neprobíhá^{16,22}. Peptidy/proteiny nesou již značné množství ionizovaných funkčních skupin a železité hydroxopolymery postupně přechází do aniontové podoby, např. $[\text{Fe(OH)}_4]^-$ (cit.³¹). Mezi těmito částicemi se tak začínají uplatňovat odpudivé elektrostatické interakce, které vedou k postupnému snížení účinnosti a následně úplnému zastavení koagulace^{16,22}. Aniontové formy hliníku v systému již zcela převažují od hodnoty $\text{pH} 8,5$ (cit.³¹).

3.2. Mechanismy a hodnocení tvorby komplexních látek

Afinita hliníku a železa k peptidovým a proteinovým AOM se obvykle vysvětluje pomocí modelu povrchových komplexů³¹. Tento model popisuje tvorbu Al/Fe-peptidových/proteinových povrchových komplexních sloučenin vznikem koordinační vazby mezi disociovanými karboxylovými skupinami na povrchu řetězců biopolymerů a pozitivně nabitými povrchovými skupinami hliníkových/železitých hydroxopolymérů a hydratovaných oxidů kovů^{14,16}. Tyto reakce lze znázornit např. následujícím způsobem,



hem, viz rovnice (1).

Míra tvorby Al/Fe-peptidových/proteinových komplexů úzce souvisí s hodnotou disociační konstanty karboxylové skupiny vázané na povrchu AOM peptidů a proteinů, resp. s hodnotou pH systému. Hodnota pH ovlivňuje nejen disociaci $-\text{COOH}$ skupiny, má ale také zásadní vliv na formy výskytu $\text{Al}^{3+}/\text{Fe}^{3+}$ iontů. Rozpuštěné nebo mikrokoloidní Al/Fe-peptidové/proteinové komplexy mohou vznikat pouze v případě, kdy jsou karboxylové skupiny peptidových postranních řetězců deprotonizované (β -, γ - RCOOH $\text{pK}_a = 3,0\text{--}4,7$)³². Ostatní kyselé funkční skupiny na povrchu peptidů/proteinů, např. $-\text{SH}$ a $-\text{OH}$, mají hodnoty pK_a konstant ve značně alkalické oblasti ($-\text{SH}$ $\text{pK}_a = 8,3\text{--}8,6$ a $-\text{OH}$ $\text{pK}_a = 9,8\text{--}10,8$)³², kdy Al/Fe-hydroxokomplexy jsou již převážně záporně nabitě ($[\text{Al(OH)}_4]^-/[\text{Fe(OH)}_4]^-$)³¹. Z tohoto důvodu se $-\text{SH}$ a $-\text{OH}$ skupiny prakticky nemohou (nebo jen malou měrou) účastnit tvorby povrchových Al/Fe-peptidových/proteinových komplexů. Z předchozího je zřejmé, že vazebná kapacita Al/Fe je přímo závislá na hodnotě pH . Maximální komplexotvorná kapacita Fe byla pozorována při pH okolo 6, za těchto reakčních podmínek kapacita peptidů a proteinů vázat kladně nabitě železité hydroxopolymery koordinačními elektrostatickými interakcemi dosahuje hodnoty $1,38 \text{ mmol Fe g}^{-1} \text{ DOC}$. Pro Al byla nejvyšší vazebná kapacita ($\text{BC} - \text{Binding Capacity} = 2,88 \text{ mmol Al g}^{-1} \text{ DOC}$) zjištěna při $\text{pH} 5$ (cit.^{16,22}). S poklesem či vzrůstem hodnoty pH bylo pozorováno, že komplexotvorná kapacita klesá^{16,22}. V alkalické oblasti pH je navíc tvorba Fe-peptidových/proteinových komplexů rušena přítomností OH^- iontů jakožto kompetitivních ligandů³¹. Jiné práce uvádí maximální vazebnou kapacitu Al $1,6 \text{ mmol g}^{-1}$ při hodnotě $\text{pH} 6$ (cit.³³) či maximální vazebnou kapacitu Fe $1,2 \text{ mmol g}^{-1}$ pro fulvokyseliny³⁴. AOM peptidy a proteiny tedy vykazují prakticky stejnou BC železa jako fulvokyseliny, které bývají obvykle označovány za NOM s největší

vazebnou kapacitou pro vícemocné kationty^{16,22}.

