

Nanoszál-hordozós biokatalizátorok alkalmazási lehetőségei

TÓTH Gergő Dániel,^a KOPLÁNYI Gábor,^a STUMMER Tamás,^a SEPSIK Normann,^b PARDY Tamas,^c
ENDER Ferenc^{b,d} és BALOGH-WEISER Diána^{a,e,*}

^aBudapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Szerves Kémia és Technológia Tanszék,
Műegyetem rkp.3. 1111, Budapest, Magyarország

^bBudapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Elektronikus Eszközök Tanszék,
Műegyetem rkp.3. 1111, Budapest, Magyarország

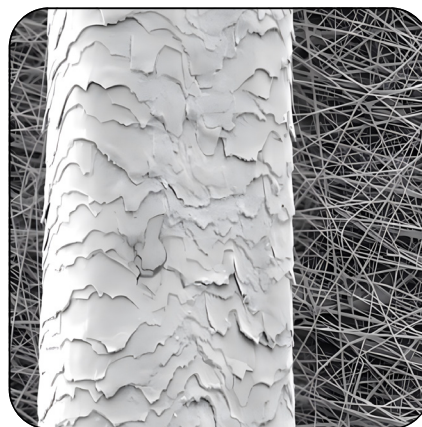
^cTallinn University of Technology, Thomas Johann Seebeck Department of Electronics, School of Information Technologies,
12616 Tallinn, Estonia

^dSpinsplit Kft., Szőlőskert utca 0182/135, 2220, Vecsés, Magyarország

^eBudapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Fizikai Kémia és Anyagtudományi Tanszék,
Műegyetem rkp.3. 1111, Budapest, Magyarország

1. Bevezetés

Az elmúlt években tapasztalt előrelépések a nanotechnológia területén új perspektívákat nyitottak a nanométeres tartományba eső anyagok előállításában és alkalmazásában. Ezen fejlesztések egyik kulcstechnológiája az elektrosztatikus szálképzés (electrospinning), amely gyors és hatékony megoldást kínál különféle, jellemzően lineáris polimerekből álló nanoszálak rendszerek előállítására. Kutatócsoportunk tevékenysége fókuszában az elektrosztatikus szálképzés paramétereinek optimalizálása és az így létrehozott nanoszálak struktúrák fizikai, kémiai és funkcionális jellemzése áll. Emellett kutatómunkánk kiterjed ezen nanoszálak rendszerek alkalmazási lehetőségeinek vizsgálatára, elsősorban az immobilizált enzimekkel végzett szintetikus biokatalízisre, valamint a nanoformulált terápiás enzimeken alapuló gyógyszerészeti alkalmazásokra fókuszálva.



1. Ábra. Elektronmikroszkópos felvétel egy emberi hajszálról ($\varnothing \approx 70 \mu\text{m}$), amely keresztben fekszik egy elektrosztatikus szálképzéssel előállított nanoszál ($\varnothing \approx 200 \text{ nm}$ szövedéken)l.

2. Nanoszálak: mint innovatív szerkezeti elemek

A nanotechnológia dinamikus fejlődése új távlatokat nyitott a nanoanyagok számtalan formájának előállításában és alkalmazásában. Ezek sokféle morfológiát vehetnek fel, legyen szó egyszerű gömbökről, szálakról, szalagokról vagy rudakról. A nanoszálak olyan egyedülálló szerkezetű anyagok, amelyek keresztmetszeti átmérője nanométer-skálán (általában 1–1000 nm) helyezkedik el – hozzávetőleg az emberi hajszál átmérőjének századrésze (1. ábra) –, miközben hosszuk több nagyságrenddel meghaladja szélességüket^{2–4}. Ezen ultravékony szálak előállításának egyik legelterjedtebb módszere az elektrosztatikus szálképzés (*electrospinning*), amely során a folyadék fázisú polimer prekursor elegy cseppje elektromos tér hatására finom folyadék sugárrá formálódik, majd a szilárd halmazállapotú szálak képződése közben a szolvens pillanatszerűen elpárolog². E struktúrák kiemelkedő fizikai-kémiai tulajdonságokkal rendelkeznek, mint például az extrém nagy fajlagos felületük (akár $100 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$), magas porozitásuk és mechanikai rugalmasságuk, amik lehetővé teszik alkalmazásukat számos területen⁵.

