

Adrianna PAWLEWICZ, Dariusz WŁÓKA, Małgorzata KACPRZAK

Politechnika Częstochowska, Wydział Infrastruktury i Środowiska
ul. Brzeźnicka 60A, 42-201 Częstochowa
e-mail: mkacprzak@is.pcz.pl

Produkcja mikrokapsulek stosowanych w bioremediacji oraz wspomaganiu wzrostu roślin

Production of Microcapsules used in Bioremediation and Plant Growth Support

This publication contains a short description of the immobilization process. The advantages and disadvantages of immobilizing biological factors have been mentioned. The carriers used (mainly sodium alginate) have been described. Techniques used to carry out immobilization (using a carrier or not) are presented. Also discussed is a prototype microcapsule production plant that can be used in many industries, including food, cosmetics and pharmaceutical. Produced microcapsules, depending on the factors subjected to immobilization (chemical substances or microorganisms), can be used in bioremediation or in supporting plant growth. Due to the use of microcapsules, the immobilized medium is separated from the reaction medium. In the case of microorganisms, this results in an increase in their lifetime because fluctuations of some process parameters (eg temperature, pH, nutrient composition) do not affect them directly. Immobilized microorganisms, such as PGPR bacteria, can stimulate plant growth through the production of phytohormones, fight against pathogens and induce their systemic immunity. While, the use of microcapsules, with immobilized microorganisms, in bioaugmentation processes will allow them to provide optimal development conditions and extend their lifespan, thus extending their duration. The costs incurred will decrease because the number of repetitions will be reduced. The interest in using microcapsules in biotechnological processes, and not only, is increasing. They become an alternative to traditional techniques.

Keywords: microcapsules, bioremediation, plant growth support

Wprowadzenie

Immobilizacja jest to proces mający na celu unieruchomienie substancji, komórek czy enzymów. W ten sposób ogranicza się ruch komórek oraz zwiększa się dostęp immobilizowanych mikroorganizmów do składników odżywczych. W przypadku enzymów lub substancji chemicznych poddawanych unieruchomieniu zabezpiecza się je przed bezpośrednim wpływem czynników środowiskowych, co zwiększa ich żywotność przemysłową. Unieruchomienie można przeprowadzić, stosując odpowiednie nośniki. W przypadku zastosowania nośnika ważne jest, aby dobierać go każdorazowo do przeprowadzanego typu reakcji. Uniwersalne kryteria,

które zawsze muszą być spełnione, to nietoksyczność dla mikroorganizmów oraz brak niekorzystnego wpływu na dany proces [1-3].

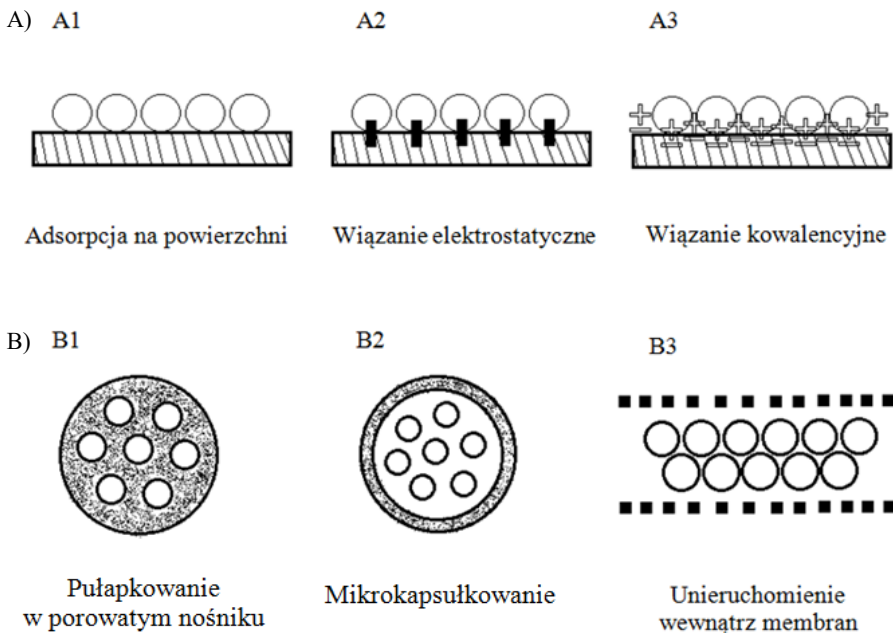
Mikrokapsułki można produkować, stosując zjawisko immobilizacji. Powstała mikrokapsułka składa się z rdzenia oraz otoczki, która powinna uwalniać swoją zawartość w określonych warunkach. Czynniki biologiczne w takiej formie zyskują na popularności, zwłaszcza w procesach środowiskowych oraz biotechnologicznych. Mikrokapsułki mogą mieć wielorakie zastosowania, m.in. w rolnictwie, ogrodnictwie i bioremediacji. Mogą bezpośrednio wspomagać wzrost roślin lub pośrednio poprzez stymulowanie rozwoju pożytecznych mikroorganizmów znajdujących się w pobliżu korzeni roślin [4, 5].

1. Techniki immobilizacji

Immobilizacja sprowadza się do przeprowadzenia szeregu procesów jednostkowych, których efektem jest ograniczenie możliwości ruchu cząsteczek, substancji lub materiału biologicznego [4]. Wyróżniono trzy główne metody unieruchamiania:

- na powierzchni nośnika,
- wewnątrz nośnika,
- bez wykorzystania nośnika.

Metody te przedstawiono na rysunku 1.