Bylo zjištěno, že na tvorbě komplexních sloučenin se podílejí především nízkomolekulární peptidy a jen některé proteiny. V případě AOM produkovaných sinicí *M. aeruginosa* se jedná o peptidy s MH 1; 2,8; 6; 8; 8,5 a 10 kDa (cit.^{16,22}) a proteiny o MH 43; 52 a 67 kDa (cit.^{11,16,22}). Mezi nízkomolekulární komplexotvorné sinicové peptidy patří především lineární a cyklické oligopeptidy, jako jsou cyanopeptolin (MH přibližně 950 Da), aeruginopeptin (MH 1022 až 1072 Da), mikropeptin (MH 885 až 1110 Da), ale i mikrocystiny (MH 985 až 1024 Da) a cyanochlorofyl (MH přibližně 900 Da). Dále se také jedná o látky umožňující přenos železa přes buněčné membrány, tzv. sinicové siderofory s MH v rozmezí od 500 do 1500 Da, a vysokomolekulární proteiny s afinitou k Al a Fe (především sinicové metaloenzymy (hydrogenasy) s MH okolo 35 až 60 kDa)¹⁶.

4. Závěr a praktický význam

Zásadní význam pro účinnou koagulaci AOM peptidů/proteinů má hodnota reakčního pH. V úpravárenské praxi je koagulace běžně prováděna při pH okolo 7 (hodnoty se mohou částečně lišit v závislosti na použitém koagulačním činidle a charakteru surové vody). Neutrální oblast pH (pH 6,5–7,5) je ale vhodná především pro úpravu zakalených vod²⁶. Peptidová/proteinová složka AOM má maximální účinnost odstranění při pH v rozsahu 4–6 (viz kap. 3.1.)^{16,22}. Podle dalších prací jsou rozpuštěné organické látky neúčinněji odstranitelné při pH v rozmezí 5–6,5 (někdy dokonce i < 5)^{18,21,27}. Pro odstraňování přírodních organických látek je tedy obecně výhodné, opět v závislosti na jejich charakteru a použitém koagulačním činidle, snížit pH do oblasti okolo 5,5. Skutečností je, že v této oblasti pH se v praxi obvykle úprava pitné vody neprovádí. Důvodem jsou především obavy o zvýšení zbytkových koncentrací koagulantu, především hliníku, v upravené vodě, a to zejména při odstraňování huminových látek mechanismem neutralizace jejich povrchového náboje. V případě výskytu produktů sinic a řas je však výrazné snížení pH do oblasti pod 6 nezbytným předpokladem jejich účinného odstranění. Z tohoto důvodu je výhodné k odstraňování peptidových/proteinových AOM použít železitá koagulační činidla, která poskytují dostatek kladného náboje nutného k elektrostatickým interakcím s $-\text{COO}^-$ skupinami i v oblasti pH 4–5 (cit.¹⁸).

Dalším možným problémem úpravy vody s obsahem peptidových/proteinových AOM může být skutečnost, že na tyto látky obvykle není optimalizována dávka koagulačního činidla. Ta je velmi často optimalizována na zákal anebo na koncentraci organických látek vyskytujících se ve vodě v průběhu celého roku (huminové látky). Sinicové AOM jsou v našich klimatických podmínkách obvykle sezónní záležitostí a jsou tudíž často při optimalizacích koagulačních procesů opomíjeny, a to i přesto, že v době rozvoje vodního květu mohou tvořit dominantní podíl organických látek obsažených v surové vodě⁸. V případě