3. Nanoszálak alkalmazási területei

A polimer alapú nanoszálak alkalmazása rendkívül széleskörű a modern tudományos és ipari gyakorlatban. Az elektrosztatikus szálképzéssel előállított polimer nanoszálak kiemelkedő szerepet játszanak az orvosbiológiai alkalmazásokban, köszönhetően annak, hogy szerkezetükben hasonlítanak a természetes szövetek extracelluláris mátrixához^{6,7}. E tulajdonságuknak köszönhetően kiválóan alkalmazhatók sebkezelésben⁷, szövetmérnökségben⁶, valamint gyógyszerhatóanyag-hordozó rendszerekként⁸. Az intelligens, különböző stimulusokra (pl.: fény, hőmérséklet, pH, mágneses tér) reagáló nanoszálak célzott és szabályozott hatóanyag-leadást tesznek lehetővé⁹. A biomedicinális alkalmazásokon túl a polimer nanoszálak számos más területen is jelentős potenciállal bírnak. Az élelmiszeripari csomagolástechnikában használva javíthatják a termékek eltarthatóságát, valamint hosszútávon megőrizhetik azok minőségét¹⁰.

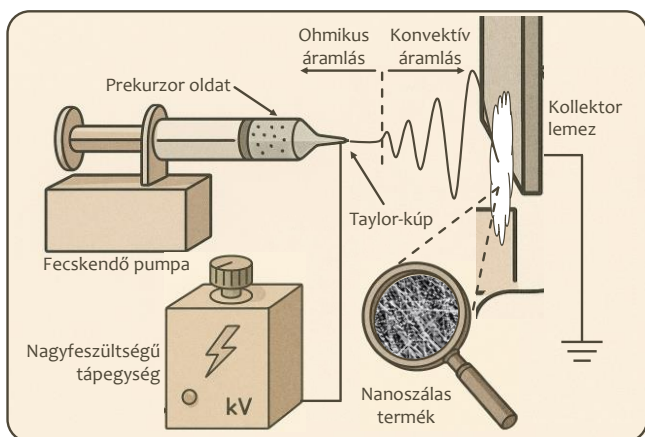
* Balogh-Weiser Diána. Tel.: +36 1 463 2229; e-mail: balogh.weiser.diana@vbk.bme.hu

A nanoszálás hordozókra rögzített katalizátorok kiemelkedően hatékonyak az ipari katalízisben területén is, ugyanis nagy specifikus felületük, kiváló mechanikai stabilitásuk és az egyszerű újra felhasználhatóságuk lehetővé teszik a folyamatok költséghatékony optimalizálását. Ezek a rendszerek felhasználhatók többek közt savkatalízishez¹¹ vagy hidrogénezési reakciókban¹².

Kiváló szűrési tulajdonságaik révén aeroszol szűrésre¹³, vízkezelésre és fémion adszorpcióra^{14,15} is alkalmasak, továbbá porózus membrán formájában különböző szeparációs folyamatokban hasznosíthatók. Az elektromágneses interferencia árnyékolásban is előnyösen alkalmazhatók a fémrészekkel módosított nanoszálak¹⁶, míg speciális összetételű nanoszálás rendszerek érzékelőkben¹⁷ és energiátároló eszközökben, például szuperkondenzátorokban¹⁵ is megtalálhatók.