Rys. 1. Metody unieruchamiania komórek: A) na powierzchni nośnika, B) wewnątrz nośnika (sporządzono na podstawie [4])

Fig. 1. Methods of immobilizing cells: A) on the surface of the carrier, B) inside the carrier (findings based on [4])

Unieruchomienie na powierzchni nośnika opiera się na powinowactwie unieruchamianego czynnika (np. enzymy, mikroorganizmy) do nośnika. Zjawisko to zachodzi, kiedy komórki wykazują naturalną zdolność, aby przylegać do pewnych powierzchni. Mogą czynić to pod wpływem zastosowanych wiążących czynników chemicznych. Metoda ta jest stosunkowo prosta, szybka i tania. Wymagane jest, aby wystąpiło elektrostatyczne oddziaływanie pomiędzy komórką a nośnikiem. Mogą to być wiązania wodorowe, hydrofobowe, jonowe lub van der Waalsa albo ich kombinacje. Podstawą jest unieruchomienie dzięki adhezji, adsorpcji oraz wiązaniom kowalencyjnym [4, 6].

Immobilizacja we wnętrzu nośnika zachodzi, gdy czynnik zamknięty jest w materiale włóknistym lub porowatym (pułapkowanie w kulkach żelu) albo we wnętrzu membran półprzepuszczalnych. Nośniki najczęściej stosowane do tego celu to: alginiany, pektyna, agar, chitozan [7]. Mikroorganizmy można immobilizować we wnętrzu półprzepuszczalnych membran w postaci kapilar, kapsulek lub pułapkować za pomocą porowatych nośników. Wyróżnić można trzy grupy metod: pułapkowanie, mikrokapsułkowanie i unieruchomienie pomiędzy membranami [6].

Przy unieruchomieniu bez użycia nośnika wykorzystywana jest naturalna (samoagregacja) lub indukowana zdolność tworzenia skupisk - flokulacja czy sieciowanie przestrzenne. Samoagregacja zachodzi dzięki wytwarzanym przez komórki związkom, które nadają im zdolność wzrostu w postaci kłaczek. Duże nagromadzenie biomasy sprzyja tworzeniu się skupisk. Poprzez użycie odpowiednich podłoży, regulację stężenia tlenu, temperatury czy pH można uzyskać zwiększenie zdolności komórek do łączenia się. Indukowana flokulacja opiera się na zmianie wymienionych czynników tak, aby tworzyć skupienia. Otrzymany w ten sposób materiał biologiczny wykazuje się małą wytrzymałością mechaniczną, przez co możliwość jego zastosowania jest dość ograniczona. Główną zaletą tej metody jest zwiększenie aktywności mikroorganizmów poprzez większą koncentrację biomasy. Sieciowanie przestrzenne to wiązanie komórek poprzez różne substancje, które mogą reagować z grupami funkcyjnymi znajdującymi się na osłonie komórkowej. Wzajemne sieciowanie pozwala na uzyskanie dosyć trwałego materiału [6].

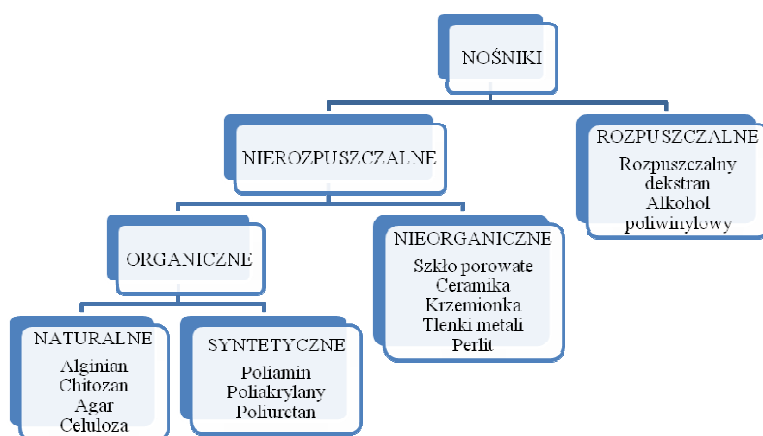
2. Nośniki stosowane w immobilizacji

Nie ma nośnika, który spełniałby wszystkie stawiane mu oczekiwania. Przy wyborze należy każdorazowo kierować się wymaganiami procesowymi. Najczęściej dobór następuje na drodze eksperymentalnej [8]. Zastosowany nośnik może np. wpływać na żywotność komórek, ich podziały i wzrost [9]. Dobry nośnik powinien:

- efektywnie zatrzymywać unieruchomione komórki czy substancje,
- wykazywać obojętność w odniesieniu do zatrzymywanych mikroorganizmów,
- odznaczać się stabilnością mechaniczną oraz chemiczną,
- nie ograniczać prawidłowego wzrostu mikroorganizmów,
- posiadać dostateczną porowatość umożliwiającą kontrolowane uwalnianie substancji lub swobodną dyfuzję produktów i substratów,

- być nietoksyczny dla immobilizowanych mikroorganizmów lub substancji czynnych (biokompatybilność),
- wykazywać możliwość stosowania w skali przemysłowej,
- charakteryzować się łatwą dostępnością oraz niskim kosztem [4, 10-12].