výskytu sinicových AOM není hlavním problémem ani tak nárůst koncentrace organických látek (ten ostatně ani vzrůst nemusí, protože právě v letních měsících bývají naopak koncentrace huminových látek na relativně nízké úrovni), ale zásadní je především změna jejich charakteru (molekulová hmotnost, nábojové poměry atd.). Tato změna pak obvykle vede k nárůstu zbytkových koncentrací DOC, Al/Fe, snížení účinnosti filtrace, nárůstu koncentrací vedlejších produktů desinfekce vody, tzv. DBPs (Disinfection By-Products) atd. Řešení této situace je možné, viz kap. 3.1., pouze změnou reakčního pH do oblasti 4–6 (u železitého) či do oblasti pH 5–6,5 (u hlinitého činidla), kde se začne uplatňovat mechanismus nábojové neutralizace AOM peptidů/proteinů Al/Fe-polyhydroxokomplexy^{16,22}. V této oblasti pH navíc dochází v přítomnosti peptidových/proteinových AOM k velmi účinnému odstranění zákalu a zbytkového hliníku/železa²⁶, upravená voda tak dosahuje vysoké kvality.

Závěrem je, bohužel, nutné konstatovat, že v praxi jsou problémy s výskytem sinicových AOM velmi často řešeny prostým zvýšením dávky koagulačního činidla, což však samo o sobě je krok zcela nedostačující a bez zásadní změny reakčních podmínek vyplývajících z charakteru sinicových AOM (ostatně to platí pro všechny organické látky) nemá opodstatnění.

Práce vznikla za podpory projektu Grantové agentury ČR P105/11/0247.

LITERATURA

1. Leenheer J. A., Croue J. P.: Environ. Sci. Technol. 37, 18A (2003).
2. Hoyer O., Lüsse B., Bernhardt H.: Z. Wasser- Abwasser-Forsch. 18, 76 (1985).
3. Bernhardt H., Hoyer O., Lüsse B., Schell H., v knize: *Treatment of drinking water for organic contaminant.* (Huck P. H., Toft P., ed.). Pergamon Press, New York 1987.
4. Dixon M. B., Falconet C., Ho L., Chow C. W. K., O'Neill B. K., Newcombe G.: Water Sci. Technol. 61, 1189 (2010).
5. Richardson S. D., Plewa M. J., Wagner E. D., Schoeny R., DeMarini D. M.: Mutat. Res. 636, 178 (2007).
6. Hitzfeld B. C., Höger S. J., Dietrich D. R.: Environ. Health Perspect. 108, 113 (2000).
7. Takaara T., Sano D., Konno H., Omura T.: Water Res. 41, 1653 (2007).
8. Pivokonský M., Bubáková P., Pivokonská L., Knesl B.: *Tvorba suspenze při úpravě vody. Teorie a praxe.* SOVAK ČR, Líbeznice 2011.
9. Henderson R. K., Baker A., Parsons S. A., Jefferson B.: Water Res. 42, 3435 (2008).
10. Ma M., Liu R., Liu H., Qu J., Jefferson W.: Sep. Purif. Technol. 86, 19 (2012).
11. Takaara T., Sano D., Konno H., Omura T.: Water Sci. Technol.: Water Supply 4, 95 (2005).
12. Hellebust J. A., v knize: *Algal physiology and bio-*