4. Elektrosztatikus szálképzés

Az elektrosztatikus szálképzés napjainkban az egyik legdinamikusabban fejlődő eljárásként tartandó számon, amely alkalmas nagy fajlagos felületű, szubmikronos, illetve nanoskálájú polimer szálak előállítására¹⁸. A technológia jelentősége abban rejlik, hogy alkalmazása lehetővé teszi különféle bioaktív anyagok (például gyógyszerhatóanyagok, fehérjék vagy más biomolekulák) immobilizálását és stabilizálását¹⁹, mindezt külön segéd- vagy hordozóanyagok használata nélkül. Az eljárás során magas feszültségű elektromos tér hatására oldott vagy olvadt halmazállapotú polimerekből nanoszálak képződnek, amelyek a folyamat végén szilárd halmazállapotban, strukturált, random rendeződve vagy orientált módon gyűlnek össze egy földelt gyűjtőfelületen (kollektor)²⁰.



2. Ábra. Laboratóriumi elektrosztatikus szálképző berendezés sematikus ábrája.

A 2. ábrán látható az elektrosztatikus szálképzés folyamatának sematikus ábrája. A folyamat jellemzően zárt térben történik, ahol a polimer oldatot egy pozitív elektromos potenciálra kapcsolt ún. emitter-tű végére juttatják szabályozott adagolási sebességgel. Az emitter hegyén kialakuló

folyadékcsepp az elektromos tér hatására töltést vesz fel, és alakja a felületi feszültség és az elektrosztatikus taszító erők kölcsönhatása révén kúpszerű formát ölt, amelyet Taylor-kúpnek nevezünk²¹. Amennyiben az elektromos tér által kifejtett elektrosztatikus húzóerő meghaladja a csepp egyben tartó felületi feszültséget, a Taylor-kúp csúcsából egy folyadéksugár (*polymer-jet*) indul ki, amely a tér nulla potenciálú végpontja, azaz a kollektor irányába halad. A *jet* kialakulásának és stabilitásának egyik alapvető feltétele a polimerláncok közötti megfelelő kohéziós erő fennállása. Alacsony kohéziós erő esetén az anyagáramlás instabillá válik, és a folyamat során diszkrét polimer-cseppek lépnek ki az emitterből, míg túlzott kohézió esetén az elektromos tér nem képes legyőzni a belső kötőerőket, aminek következtében a csepp megnövekszik, majd hirtelen, nagyobb tömegben válik le.²² A *jet* mozgása a kilépési ponttól távolodva fokozatosan gyorsul. A kezdeti szakaszban a rendszer viselkedése ohmikus áramlásként írható le, ahol a stabil folyadékszáll jellemzőit a felületi feszültség és a polimerláncok közötti elektrosztatikus taszító kölcsönhatások egyensúlya határozza meg. A folyadékszállban található töltéssel rendelkező polimer molekulák idővel a szál felületére migrálnak, ahol a hasonló töltések közötti taszító erő hatására a *jet* „ostorszerű” mozgást végez²³. Ennek következtében az áramlás dinamikája megváltozik, és konvektív áramlási szakaszba lép át, amelyet tovább növekvő sebesség és komplex pályaváltozások jellemeznek. Az ostorszerű mozgás és a megnövekedett áramlási sebesség hatására a szál jelentősen megnyúlik, fajlagos felülete nagymértékben megnő, ami elősegíti az oldószer gyors elpárolgását. A folyadékszáll szilárd nanoszálá válni átalakulása tehát az anyag gyors nedvesség- vagy oldószervesztésének eredményeként megy végbe, amelynek végállapotaként a nanoszálak szilárd halmazállapotban, véletlenszerű vagy rendezett struktúrában csapódnak ki a kollektor felületén^{24,25}.

Az elektrosztatikus szálképzési technológia többféle elrendezésben valósítható meg, amelyek alapvetően túalapú és tüntes rendszerekre oszthatók²⁶. A túalapú konfigurációkban az emitter rendszerint szűk átmérőjű tű vagy kapilláris, míg a tüntes eljárások a szálképzést szabad folyadékfelszínről valósítják meg²⁷. A túalapú rendszerek továbbá orientációjuk szerint vertikális vagy horizontális elrendezésűek lehetnek. A vertikális elrendezés lehetőséget kínál fentről-lefelé irányuló (tengelyes) vagy lentől-felfelé működő (fordított) szálképzésre²⁸.

