

OPTIMALIZACJA PROCESU KAPSUŁKOWANIA OSADÓW ŚCIEKOWYCH

Beata Kończak¹

¹ Zakład Ochrony Wód, Główny Instytut Górnictwa, Plac Gwarków 1, 40-166 Katowice, e-mail: bkonczak@gig.eu

STRESZCZENIE

W artykule przedstawiono badania dotyczące optymalizacji procesu kapsułkowania osadów ściekowych w nośniku hydrożelowym. Osady ściekowe pobrane zostały z komunalnej oczyszczalni ścieków. Celem badań było określenie optymalnego stężenia alginianu sodu i roztworu sieciującego oraz określenie wpływu stężenia tych reagentów na stabilność mechaniczną kapsułek. Stwierdzono, że roztwór alginianu sodu powinien mieć stężenie minimum 2%, dzięki czemu możliwe jest uzyskanie kapsułek osadów ściekowych o zadawalającej stabilności mechanicznej. Na proces kapsulacji i stabilność kapsułek nie miało wpływu stężenie roztworu sieciującego. Otoczkowanie kapsułek dodatkową ścianką z alginianu sodu wpływa na zwiększenie stabilności mechanicznej kapsułek.

Słowa kluczowe: hydrożele, alginian sodu, biopolimery, osady ściekowe, kapsulacja, otoczkowanie

OPTIMIZATION OF SEWAGE SLUDGE CAPSULATION PROCESS

ABSTRACT

The article presents the research on optimization of sewage sludge capsulation in the hydrogel carrier. Sewage sludge was derived from a municipal wastewater treatment plant. The aim of the research was to determine an optimum concentration of sodium alginate and the crosslinking solution. Another aim was to determine the influence of the reagent concentration on the mechanical stability of the obtained capsules. It was determined that the using of 2% sodium alginate results in obtaining capsules with desired mechanical stability. The crosslinking solution concentration has not been affected on the capsulation process. The encapsulation of sewage sludge capsules with additional wall of sodium alginate has been improved their mechanical stability.

Keywords: hydrogels, sodium alginate, biopolymers, sewage sludge, capsulation, encapsulation

WPROWADZENIE

Biopolimery to substancje o polimerycznej budowie, wytwarzane i akumulowane przez organizmy żywe. Zbudowane są ze związków organicznych, takich jak: polisacharydy (skrobia, alginiany, pektyny), polipeptydy oraz polinukleotydy [Tirell i Tirell 1996]. Biopolimery, dzięki temu że są biokompatybilne, biodegradowalne oraz łatwo dostępne, stanowią doskonały materiał do zastosowań w przemyśle. Ponadto posiadają one zdolność do tworzenia trójwymiarowych sieci. Sieciowanie polega na powstawaniu wiązań wodorowych, hydrofobowych, kowalencyjnych lub oddziaływań jonowych pomiędzy cząsteczkami biopolimeru [Pop i in. 2016]. Zjawisko to wykorzystywane jest w procesach pułapkowania i unieruchamiania komórek mikroorganizmów.

W przemyśle najpowszechniej stosowanymi biopolimerami do pułapkowania komórek mikroorganizmów są: alginiany, karageny, agar, agarozę i chitozan [Kaplan 1998]. Szczególne znaczenie w procesach pułapkowania mają alginiany. Alginiany pozyskuje się przede wszystkim ze ściany komórkowej morskich alg [Ertesvågi Valla 1998]. Alginian jest liniowym kopolimerem zbudowanym z dwóch typów monomerów: kwasu a-L-guluronowego (bloki G) i b-D-mannuronowego (bloki M). Dzięki specjalnemu ułożeniu bloków G, które są pozaginane w stosunku do liniowych bloków M, powstają puste przestrzenie, w które łatwo wchodzi jony wielowartościowe, a zwłaszcza jony wapnia. Jony wapnia dodane do roztworu alginianu wiążą ze sobą dwie cząsteczki alginianu i tworzy się trójwymiarowa sieć o charakterze żelowym. Bloki M nie żelują

w obecności kationów wapnia, ze względu na ich słabe powinowactwo do tych kationów, tym samym tworzą ciekłe regiony w żelu, w których mogą zostać unieruchomione cząsteczki lub komórki mikroorganizmów [Lee i Mooney 2012]. Proces pułapkowania i unieruchamiania cząstek lub komórek mikroorganizmów jest wykorzystywany na szeroką skalę w przemyśle kosmetycznym [Casanova i Santos, 2016], farmaceutycznym [Nagpal i inni 2012], chemicznym [Bertagnolli i inni 2016] oraz w medycynie, np. do konstruowania sztucznych organów [Lana i in. 2010; Hwang i in. 2009].