Tak jak przedstawiono na rysunku 2, nośniki można podzielić ogólnie na organiczne oraz nieorganiczne. Spośród naturalnych nośników organicznych najpopularniejsze to agar, chitozan oraz alginiany [10]. Znajdują one zastosowanie w wielu technikach immobilizacji. Niezwykle użyteczne są również nośniki syntetyczne, głównie polimery oraz jonowymienne żywice polimerowe. Największą zaletą jest ich stabilność chemiczna, dzięki czemu mogą być stosowane w wielu gałęziach przemysłu [13]. Przykładowo chitozan był wykorzystany (przez Skoronskiego i współautorów) do adsorpcyjnej immobilizacji laktazy, następnie przeprowadzono sieciowanie z wykorzystaniem aldehydu glutarowego. Otrzymany produkt został wykorzystany do rozkładu związków fenolowych z wydajnością przekraczającą 90%, która możliwa była do osiągnięcia nawet po okresie magazynowania [14]. Wśród nieorganicznych nośników stosowane są: krzemionki, szkło porowate, węgiel aktywny. Charakteryzują się one dużą odpornością chemiczną oraz wytrzymałością mechaniczną [15, 16]. Ich głównymi zaletami są duża dostępność oraz szybki sposób syntezy. Na ich powierzchni można umieścić dodatkowe grupy funkcyjne, które zwiększą powinowactwo danego materiału np. do enzymu [17]. Krzemionka występuje w wielu formach, od materiałów porowatych, przez układy o znacznej organizacji przestrzennej, po formę żelową oraz w postaci cienkiego filmu. Ważną ich cechą jest to, iż w przypadku immobilizacji enzymów pozwalają utrzymać ich właściwości katalityczne na wysokim poziomie, który często przekracza 60% aktywności enzymu w formie wolnej [18].



Rys. 2. Podział nośników stosowanych w immobilizacji (sporządzono na podstawie [2, 10])

Fig. 2. Division of carriers used in immobilization (findings based on [2, 10])

Alginy jako polimery naturalne są najczęściej stosowane do immobilizacji [10]. Związki te są jednowartościowymi solami kwasu alginowego. Zazwyczaj stosowa-

ny jest alginian sodu [1]. Jest tak popularny, ponieważ procedura tworzenia żelu z jego użyciem jest prosta, jest również łatwo dostępny i niedrogi. Zapewnia nietoksyczne warunki dla immobilizowanego materiału [19]. Alginian pozyskuje się przede wszystkim z alg morskich, w głównej mierze z brunatnic (*Phaeophyceae*). Zdarza się, że jest produkowany pozakomórkowo przez pewne bakterie z rodzaju *Pseudomonas*, np. *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas aeruginosa* [20, 21]. Dzięki swoim właściwościom alginian zawdzięcza powszechne stosowanie w przemyśle farmaceutycznym, spożywczym i medycznym [22].

3. Wady i zalety immobilizacji

Porównując tradycyjne procesy prowadzone z wolnymi komórkami oraz te, w których stosuje się komórki immobilizowane, można dostrzec wiele ich zalet ekonomicznych oraz technologicznych przemawiających za wykorzystaniem technik immobilizacji. Najważniejsze korzyści wynikające ze stosowania procesów immobilizacji:

- substancja poddana immobilizacji jest chroniona przed bezpośrednim wpływem czynników środowiskowych (np. zmiana temperatury, pH, składu podłoża), przez co wydłuża się stabilność oraz aktywność biokatalizatora,
- można stosować wydajniejsze napowietrzanie i mieszanie medium, dzięki czemu substrat jest lepiej wykorzystywany, co z kolei skutkuje większą wydajnością procesu,
- obecność zakażeń mikrobiologicznych jest ograniczona,
- uwalnianie produktów jest stopniowe,
- możliwość ponownego wykorzystania biokatalizatora (mniejsze koszty),
- łatwiejszy rozdział produkt końcowy od biomasy,
- możliwa jest automatyzacja i kontrola procesu [4, 7, 10].

Niewątpliwie proces immobilizacji mikroorganizmów posiada wiele cech, które ułatwiają prowadzenie procesu, np. bioremediacji. Same mikroorganizmy również odnoszą korzyści wynikające z ich unieruchomienia. Przede wszystkim są izolowane od bezpośredniego wpływu zmieniających się czynników fizykochemicznych procesu, w którym są wykorzystywane (np. wahań temperatury, pH, składu pożywki), oraz łatwiej przystosowują się do nowych warunków. Czynniki te oddziałują na zwiększenie żywotności drobnoustrojów, przez co mogą być dłużej wykorzystywane w danym procesie biotechnologicznym [1, 4].

Podczas prowadzenia procesów z wykorzystaniem immobilizowanych mikroorganizmów mogą pojawiać się pewne problemy, które nie występują w przypadku stosowania komórek wolnych. Do głównych wad immobilizacji zaliczyć można:

- spadek aktywności biokatalizatorów w miarę upływu czasu,
- problemy ze sprawnym przechodzeniem substratów oraz produktów,
- problemy z długotrwałym utrzymaniem stabilności nośnika,
- stratę aktywności komórek poddanych unieruchomieniu [4].

Biorąc pod uwagę powyższe wady, należy każdorazowo dobierać technikę immobilizacji, a także nośnik do prowadzonego procesu technologicznego.

4. Wykorzystanie immobilizowanych mikroorganizmów

Duże znaczenie w biotechnologii mają ryzobakterie. Są to mikroorganizmy wspomagające wzrost roślin, tzw. PGPR (ang. *plant growth promoting rhizobacteria*) [22]. Bakterie te bytują w strefie korzeniowej roślin lub na ich powierzchniowych tkankach (endofity) [23]. Bakterie PGPR mogą wykazywać działanie pośrednie lub bezpośrednie, aby stymulować wzrost i rozwój roślin [22]. PGPR to bakterie z rodziny: *Pseudomonas*, *Chromobacterium*, *Azotobacter*, *Erwinia*, *Azospirillum*, *Frankia*, *Bacillus*, *Mesorhizobium*, *Burkholderia*, *Agrobacterium*, *Rhizobium*, *Azorhizobium*, *Caulobacter*, *Bradyrhizobium*, *Allorhizobium* [24].