4.1. A szálképzés főbb paraméterei

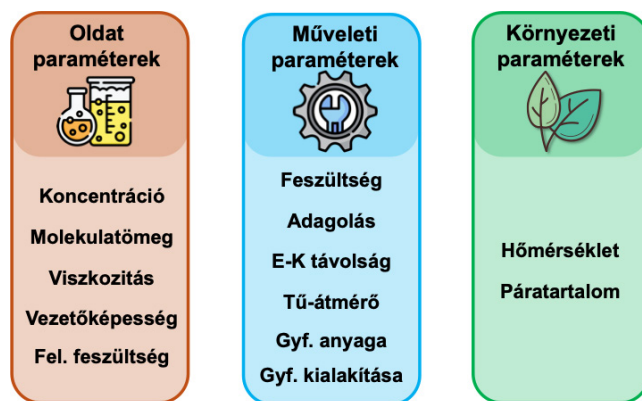
Az elektrosztatikus szálképzés során számos paraméter beállítása szükséges annak érdekében, hogy a kapott szálak termék morfológiája és mennyisége megfelelően a kívánt jellemzőknek, melyek közül a legfontosabbakat a 3. ábra foglalja össze. Ezen paraméterek hatása komplex és egymással szorosan összefüggő rendszert alkot, amely három fő kategóriába sorolható: oldatparaméterek, műveleti paraméterek és környezeti paraméterek²⁵.

Az oldatparaméterek közé tartozik a polimer elegy koncentrációja, molekulatömege, viszkozitása, vezetőképessége, valamint a felületi feszültség, amely az emitter-hegyen kialakuló folyadékcsapp felszínén érvényesül. Ezek közül kiemelkedő szerepet játszik a molekulatömeg²⁹, a koncentráció³⁰ és a viszkozitás^{31,32}, melyek egymással szoros kölcsönhatásban állnak, így hatásukat kizárólag együtt vizsgálva értelmezhetjük. A polimer molekulatömege a lánc hosszúsággal arányosan növekszik, ami fokozza a polimerláncok közötti kölcsönhatásokat és elősegíti a stabil, folytonos polimersugár kialakulását. A nagyobb molekulatömegű polimer oldatokban megnövekszik a makromolekulák térkitöltése, ezáltal nő a kohézió, ami elengedhetetlen a stabil szálképződéshez. A magasabb molekulatömeg és koncentráció fokozott viszkozitással jár, amely alapvető feltétele a szálképződésnek. Ugyanakkor, ha ezen paraméterek értéke túl alacsony, a keletkező kohéziós erők nem elegendőek a folytonos anyagátadáshoz, és az oldat nem képez szálát, hanem cseppek termékként (*electrospraying*) jelenik meg. Túl magas értékek esetén viszont a folyadék nem képes Taylor-kúpot alkotni, és a szálképzés meghiúsul^{29,33,34}. A vezetőképesség a szálképzés egyik meghatározó paramétere, amely növelhető ionizáló adalékok, például sók hozzáadásával. A magasabb vezetőképesség nagyobb töltéshordozó kapacitást eredményez, ezáltal stabilabb és megnyúltabb folyadéksugarat biztosít, amely vékonyabb, egyenletesebb szálakat eredményez. Ezzel szemben az alacsony vezetőképesség instabil *jet*-et, szabálytalan morfológiát és gyöngyképződést eredményezhet.^{35,36} A felületi feszültség az oldatból kilépő polimersugár stabilitására van jelentős hatással. A magas felületi feszültség megnehezíti a Taylor-kúp kialakulását, és elősegíti a cseppképződést, amely szintén gyöngyös szerkezet kialakulásához vezet. Ennek megelőzésére a felületi feszültség csökkentése szükséges, különösen a gyöngymentes szálak előállítása érdekében³⁷.