Istnieje kilka metod unieruchamiania komórek. Najprostsza metodą jest pułapkowanie, polegające na mieszaniu materiału biologicznego z anionowym i wielkocząsteczkowym polimerem, a następnie wkraplaniu tej zawiesiny do roztworu kationu, gdzie następuje sieciowanie polimeru. W wyniku tej reakcji powstają kapsułki zawierające unieruchomiony wewnątrz materiał biologiczny, a cały proces nazywa się kapsułkowaniem. Najczęściej stosowanym polimerem do kapsulacji materiału biologicznego jest alginian sodu.

Inną metodą kapsulacji materiału biologicznego jest formowanie rdzenia z materiału biologicznego i polimeru, a następnie otaczaniu rdzenia ściankami uformowanymi z różnego rodzaju substancji okrywających. W metodzie tej rdzeń kapsułki stanowić może od 10 do nawet 90% całej kapsułki. Ścianki okrywające budowane są z tego samego polimeru, z jakiego utworzony jest żel, bądź też wykorzystuje się inne polimery zdolne do kopolimeryzacji z rdzeniem kapsułki. Kopolimeryzacja możliwa jest pomiędzy polimerami o różnych ładunkach powierzchniowych. Bardzo często w procesie kopolimeryzacji wykorzystuje się kompleksy alginian-chiotozan [Piasecka i Góderska 2010; Dambczyński i Jankowski 2004; Bakula i in. 2013].

W niniejszym artykule przedstawiona jest innowacyjna metoda unieruchamiania osadów ściekowych w nośniku hydrożelowym. Najpopularniejszym sposobem zagospodarowania osadów ściekowych w Polsce do 2015 roku było ich składowanie. Obecnie, w świetle nowych przepisów prawa (od stycznia 2016 r.) osady ściekowe stanowią odpad (kod odpadu: 19 08 05), który nie może już być składowany. W związku z tym niezwykle ważne jest poszukiwanie nowych metod ich zagospodarowania, np. poprzez termiczne

unieszkodliwianie i wykorzystywanie ich jako źródło energii w procesach spalania i współspalania [Pasterak i Mrowiec 2015]. Na rynku pojawiają się też certyfikowane produkty o charakterze nawozowym wyprodukowane z osadów ściekowych poddanych procesowi kompostowania, np. kompost „Kompelk” wytwarzany w oczyszczalni ścieków w Ełku. Osady ściekowe mogą zostać wykorzystane rolniczo lub w procesach przemysłowych tylko po przeprowadzeniu zabiegów ułatwiających ich magazynowanie i transport [Bień i in. 2014]. Do takich zabiegów zaliczyć możemy m.in. suszenie osadów w suszarkach bębnowych, w celu zmniejszenia ich masy. Dzięki temu zabiegowi powstaje granulata o zawartości suchej masy od 90 do 99%. Im mniejsza masa osadów ściekowych, tym mniejsze są koszty związane z ich transportem. Granulata wysuszonych osadów ściekowych składa się z frakcji o różnych rozmiarach cząstek, badania własne wykazały, że frakcja pylista (o wymiarach cząstek < 0,315 mm) stanowić może nawet 30% całkowitej ilości wysuszonych osadów ściekowych. Zbyt wysoki udział frakcji pylistej w całkowitej masie osadów ściekowych jest niekorzystny z uwagi na problemy pojawiające się przy przesypaniu, magazynowaniu i transporcie tego typu osadów. Zgodnie z zapisami art. 24 ust. 7 § 5. 1. ustawy z dnia 14 grudnia 2012 r. o odpadach (Dz. U. z 2013 r. poz. 21, z późn. zm.) odpady, w tym także ustabilizowane osady ściekowe, powinny być transportowane w sposób uniemożliwiający ich rozprzestrzenianie poza środki transportu, pylenie oraz w sposób ograniczający do minimum uciążliwość zapachową. Pylenie osadów ściekowych stanowi zagrożenie mikrobiologiczne związane z powstawaniem tzw. bioaerozoli. Osady ściekowe są też szczególnym rodzajem odpadów, który w warunkach niewłaściwego przechowywania może stwarzać uciążliwość zapachową.