Przykłady bakterii należących do grupy PGPR?

Celem stymulacji bezpośredniej jest wzbogacanie gleby o składniki odżywcze, a także zwiększenie ich przyswajalności przez rośliny [25]. Bakterie PGPR mogą produkować fitohormony, dzięki czemu zwiększają zasoby regulatorów wzrostu wytwarzanych przez roślinę. Główne z nich to: auksyny, gibereliny, cytokiny [22]. PGPR wpływają również na poprawę ogólnej kondycji roślin poprzez biologiczne zwalczanie patogenów oraz indukcję odporności systemicznej. Bakterie PGPR mogą chronić rośliny przed patogenami poprzez produkcję sideroforów (ograniczają patogenom pobieranie żelaza), antybiotyków, metabolitów przeciwgrzybowych, enzymów, które rozkładają ścianę komórkową grzybów. Współzawodniczą one między sobą o niszę ekologiczną, a tym samym o składniki odżywcze znajdujące się wokół korzeni [26]. Indukowana odporność systemiczna, która pozwala roślinie bronić się przed stresogennym działaniem mikroorganizmów, jest wytworzona na skutek oddziaływania PGPR z korzeniami roślin, na których bytują. Utrzymuje się nawet przy zmniejszonej liczebności populacji bakterii, która ją indukowała [25].

Immobilizacji można poddać również inne mikroorganizmy, które mogą być wykorzystane w bioremediacji. Jest to wysoce efektywna technika wykorzystywana do oczyszczania gruntów skażonych różnymi związkami organicznymi, takimi jak pestycydy czy substancje ropopochodne. Opiera się ona głównie na wykorzystaniu umiejętności niektórych bakterii do włączania cząstek zanieczyszczeń organicznych w swoje cykle metaboliczne. Rozkładają one niebezpieczne substancje na mniej toksyczne [27-29]. Jednym z rodzajów bioremediacji jest bioaugmentacja, polegająca na wprowadzeniu na danym terenie wyselekcjonowanych lub sztucznie namnażanych autochtonicznych szczepów bakterii [30]. Poddając immobilizacji stosowane do bioremediacji mikroorganizmy na różnego rodzaju nośnikach (np. alginian), są one chronione przed bezpośrednim wpływem czynników fizyczno-chemicznych gleby. Może to wydłużyć ich żywotność w glebie, więc przez dłuższy czas będą pobierać z niej zanieczyszczenia. To z kolei ograniczy liczbę potrzebnych zabiegów wprowadzania drobnoustrojów do gleby [28]. Dla przykładu, bakterie z rodzaju *Pseudomonas* (np. *P. fluorescens* lub *P. putida*) mogą być wykorzystane do usuwania węglowodorów aromatycznych (antracen, fenantren, piren) z gleby. Inne wykorzystywane mikroorganizmy to: *Aspergillus oryzae* (cynk), *Bacillus sp.* (ołów), *Streptomyces rimosus* (miedź), *Enterobacter cloacae* (kadm), *Fusarium flocciferum* (nikiel) [22].

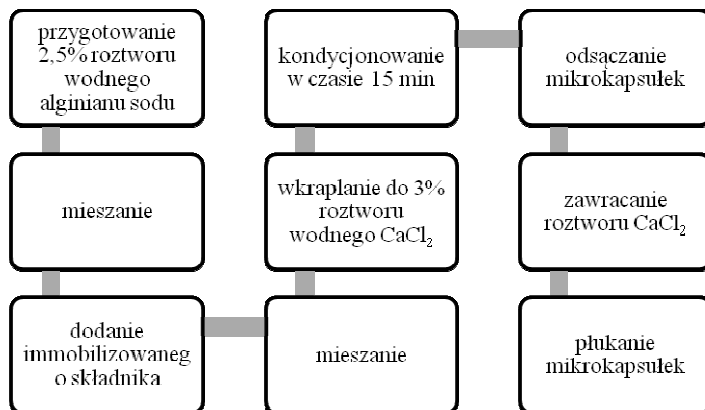
5. Opis procesu immobilizacji oraz prototypowej instalacji

Jednym ze sposobów immobilizacji jest metoda opracowana na Politechnice Częstochowskiej z wykorzystaniem prototypowej instalacji. Służy ona do wytwarzania mikrokapsulek. Jako nośnik został użyty alginian sodu, ponieważ jest nietoksyczny i łatwo dostępny. Czynnikiem polimeryzującym był chlorek wapnia. Procesowi immobilizacji można poddać kwasy huminowe lub bakterie PGPR.

Przed rozpoczęciem produkcji mikrokapsulek należy przygotować wszystkie potrzebne odczynniki. Sam proces unieruchomienia można podzielić na kilka podstawowych etapów:

- 1) wkraplanie roztworu nośnika z unieruchomioną substancją do wodnego roztworu czynnika polimeryzującego,
- 2) kondycjonowanie,
- 3) oddzielenie mikrokapsulek.

Na rysunku 3 przedstawiono przykładowy porządek poszczególnych procesów jednostkowych, które należy przeprowadzić, aby proces immobilizacji przebiegł prawidłowo.