Az alkalmazott elektromos feszültség alapvető feltétele az elektrosztatikus szálképzésnek, mivel ez biztosítja a polimersugár elindításához szükséges elektrosztatikus erőket. A feszültség növelése elősegíti a stabil Taylor-kúp és polimersugár kialakulását, azonban túl magas érték instabilitást, szabálytalan morfológiát vagy gyöngyképződést okozhat³⁰. Az adagolási sebesség a szál vastagságára és morfológiájára gyakorol hatást. A túl magas áramlási sebesség csökkenti az oldószer elpárolgásához szükséges időt, így vastagabb és hibás szálak képződhetnek. A Taylor-kúp csak bizonyos áramlási sebesség-intervallumon belül képes stabilan kialakulni³⁸. Az emitter-hegy és a kollektor közötti távolság (*Emitter-kollektor távolság*, EKT) meghatározza a polimersugár útvonalát és ezzel együtt az oldószer elpárolgásához rendelkezésre álló időt. A távolság növelése javíthatja a szálak morfológiai egyenletességét, azonban túl nagy érték inhomogén szerkezethez vezethet. A laboratóriumi körülmények között alkalmazott optimális távolság jellemzően 10–20 cm közé esik^{39,40}. Az emitter-hegy átmérője befolyásolja az áramlás sebességét és a nyomásesés mértékét. Kis átmérő esetén vékonyabb szálak képződnek, és a nagy viszkozitású oldatok is könnyebben feldolgozhatók.

A túl nagy átmérő azonban a prekursor elegy kiszáradását okozhatja az emitter-hegy peremén, amely duguláshoz és a folyamat megszakadásához vezethet^{41,42}. A kollektor anyaga és kialakítása szintén befolyásolja a szálképzés eredményét. A leggyakrabban használt alumíniumfólia kiváló vezetőképessége miatt ideális választás, de alkalmazhatók egyéb vezetőképes anyagok is, mint például textíliák, drótháló vagy papír^{37,43}. A forgó dobos kollektor kisebb szálmérőt és homogénebb szerkezetet eredményezhet, továbbá lehetőséget biztosít a szálak orientációjának szabályozására. A kollektor mérete hatással van a szálak eloszlására és az elektrosztatikus tér alakulására, azonban jelentősége másodlagos a többi paraméterhez képest, mivel hatása főként magasabb rendű, komplex tényezők függvénye⁴⁴.

A hőmérséklet az elektrosztatikus szálképzés számos fizikai és kémiai folyamatát befolyásolja, többek között a polimerkristályosságot, a láncok konformációját, az oldat viszkoelasztikus tulajdonságait és az oldószer párolgását. A hőmérséklet növekedése jellemzően csökkenti a szálak átmérőjét, ugyanakkor a túlzott hőmérséklet kedvezőtlen morfológiai változásokat is eredményezhet⁴⁵. A relatív páratartalom szintén meghatározó szerepet játszik a szálak termék szerkezetében. Magas páratartalom esetén az oldat nedvességtartalma lassabban csökken, ami gyöngyös, összeolvadó szálrészeket és porózus, gyapjúszerű szerkezetet eredményez. Alacsony páratartalom esetén finomabb és simább szálak jönnek létre, bár ezek előállítása lassabb lehet^{37,46}.