W niniejszych badaniach podjęto się próby przekształcenia osadów w produkt o walorach przemysłowych poprzez unieruchomienie ich w nośniku hydrożelowym, utworzonym z sieciowanego alginianu sodu. Unieruchomienie osadów ściekowych ograniczy ich pylenie oraz zmniejszy uciążliwość zapachową. Dzięki kapsulacji możliwe jest uzyskanie jednorodnego granulatu o odpowiedniej stabilności mechanicznej. Tak przygotowany granulata osadów ściekowych można będzie bezpiecznie przesypano, magazynować i transportować.

Badania polegały na eksperymentalnym doborze stężeń alginianu sodu oraz chlorku wapnia, w celu uzyskania kapsułek o żądanej stabilności mechanicznej. W dalszym etapie badań kapsułki z mieszaniny osadów ściekowych i sieciowanego alginianu sodu pokrywano dodatkową warstwą z alginianu sodu i sprawdzano stabilność mechaniczną otoczonych kapsułek zawierających osady ściekowe.

Wyniki niniejszych badań stanowiły będą podstawę do dalszych badań dotyczących unieruchamiania osadów ściekowych w nośnikach polimerowych.

CZĘŚĆ EKSPERYMENTALNA

Optymalizacja warunków prowadzenia procesu żelowania

W celu ustalenia optymalnych warunków prowadzenia procesu żelowania alginianu sodu (Sigma Aldrich) w roztworze chlorku wapnia (CaCl_2 , Sigma Aldrich) przeprowadzono badania przy zmiennym stężeniu reagentów:

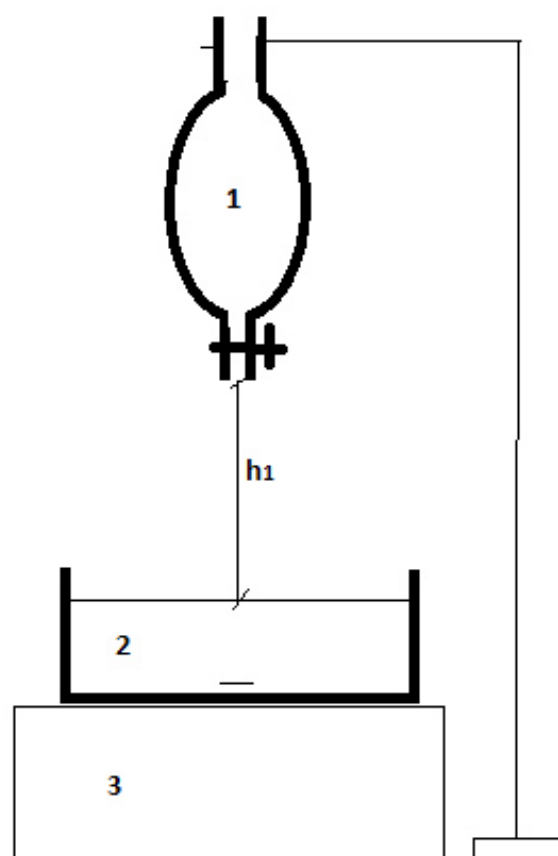
- alginianu sodu: 0,5, 1%, 1,5%, 2%, 3% (w/o w wodzie destylowanej);
- CaCl_2 : 1 i 2%.

Schemat stanowiska badawczego przedstawia rysunek 1.