Rys. 3. Schemat przedstawiający operacje jednostkowe podczas procesu immobilizacji (opracowanie własne na podstawie projektu instalacji)

Fig. 3. Schematic diagram showing unit operations during the immobilization process (own elaboration based on the installation design)

Operacje jednostkowe

A. Przygotowanie wodnego roztworu alginianu sodu

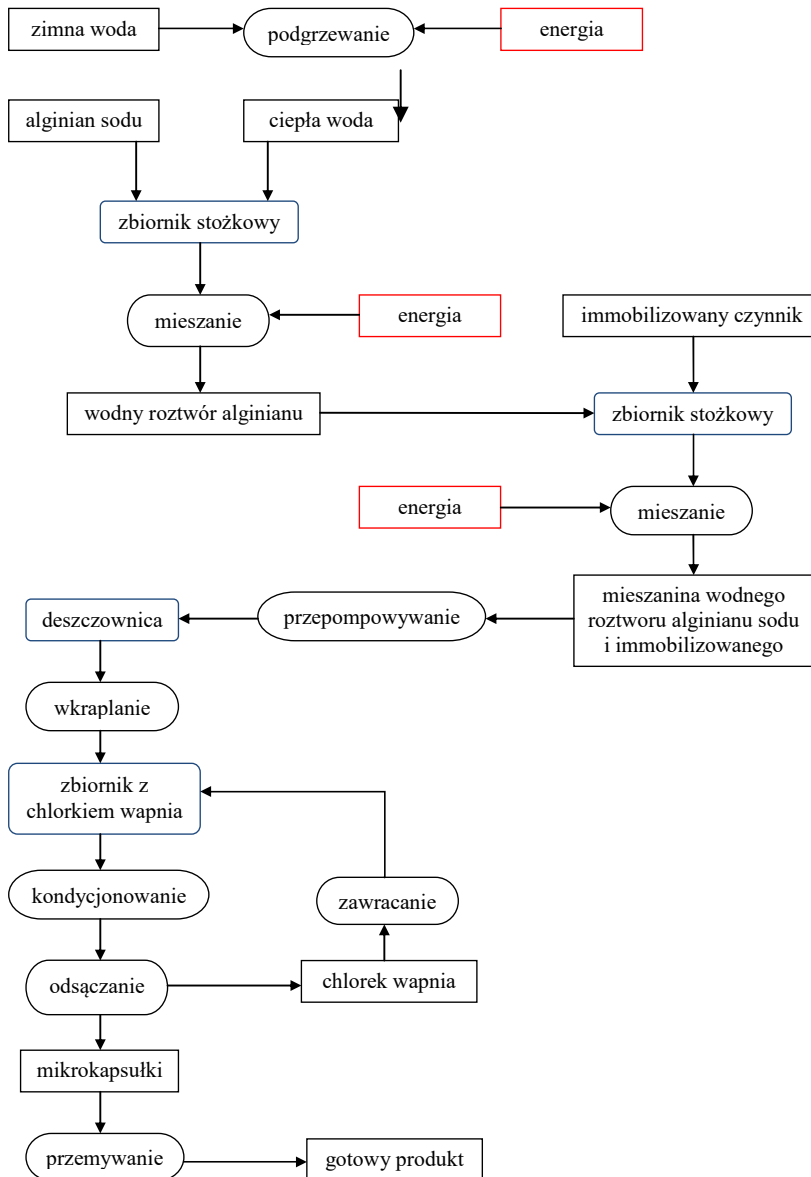
Dla prawidłowego przebiegu procesu należy dodać 10 g alginianu sodu na każde 200 cm³ wody. Odważony alginian sodu dodaje się do wody o temperaturze około 35-45°C i miesza mechanicznie przez mniej więcej godzinę. Zapobiegnie to tworzeniu się grudek, jednocześnie powodując, że alginian sodu szybciej się rozpuści.

B. Przygotowanie wodnego roztworu chlorku wapnia

Zaleca się, aby stężenie chlorku wapnia wynosiło około 3%. Na tej podstawie można obliczyć potrzebną ilość chlorku wapnia, a następnie dodać ją do wody i wymieszać.

C. Przygotowanie immobilizowanego składnika

Instalacja działa w systemie sekwencyjnym, oznacza to, że do przygotowania jednego „wsadu” należy umieścić w zbiorniku z nośnikiem czynnik biologicznie aktywny, jak np. pożądaną ilość kwasów huminowych lub namnożonych mikroorganizmów.



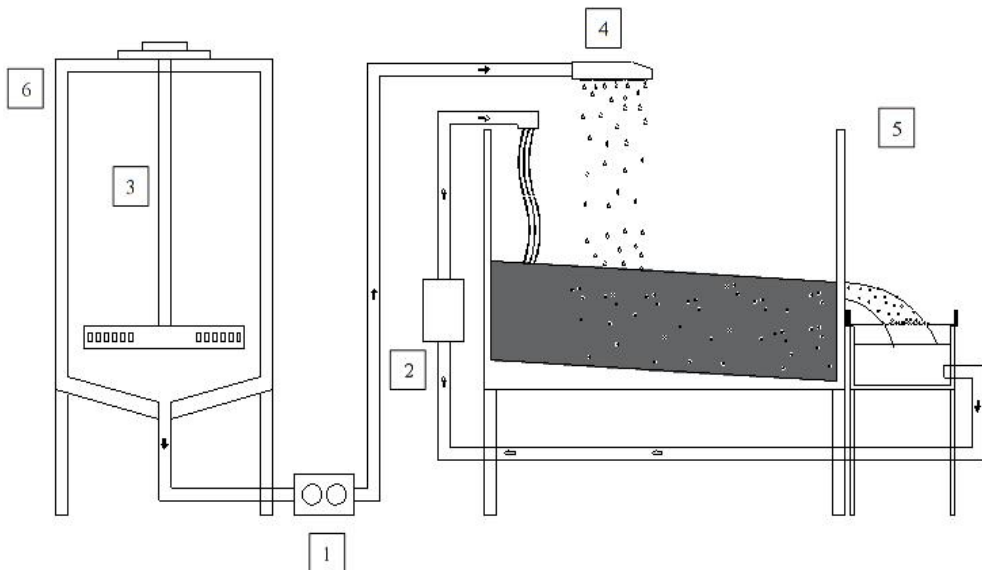
Rys. 4. Schemat ideowy procesu wytwarzania mikrokapsulek (opracowanie własne na podstawie projektu instalacji)