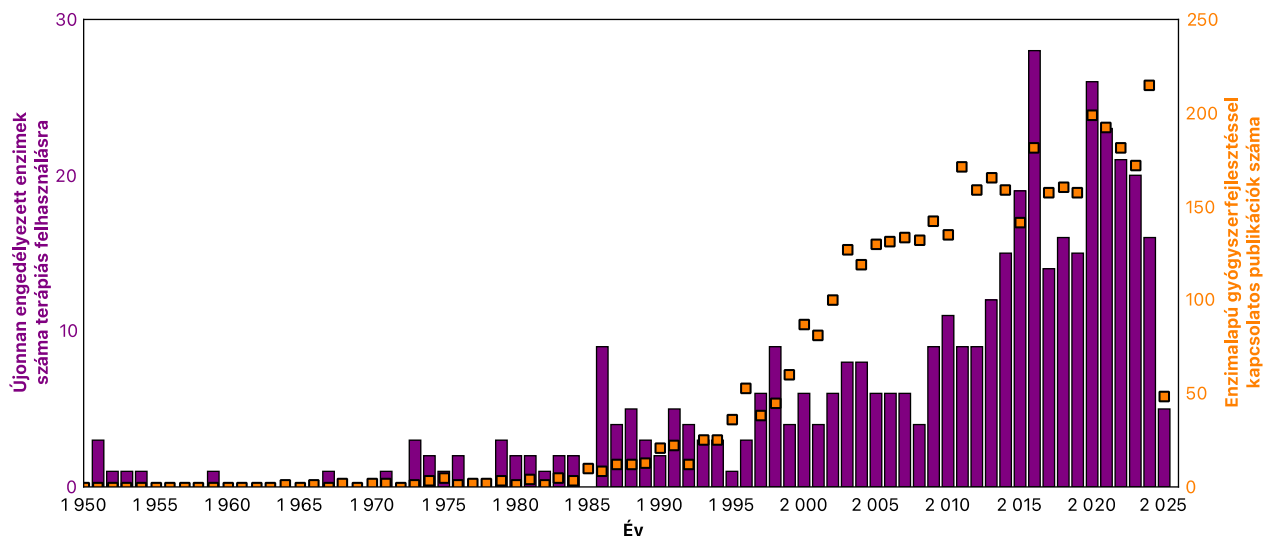


3. Ábra. Az elektrosztatikus szálképzést befolyásoló legfontosabb paraméterek. A folyamat sikeres kivitelezését, valamint a kialakuló termék jellemzőit az oldat tulajdonságai, a műveleti paraméterek, valamint a környezeti tényezők együttesen határozzák meg. (E-K: Emitter-Kollektor; Gyf.: Gyűjtőfelület, Fel. feszültség: Felületi feszültség)

Összességében elmondható, hogy a sikeres elektrosztatikus szálképzés érdekében minden paraméter optimális tartományban történő beállítása szükséges, figyelembe véve azok kölcsönhatásait és határértékeit. A paraméterek integrált, rendszerszintű szemléletű kezelése alapvető feltétele a reprodukálható és megfelelő minőségű nanoszálak anyagok előállításának.

5. Biokatalizator mint terápiás eszköz

Az enzimek, mint biokatalizátorok, kulcsszerepet játszanak az élő szervezetek biokémiai folyamataiban⁴⁷. Ahogy ezt a 4. ábra is mutatja, egyre növekvő figyelem övezi az enzimek terápiás alkalmazását, mivel kivételes specificitásuk, szelektivitásuk és biológiai aktivitásuk révén lehetőséget kínálnak célzott, mellékhatásoktól mentes kezelések kifejlesztésére. Az enzimalapú terápiák különösen fontosak genetikai eredetű betegségek, anyagcsere-rendellenességek, daganatos elváltozások és immunológiai kórképek kezelésében⁴⁸.



4. Ábra. Az enzim alapú gyógyszerfejlesztéssel kapcsolatos publikációk száma, valamint újonnan engedélyezett enzimhatóanyagok éves száma 1950 és 2025 között. A publikációk számának meghatározásához a PubMed adatbázisban a „Title/Abstract” mezőre szűkítve, az „enzyme therapy, drug and treatment” kulcsszavakra keresve történt a lekérdezés. Az engedélyezett enzimek számát a DrugBank Online adatbázisban szereplő, enzimeket tartalmazó gyógyszerek elsőként jóváhagyott változatának engedélyezési dátuma alapján határoztuk meg⁵¹.