Alginian sodu wkraplano do roztworu sieciującego mieszającego się na mieszadle magnetycznym z prędkością 50 obr/min. Odległość wkraplacza od zwierciadła cieczy sieciującej (h_1) wynosiła 5 cm. Czas kapsulacji wynosił 15 minut. Po zakończeniu procesu żelowania, otrzymane kapsułki żelowe płukano trzykrotnie w wodzie destylowanej. Następnie wykonano test stabilności mechanicznej otrzymanych uwodnionych kapsułek żelowych stosując nieznacznie zmodyfikowaną procedurę opisaną wcześniej przez Zhu i inni [2005]. 30 kapsułek umieszczano w 100 ml wody destylowanej i mieszano na mieszadle magnetycznym z prędkością 250 obr/min. W trakcie mieszania monitorowano ilość uszkodzonych kapsułek. Czas mieszania wynosił 4h. Kapsułki suszono w temperaturze 105°C. Ich średnicę określono na podstawie analizy zdjęć wykonanych kamerą Moticam BA400 z wykorzystaniem programu Motic Image Plus Motic.

Optymalizacja procesu unieruchamiania osadów ściekowych w nośniku hydrożelowym

Materiałem do unieruchamiania w nośniku żelowym były osady ściekowe pobrane ze stacji magazynowania osadów ściekowych z komunalnej oczyszczalni ścieków. Uwodnienie osadów ściekowych w dniu badania wynosiło 68,4%. Osady ściekowe homogenizowano, a następnie 5 g osadów ściekowych wprowadzano do 20 ml roztworu alginianu sodu o stężeniu 0,5%, 1% lub 2% i mieszano na mieszadle magnetycznym przez minimum 5 minut, aż do uzyskania jednolitej zawiesiny. Następnie mieszaninę alginianu sodu i osadów ściekowych wkraplano do 100 ml roztworu sieciującego (2% roztwór CaCl_2). Po 15 minutach żelowania, kapsułki trzykrotnie płukano wodą destylowaną i sączono na lejku Büchnera, a następnie analizowano ich właściwości mechaniczne. W kolejnym etapie badań otrzy-



Rys. 1. Schemat stanowiska badawczego: 1) wkraplacz, 2) roztwór sieciujący, 3) mieszadło magnetyczne

Fig. 1. The scheme of the test bench: 1) dropper, 2) crosslinking solution, 3) magnetic stirrer

mane kapsułki otaczano ściankami z alginianu sodu, poprzez zanurzenie utworzonych wcześniej kapsułek w 2% roztworze alginianu sodu, a następnie w 2% roztworze CaCl_2 . Otoczkowane i nieotoczkowane kapsułki suszono w temperaturze 105°C do uzyskania stałej masy i poddano dalszym analizom.

WYNIKI I DISKUSJA

Optymalizacja warunków prowadzenia procesu żelowania

Celem badań było określenie optymalnego stężenia roztworu alginianu sodu w procesie żelowania. Obserwowano, że przy stężeniu alginianu 0,5% uformowane kapsułki miały nieregularny kształt. Gdy stężenie alginianu wynosiło 1% obserwowano powstanie kapsułek żelowych o kształcie zbliżonym do kulistego. Kapsułki o kulistym kształcie uzyskano, gdy stężenie alginianu wynosiło minimum 2% (rys. 2).

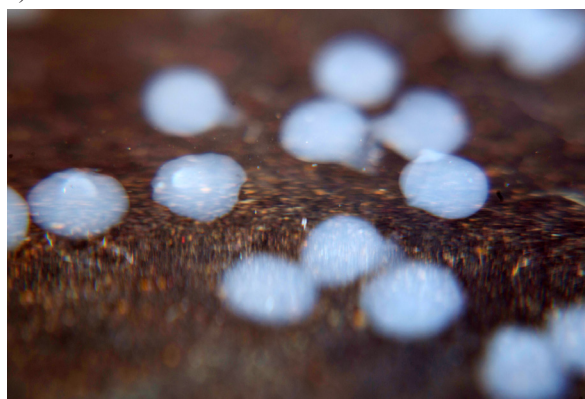
W tabeli 1 przedstawiono wyniki badań dotyczące zmiany średnicy wysuszonych kapsułek w zależności od stężenia alginianu sodu. Z uwagi na bardzo nieregularny kształt kapsułek uformowanych, gdy stężenie alginianu sodu wynosiło

0,5% oraz ich bardzo słabą strukturę kapsułek – określenie ich średnicy było niemożliwe.