Fig. 4. Schematic diagram of the microcapsule production process (own study based on the design of the installation)

D. Przebieg procesu mikrokapsułkowania

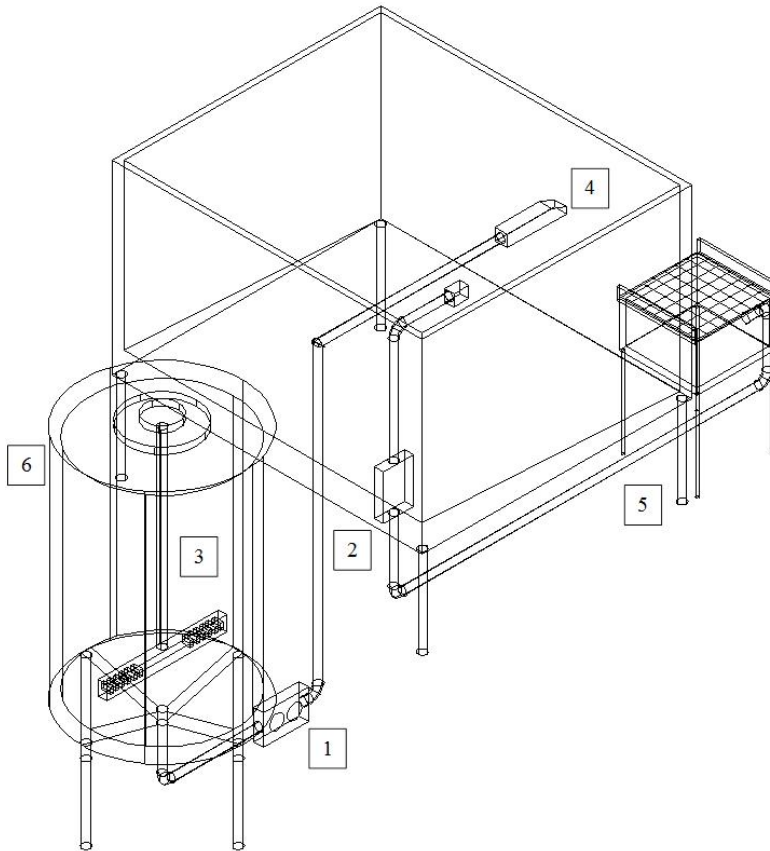
Kolejny etap to zmieszanie powstałego wodnego roztworu alginianu sodu z substancją unieruchamianą przez około godzinę, aby oba składniki dobrze się połączyły. Następnie tak uzyskaną zawiesinę wkrapla się ciśnieniowo za pomocą deszczownicy do wodnego roztworu chlorku wapnia z wysokości mniej więcej jednego metra. Podczas zetknięcia się kropli z chlorkiem wapnia na jej powierzchni dochodzi do procesu sieciowania alginianu sodu za pomocą dwuwartościowych jonów wapnia. Tym samym uzyskuje się zmianę struktury zawiesiny z płynnej na stałą. Uzyskane mikrokapsułki należy kondycjonować w wodnym roztworze chlorku wapnia około 15 minut, a następnie odsączyć i przemyć wodą destylowaną, aby pozbyć się z ich powierzchni resztek chlorku wapnia. Wodny roztwór chlorku wapnia może być ponownie wykorzystany, dlatego jest zwracany do zbiornika. Produkt jest gotowy do pakowania oraz przechowywania. Schemat ideowy procesu został zaprezentowany na rysunku 4.

Projekt instalacji do wytwarzania mikrokapsulek został sporządzony za pomocą programu Autodesk AutoCAD. Znajdujące się poniżej rysunki prezentują projekty 2D (rys. 5) i 3D (rys. 6). Nazwy elementów instalacji przedstawionych na tych rysunkach zamieszczono w tabeli 1. W zależności od gabarytów projektowanej instalacji oraz potrzeb prowadzonego procesu należy odpowiednio dobrać moc stosowanych urządzeń.



Rys. 5. Projekt instalacji do wytwarzania mikrokapsulek (2D) (opracowanie własne)

Fig. 5. Design of the installation for the production of microcapsules (2D) (own study)



Rys. 6. Projekt instalacji do wytwarzania mikrokapsulek (3D) (opracowanie własne)

Fig. 6. Design of the installation for the production of microcapsules (3D) (own study)

Tabela 1. Nazwy elementów instalacji

Table 1. Names of installation elements

Oznaczenie na rysunkach	Element instalacji
1	Pompa główna
2	Pompa odprowadzająca
3	Mieszadło
4	Deszczownica
5	Odbieralnik z wanną do kondycjonowania
6	Zbiornik stożkowy

Podsumowanie

Obecnie zwiększa się zainteresowanie możliwością wytwarzania mikrokapsulek oraz perspektywami ich zastosowania. Zastosowanie mikrokapsulek w procesach

biotechnologicznych może stanowić alternatywę dla tradycyjnych technik. Można wymienić wiele potencjalnych sposobów ich użycia, np. w przemyśle kosmetycznym, spożywczym, medycynie, farmaceutycznym, bioremediacji, wspomaganiu wzrostu roślin. Proponowane użycie powstałych mikrokapsulek zależy od składników poddanych immobilizacji.