- chemistry* (Stewart W. D. P., ed.), kap. 30. University of California Press, Berkeley 1974.
13. Maksimova I. V., Bratkovskaya L. B., Plekhanov S. E.: *Biol. Bull.* *31*, 175 (2004).
 14. Pivokonsky M., Kloucek O., Pivokonska L.: *Water Res.* *40*, 3045 (2006).
 15. Huang J., Graham N., Templeton M. R., Zhang Y., Collins C., Nieuwenhuijsen M.: *Water Res.* *43*, 3009 (2009).
 16. Pivokonsky M., Safarikova J., Bubakova P., Pivokonska L.: *Water Res.* *46*, 5583 (2012).
 17. Cheng W. P., Chi F. H.: *Chemosphere* *53*, 773 (2003).
 18. Pivokonsky M., Polasek P., Pivokonska L., Tomaskova H.: *Water Environ. Res.* *81*, 514 (2009).
 19. Bernhardt H., Hoyer O., Schell H., Lüsse B.: *Z. Wasser- Abwasser-Forsch.* *18*, 18 (1985).
 20. Sano D., Ishifuji S., Sato Y., Imae Y., Takaara T., Masago Y., Omura T.: *Chemosphere* *82*, 1096 (2011).
 21. Duan J., Gregory J.: *Adv. Colloid Interface Sci.* *100-102*, 475 (2003).
 22. Barešová M.: *Diplomová práce*. Univerzita Karlova, Praha 2012.
 23. Hnatukova P., Kopecka I., Pivokonsky M.: *Water Res.* *45*, 3359 (2011).
 24. Burns N. L., Holmberg K., Brink C.: *J. Colloid Interface Sci.* *178*, 116 (1996).
 25. Yoon J.-Y., Kim J.-H., Kim W.-S.: *Colloids Surf., A* *153*, 413 (1999).
 26. Safarikova J., Baresova M., Pivokonsky M., Kopecka I.: *Sep. Purif. Technol.* *118*, 49 (2013).
 27. Tomášková H., Pivokonská L., Pivokonský M.: *Chem. Listy* *102*, 1131 (2008).
 28. Liang Y., Hilal N., Langston P., Starov V.: *Adv. Colloid Interface Sci.* *134-35*, 151 (2007).
 29. Li Q., Jonas U., Zhao X. S., Kappl M.: *Asia-Pac. J. Chem. Eng.* *3*, 255 (2008).
 30. Gregory J.: *J. Colloid Interface Sci.* *42*, 448 (1973).
 31. Stumm W., Morgan, J. J.: *Aquatic chemistry*. J. Wiley, New York 1996.
 32. Dawson R. M. C., Elliott D. C., Elliott W. H., Jones K. M.: *Data for biochemical research*. Oxford University Press, New York 1986.
 33. Gregor J. E., Fenton E., Brokenshire G., Van Den Brink P., O'Sullivan B.: *Water Res.* *30*, 1319 (1996).
 34. Frimmel F. H., Immerz A., Niedermann H.: *Int. J. Environ. Anal. Chem.* *14*, 105 (1983).

M. Barešová^{a,b}, J. Načeradská^{a,b}, I. Kopecká^{a,b}, and M. Pivokonský^a (^a*Institute of Hydrodynamics, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague*, ^b*Institute for Environmental Studies, Faculty of Science, Charles University in Prague*): **Coagulation Mechanisms for Removal of Peptides and Proteins Produced by Phytoplankton**

Increased seasonal concentrations of algal organic matter (AOM) in raw water can disrupt production of drinking water. The aim of the present study is to elucidate the mechanisms involved in coagulation of peptides and proteins in AOM. The available data suggest that charge neutralization and nonspecific adsorption are the dominant mechanisms effective in the coagulation. The highest removal of peptides and proteins is achieved in the pH range 4–6, when positively charged hydrolysis products of a Fe(III) coagulant neutralize the negative surface of peptides/proteins. At a low dissolved organic carbon (DOC) and Fe concentration ratio, nonspecific adsorption of peptides/proteins on Fe(III) oxide-hydroxide particles, as described by the electrostatic patch model, enables coagulation at pH 6–8. In contrast, at high concentration ratios of DOC/Fe, steric stabilization reduces the effectiveness of coagulation in the same pH range. At pH around 6, the coagulation is disrupted due to the formation of Fe-peptide/protein complexes. The study shows that the coagulation effectiveness and removability of peptides/proteins are strongly dependent on pH, which determines the charge of peptides/proteins and hydrolysis products of the coagulant and, therefore, the prevailing interactions between them.