Kapsułki uformowane przy koncentracji alginianu sodu rzędu 1% miały średnią średnicę $1,29 \text{ mm} \pm 0,11 \text{ mm}$. Kapsułki uformowane, gdy stężenie alginianu wynosiło 2% miały średnią średnicę $1,44 \pm 0,14 \text{ mm}$. Największą średnicę miały kapsułki uformowane, gdy stężenie alginianu wynosiło 3%, tj. $1,53 \pm 0,12 \text{ mm}$.

Wyniki badań są zgodne z pracami innych badaczy, którzy również wykazali, że wraz ze wzrostem stężenia alginianu rośnie średnica uformowanych kapsułek żelowych, a ich kształt jest coraz bardziej zbliżony do kulistego [Lotfipour i inni 2012]. Ponadto badacze ci wysnuli wniosek, że wraz ze wzrostem stężenia alginianu sodu rośnie jego lepkość, a to z kolei wpływa na wzrost średnicy kapsułek. Otrzymane w wyniku ich badań kapsułki miały średnicę $1,32 \pm 0,04$ do $1,70 \pm 0,07 \text{ mm}$. Wyniki badań pokazały, że zmiana stężenia roztworu sieciującego nie ma znaczącego wpływu na zmianę średnicy utworzonych kapsułek. W chwili, gdy stężenie CaCl_2 wynosiło 1% i 2% wysuszone kapsułki miały średnicę 1,4–1,5 mm. Wyniki badań są zgodne z wynikami badań Lotfipour i inni [2012], którzy wykazali, że zarówno wydłużenie czasu twardnienia, jak i zmiana stężenia roztworu sieciującego nie ma wpływu na średnicę kapsułek.

a)



b)



Rys. 2. Kształt kapsułek żelowych w zależności od stężenia alginianu sodu: a) 0,5%, b) 2%
Fig. 2. The influence of sodium alginate concentration on the shape of capsules: a) 0,5%, b) 2%

Tabela 1. Wpływ stężenia alginianu sodu na średnicę kapsułek

Table 1. The influence of sodium alginate concentration on capsule diameter

Lp.	Stężenie alginianu sodu (%)	Średnica kapsułek (mm)		
		Wartość minimalna	Wartość maksymalna	Wartość średnia
1	1	1,11	1,57	1,29
2	2	1,15	1,68	1,44
3	3	1,23	1,83	1,53