Poprzez zastosowanie prototypowej instalacji do wytwarzania mikrokapsulek immobilizacja jest procesem prostym technologicznie, możliwym do realizacji przy niedużych nakładach zasobów. Instalacja ta może być zrealizowana w skali półprzemysłowej po odpowiedniej modyfikacji do prowadzonego procesu mikrokapsułkowania. Daje ona możliwość wprowadzenia na rynek nowych produktów, które ułatwią prowadzenie wielu procesów biotechnologicznych. Mikrokapsułki z zamkniętymi wewnątrz bakteriami PGPR mogą być wykorzystane do stworzenia nowych produktów stosowanych w rolnictwie oraz ogrodnictwie.

Bakterie te wykazują wiele kierunków działań, które można wykorzystać m.in. we wzbogacaniu roślin w niezbędne im składniki odżywcze.

Ciągłe doskonalenie i automatyzacja metody produkcji mikrokapsulek może przyczynić się do zmniejszenia kosztów prowadzonych procesów oraz uzyskania większej ilości produktu w krótszym czasie. Natomiast błąd człowieka można zmniejszyć poprzez wprowadzenie automatyzacji procesu.

Podziękowania

Artykuł przedstawiono na konferencji „Oczyszczalnie ścieków i gospodarka osadowa - uczelnia dla przemysłu”. Konferencja dofinansowana ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego na działalność upowszechniającą naukę, nr 805/P-DUN/2018. Udział w konferencji inż. Adrianny Pawlewicz sfinansowany ze środków na działalność koła naukowego „GeneinUse”. Badania realizowano w ramach projektu TANGO1/266740/NCBR/2015.

Literatura

- [1] Dembczyński R., Jankowski T., Unieruchamianie komórek drobnoustrojów metoda kapsułkowania - stan obecny i możliwości rozwoju tej metody, *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość* 2004, 41(5), 5-17.
- [2] Król D., Kosakowska A., Immobilizowane komórki glonów w ocenie toksyczności miedzi, *Rocznik Ochrona Środowiska* 2009, 11, 1105-1117.
- [3] Nur Royhaila Mohamad, Nur Haziqah Che Marzuki, Nor Aziah Buang, Fahrul Huyop, Roswanira Abdul Wahab, An overview of technologies for immobilization of enzymes and surface analysis techniques for immobilized enzymes, *Biotechnol. Biotechnol. Equip.* 2015, 29(2), 205-220.
- [4] Bonin S., Mikroorganizmy immobilizowane, *Agro Przemysł* 2008, 6, 20-23.
- [5] Danyluk B., Medyński A., Pospiech E., Łyczyński A., Grześ B., Ocena wpływu mikrokapsułkowanego chlorku sodu na stan mikrobiologiczny mięsa ze schabu i z karkówki przechowywanego w warunkach chłodniczych i zamrażalniczych, *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość* 2004, 2, 32-45.
- [6] Bakuła Z., Stachowiak R., Wiśniewski J., Immobilizacja komórek - znaczenie biomedyczne, *Post. Mikrobiol.* 2013, 233-245.

- [7] Bonin S., Zastosowanie mikroorganizmów immobilizowanych w winiarstwie, *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość* 2006, 5-15.
- [8] Chałupka Z., Immobilizowane alfa-amylazy i celulazy w zastosowaniach praktycznych, *Wiadomości Chemiczne* 2016, 70, 5-6, 380.
- [9] Shoichet M.S., Li R.H., White M.L., Winn S.R., Stability of hydrogels used in cell encapsulation: An in vitro comparison of alginate and agarose, *Biotechnol. Bioeng.* 1995, 50, 374-381.
- [10] Dydaktyka Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie, https://cbimo.zut.edu.pl/fileadmin/pliki/cbimo/grafika/Mikrokapsu%C5%82kowanie3__3_.pdf (12.11.2018)
- [11] Bryjda J., Immobilizacja enzymów. Część 1: Metody konwencjonalne, *Wiadomości Chemiczne* 2004, 58, 691-746.
- [12] Bolibok P., Gembala J., Wujak M., Roszek K., Terzyk A.P., Wiśniewski M., Immobilizacja enzymów na nośnikach sposobem na ukierunkowaną modyfikację właściwości biokatalizatorów, *Przemysł Chemiczny* 2016, 95, 2254-2258.
- [13] Bryjak J., Kolarz B.N., Immobilisation of trypsin on acrylic copolymers, *Process Biochemistry* 1998, 33, 409-417.
- [14] Ahmed S.A., El-Shayeb N.M.A., Hashem A.M., Saleh S.A., Abdel-Fattah A.F., Biochemical studies on immobilized fungal β -glucosidase, *Brazilian Journal of Chemical Engineering* 2013, 30, 747-758.
- [15] Magner E., Immobilisation of enzymes on mesoporous silicate materials, *Chemical Society Reviews* 2013, 42, 6213-6222.
- [16] Chen X., Mao S.S., Titanium dioxide nanomaterials: Synthesis, properties, modifications and applications, *Chemical Reviews* 2007, 107, 2891-2959.
- [17] David A.E., Wang N.S., Yang V.C., Yang A.J., Chemically surface modified gel (CSMG): An excellent enzyme immobilization matrix for industrial processes, *Journal of Biotechnology* 2006, 125, 395-407.
- [18] Gao S., Wang Y., Diao X., Luo G., Dai Y., Effect of pore diameter and cross-linking method on the immobilization efficiency of *Candida rugosa* lipase in SBA-15, *Bioresource Technology* 2010, 101, 3830-3837.
- [19] Takka S., Acartürk F., Calcium alginate microparticles for oral administration: III: The effect of crosslink agents and various additive polymers on drug release and drug entrapment efficiency, *Pharmazie* 1999, 54, 137-139.
- [20] Pieleś A., *Algi i alginiany - leczenie, zdrowie, uroda*, Wydawnictwo internetowe e-bookowo.pl, 2010, 43-45.
- [21] Kępska D., Olejnik Ł., Algi - przyszłość z morza, *Chemik* 2014, 68, 11, 967-972.
- [22] Kalitkiewicz A., Kępczyńska E., Wykorzystanie ryzobakterii do stymulacji wzrostu roślin, *Biotechnologia* 2008, 2, 102-114.
- [23] Grobelak A., Napura A., Kacprzak M., Using plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) to improve plant growth, *Ecological Engineering* 2015, 84, 22-28.
- [24] Dąbrowska G., Zdziechowska E., The role of rhizobacteria in the stimulation of the growth and development processes and protection of plants against environmental factors Rola bakterii ryzosferowych w stymulacji procesów wzrostu i rozwoju oraz ochronie roślin przed czynnikami środowiska, *Progress in Plant Protection* 2015, 55(4), 498-506.
- [25] Rabęda I., Woźny A., Krzesłowska M., Bakterie i grzyby mikoryzowe zwiększają wydajność roślin w fitoremediacji metali śladowych, *Kosmos, Problemy Nauk Przyrodniczych* 2011, 60, 423-433.
- [26] Przybulewska K., Kupiec M., Łysko A., Cyglicki R., Liczebność i aktywność mikroorganizmów w glebie spod uprawy kukurydzy w dolinie rzeki Dayi na terenie Ghany, *Woda - Środowisko - Obszary Wiejskie* 2010, 10, 153-158.
- [27] Krosowiak K., Śmigieński K., Kwapisz E., Marchut O., Remediacja gleby zanieczyszczonej węglowodorami naftowymi, *Food Chemistry and Biotechnology* 2008, 72, 1029, 89-97.

- [28] Krzyśko-Łupicka T., Podsiadło Ł., Techniki bioremediacji substancji ropopochodnych i metody oceny ich efektywności, *Inżynieria i Ochrona Środowiska* 2013, 16(4), 459-476.
- [29] Gałązka A., Zanieczyszczenia gleb substancjami ropopochodnymi z uwzględnieniem biologicznych metod ich oczyszczenia, *Kosmos* 2015, 64(1), 145-164.
- [30] Grobelak A., Napura A., Hiller J., Kacprzak M., Analysis of commercialization possibilities of biopreparation „Rhizofertum” for plants growth stimulation in unfavourable soil condisions, *Acta Innovations* 2016, (19), 45-51.

Czestochowa University of Technology, Faculty of Infrastructure and Environment
ul. Brzeźnicka 60A, 42-201 Częstochowa, Poland
e-mail: mkacprzak@is.pcz.pl

Streszczenie

Celem publikacji jest dokonanie charakterystyki przemysłowego procesu immobilizacji substancji aktywnych przeznaczonych do użytku środowiskowego (bioremediacja, rolnictwo). W pracy omówiono wady i zalety unieruchomienia czynników biologicznych. Opisano także stosowane nośniki (głównie jest to alginian sodu) oraz przedstawiono techniki stosowane do przeprowadzenia immobilizacji (z wykorzystaniem nośnika). Omówiono również prototypową instalację do wytwarzania mikrokapsulek, które mogą być stosowane w wielu gałęziach przemysłu, m.in. spożywczym, kosmetycznym, farmaceutycznym. Wyprodukowane mikrokapsułki, w zależności od czynników poddanych immobilizacji (substancje chemiczne lub mikroorganizmy), mogą być stosowane w bioremediacji lub we wspomaganiu wzrostu roślin. Dzięki zastosowaniu mikrokapsulek immobilizowany czynnik oddzielony jest od środowiska reakcji. W przypadku mikroorganizmów skutkuje to wydłużeniem ich żywotności, ponieważ wahania niektórych parametrów procesu (np. temperatura, pH, skład pożywki) nie wpływają na nie bezpośrednio. Immobilizowane mikroorganizmy, takie jak bakterie PGPR, mogą stymulować wzrost roślin poprzez produkcję fitohormonów, zwalczanie patogenów oraz indukcję ich odporności systemicznej. Natomiast wykorzystanie mikrokapsulek z unieruchomionymi mikroorganizmami w procesach bioaugmentacji pozwoli na zapewnienie im optymalnych warunków rozwoju oraz wydłużenie ich żywotności, a poprzez to wydłużyć czas ich działania. Zainteresowanie wykorzystaniem mikrokapsulek alginianowych w procesach biotechnologicznych zwiększa się; stają się one alternatywą dla tradycyjnych technik immobilizacji.

Słowa kluczowe: mikrokapsułki, bioremediacja, wspomaganie wzrostu roślin