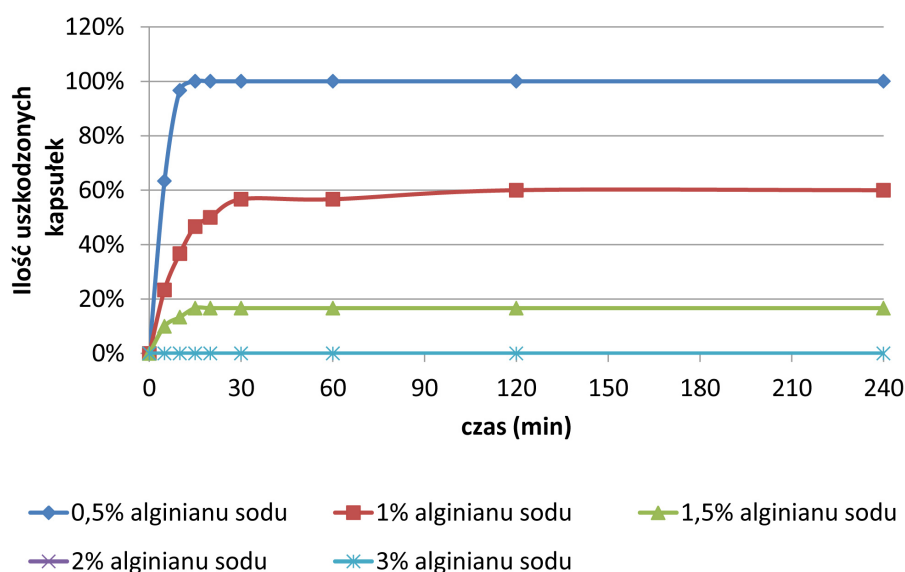
Badania wykazały, że największy wpływ na stabilność mechaniczną uformowanych, uwodnionych kapsułek osadów ściekowych ma stężenie alginianu. Obserwowano, iż stabilność kapsułek rośnie wraz ze stężeniem alginianu, przy czym najbardziej stabilne są kapsułki, gdy stężenie alginianu jest $\geq 2\%$. Gdy stężenie alginianu sodu wynosiło 0,5%, aż 57% kapsułek rozpadło się po 5 minutach mieszania na mieszadzie magnetycznym z prędkością 250 obr/min. Po 10 minutach mieszania, praktycznie wszystkie kapsułki rozpadły się. W chwili, gdy stężenie alginianu sodu wynosiło 1% ponad połowa kapsułek rozpadła się po 15–20 minutach mieszania. Po 30 minutach mieszania ilość uszkodzonych kapsułek wzrosła do 60%. Wydłużenie czasu mieszania do 4 godzin nie powodowało dalszego rozpadu kapsułek, jednakże obserwowano, iż zewnętrzna warstwa kapsułki miała uszkodzenia. Zwiększenie stężenia alginianu do 2% spowodowało, że kapsułki nie rozpadały się, nawet gdy czas mieszania wynosił 4 godziny. Wyniki prezentuje poniższy wykres (rys. 3).

Na podstawie przeprowadzonych eksperymentów stwierdzono, iż optymalne stężenie alginianu sodu to 2%. Jest to najmniejsze z możliwych do zastosowania stężeń alginianu sodu, które zapewnia kapsułkom stabilność mechaniczną oraz kształt zbliżony do kulistego. W drugiej części badań przeprowadzono kapsulację osadów ściekowych w nośniku hydrożelowym. Zmiennym parametrem kapsulacji było stężenie alginianu, które wynosiło 0,5%, 1% i 2%. Stę-

żenie roztworu chlorku wapnia było niezmiennie i wynosiło 2%. W każdym z eksperymentów czas sieciowania wynosił 15 minut. Rezultaty badań prezentuje poniższy rysunek 4.

Kapsułki uformowane w alginianie sodu o stężeniu 0,5% miały spłaszczony kształt i były podatne na uszkodzenia mechaniczne, co potwierdził test na stabilność mechaniczną (rys. 4, rys. 5). Z uwagi na spłaszczony kształt i tendencję do rozpadania się – nie przeprowadzono pomiaru średnicy utworzonych kapsułek. Niską stabilnością charakteryzowały się też kapsułki uformowane w obecności 1%-owego alginianu sodu. Już po upływie 30 min aż 30% kapsułek miało ślady uszkodzeń mechanicznych, wydłużenie czasu mieszania do 2h spowodowało dalsze uszkodzenia aż 50% kapsułek. Natomiast kapsułki utworzone w roztworze alginianu sodu o stężeniu 2% miały kulisty kształt i średnicę od 1,31 do 1,93 mm (średnio $1,62 \pm 0,15$ mm). W teście na stabilność mechaniczną wykazywały małą podatność na uszkodzenia. Pomimo długiego czasu mieszania nie obserwowano uszkodzeń mechanicznych utworzonych kapsułek.

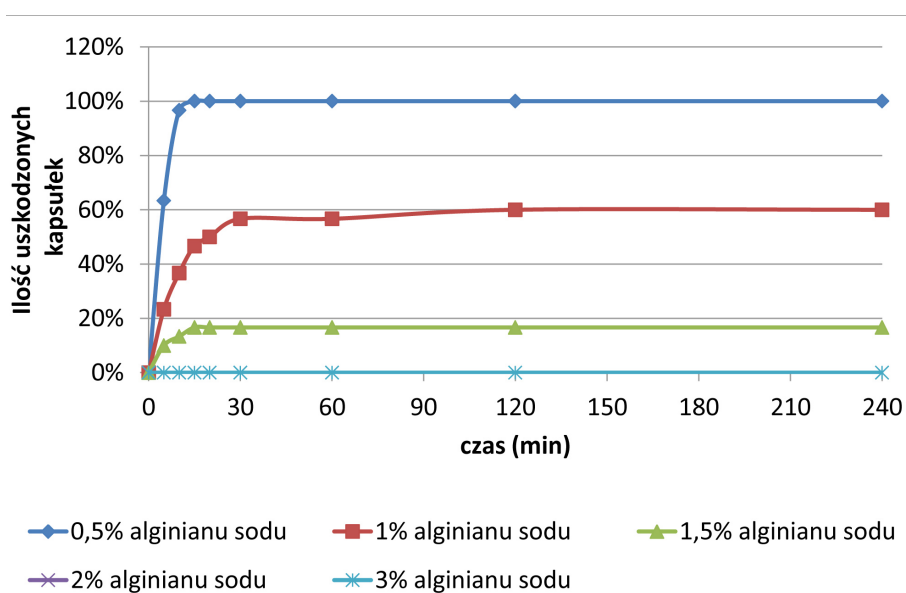
Dodatkowo przeprowadzono eksperyment polegający na otoczkowaniu rdzenia kapsułki utworzonej z 2% alginianu sodu i zawiesiny osadów ściekowych warstwą alginianową. Rdzeń kapsułki stanowił 90% całej kapsułki. Otoczkowane kapsułki wykazywały bardzo dużą odporność na uszkodzenia mechaniczne (rys. 5).



Rys. 3. Zmiana stabilności mechanicznej pustych kapsułek w zależności od stężenia alginianu sodu
Fig. 3. The influence of sodium alginate concentration on the change of mechanical stability of empty capsules



Rys. 4. Kapsulacja osadów ściekowych przy zmiennym stężeniu alginianu sodu: a) surowy osad ściekowy, b) 0,5% roztwór alginianu sodu, c) 2% roztwór alginianu sodu, d) wysuszone kapsułki osadów ściekowych
 Fig. 4. The sewage sludge capsulation with a variable sodium alginate concentration: a) sewage sludge, b) 0,5% sodium alginate solution, c) 2% sodium alginate solution, d) dried sewage sludge capsules



Rys. 5. Zmiana stabilności mechanicznej kapsułek osadów ściekowych w zależności od stężenia alginianu sodu
 Fig. 5. The influence of sodium alginate concentration on the change of mechanical stability of sewage sludge capsules

PODSUMOWANIE

Badania wykazały, że możliwe jest unieruchomienie osadów ściekowych w nośniku hydrożelowym bez konieczności ich wcześniejszego odwodnienia. W eksperymencie uwodnienie osadów ściekowych wynosiło około 68%. Osady ściekowe bardzo dobrze mieszają się z alginianem sodu. Na jakość uformowanych kapsułek z rdzeniem z osadów ściekowych ma wpływ stężenie alginianu sodu, które powinno wynosić minimum 2%. Stężenie chlorku wapnia nie ma wpływu na jakość uformowanych kapsułek żelowych. Natomiast wytrzymałość mechaniczną kapsułek żelowych z rdzeniem z osadów ściekowych można zwiększyć poprzez otoczkowanie dodatkową warstwą alginianu sodu. Otoczka żelowa zabezpiecza kapsułki przed uszkodzeniami mechanicznymi, co może mieć szczególne znaczenie w produkcji kapsułek z osadów ściekowych w skali przemysłowej.

Badania wykazały, że kapsulacja osadów ściekowych umożliwia uzyskanie frakcji kapsułek o jednorodnej strukturze i średnicy ok. 1,3–2 mm. Wytworzony granulaturę z osadów ściekowych może być łatwo transportowany, magazynowany, a jednocześnie zminimalizowane zostaje zjawisko powstawania bioaerozoli i uciążliwości zapachowej.

Niniejsze badania stanowią wkład do dalszych badań procesu kapsulacji osadów ściekowych do zastosowań przemysłowych.

Podziękowania

Praca została sfinansowana z dotacji Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach tematu nr 10311246–343.

LITERATURA

- Bakula Z., Stachowiak R., Wiśniewski J., Granicka L., Bieleki J. 2013. Immobilizacja komórek znaczenia biomedyczne, *Postępy Mikrobiologii*, 52(3), 233–245.
- Bertagnollo C., Grishin A., Vincent T., Guibal E. 2016. Recovering heavy metal ions from complex solutions using polyethylenimine derivatives encapsulated in alginate matrix, *Industrial & Engineering Chemistry Research* 55(8), 2461–2470.
- Bień J., Górski M., Gromiec M., Kacprzak M., Kamizela T., Kowalczyk M., Neczaj E., Pająk T., Wystańska K. 2014. Ekspertyza, która stanowić będzie materiał bazowy do opracowania strategii postępowania z komunalnymi osadami ściekowymi na lata 2014–2020, <http://e-czytelnia.abrys.pl/wodociagi-kanalizacja>, dostępny on-line 23.08.2016 r.
- Casanova F., Santos L. 2016. Encapsulation of cosmetic active ingredients for topical application – a review, *Journal of Microencapsulation* 33(1), 1–17.
- Dembczyński R., Jankowski T. 2004. Unieruchamianie komórek drobnoustrojów metodą kapsułkowania – stan obecny i możliwości rozwoju tej metody, *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 4(41), 5–17.
- Ertesvåg H., Valla S. 1998. Biosynthesis and applications of alginates. *Polym. Degrad. Stabil.*, 59, 85–91.
- Hwang Y-S., Cho J., Tay F., Heng J. Y.Y., Ho R., Kazarian S.G., Williams D.R., Boccaccini A.R., Polak J.M., Mantalaris A. 2009. The use of murine embryonic stem cells, alginate encapsulation, and rotary microgravity bioreactor in bone tissue engineering, *Biomaterials* 30(4), 499–507.
- Kaplan D.I. (ed.) 1998. Introduction to biopolymers from renewable resources. *Biopolymers from renewable resources*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, 1998.
- Lana S-F., Safiejko-Mroccka B., Starly B. 2010. Long-term cultivation of HepG2 liver cells encapsulated in alginate hydrogels: A study of cell viability, morphology and drug metabolism, *Toxicology in Vitro*, 24(4), 1314–1323.
- Lee K.Y., Mooney D.J. 2012. Alginate: properties and biomedical application, *Progress in Polymer Science* 37(1), 106–126.
- Lotfipour F., Mirzaeei S., Maghsoodi M. 2012. Evaluation of the effect of CaCl₂ and alginate concentrations and hardening time on the characteristic of *Lactobacillus acidophilus* loaded alginate beads using response surface analysis, *Advanced Pharmaceutical Bulletin* 2(1), 71–78.
- Nagpal M., Maheshwar D.K., Rakha P., Dureja H., Goyal S., Dhingra G. 2012. Formulation Development and Evaluation of Alginate Microspheres of Ibuprofen, *Journal of Young Pharmacists* 4(1), 13–16.
- Pasterak N., Mrowiec B.M. 2015. Techniczne i ekonomiczne rozwiązania gospodarki osadami w oczyszczalniach komunalnych, *Inżynieria Ekologiczna* 43, 7–14.
- Piasecka A., Goderska K. 2010. Mikrokapsułkowanie białek – metody i zastosowanie, *Biotechnologia* 1(88), 34–45.
- Pop O.L., Vodnar D.C., Socaciu C., Mishra M. (ed.) 2016. Encapsulation Field Polymer, *Handbook of Encapsulation and controlled release 2016*, Taylor&Francis Group, 617–636.
- Tirell J.G., Tirell D.A. 1996. Synthesis of biopolymers: proteins, polyesters, polysaccharides and polynucleotides, *Current Opinion in Solid State and Materials Science* 1, 407–411.
- Zhu J.H., Wang X-W., Ng S., Quek Ch-H., Ho H-T., Lao X-J., Yu H. 2005. Encapsulating live cells with water-soluble chitosan in physiological conditions, *Journal of Biotechnology* 117(4), 355–365.