Az enzimterápia alkalmazása azonban komoly kihívásokkal is szembesül. A fő nehézségek közé tartozik az enzimek rövid biológiai felezési ideje, érzékenyséjük a hőre és *pH*-változásokra, immunválaszt kiváltó potenciáljuk, valamint az alacsony célzott hatékonyság^{49,52}. Ráadásul a szisztémásan (pl. intravénásan) alkalmazott enzimek gyakori adagolást és egészségügyi háttérinfrastruktúrát igényelnek, ami jelentős terhet ró a betegekre⁵³.

E problémák áthidalására korszerű megoldási lehetőséget nyújtanak a nanoformulációs technológiák. Ezek lényege, hogy az enzimeket különböző nanoszerkezetű hordozókkal (például nanorészecskékkkel, nanokapszulákkal, vagy nanoszálakkal) immobilizálják. Ezáltal növelhető az enzimek stabilitása, meghosszabbítható a biológiai aktivitásuk időtartama, valamint mérsékelhető immunogenitásuk⁵⁴. Például α -glükózidázt mágneses nanorészecskékhöz rögzítve sikeresen használtak Pompe-kór kezelésére, míg L-aszparaginázt PEG-ilált (PEG: polietilén-glikol) nanoliposzómákba ágyazva hatékonyan alkalmaztak leukémia esetén^{55,56}.

A nanoformuláció egyik különösen ígéretes megközelítése az elektrosztatikus szálképzéssel előállított nanoszálás

Kiemelkedő példája a terápiás enzimek alkalmazásának az enzimhelyettesítő terápia (ERT), mely során a szervezetből hiányzó vagy hibásan működő enzimek pótlásával korrigálják az anyagcsere-folyamatokat⁴⁹. Az ERT különösen sikeresnek bizonyult lizoszomális tárolási betegségek – például Gaucher-, Fabry- és Pompe-kór – kezelésében. Az ilyen terápiák hosszabb távon nemcsak a tünetek enyhítésére, de a betegségek progressziójának lassítására is alkalmasak⁵⁰.

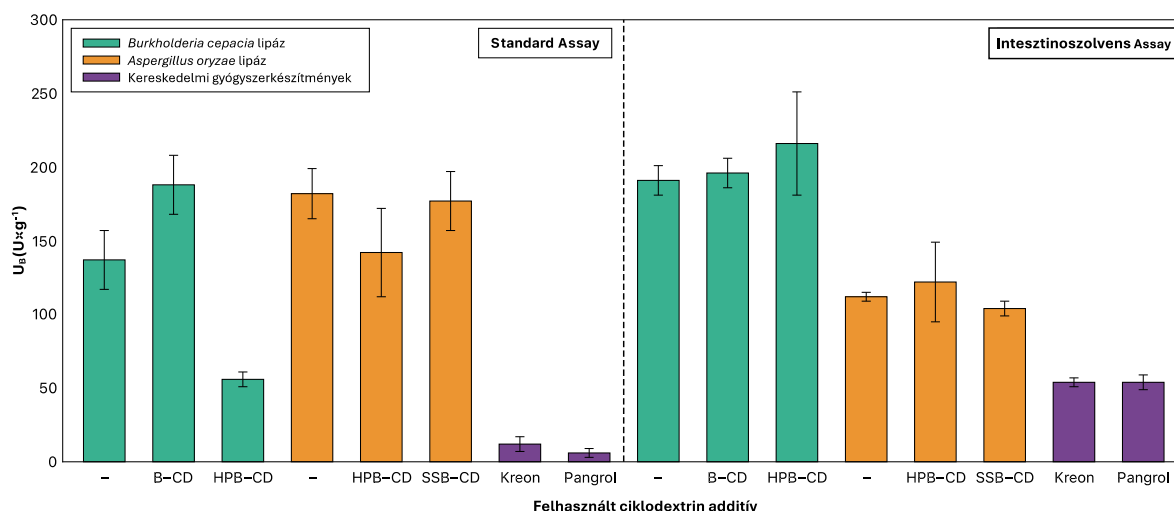
mátrixok alkalmazása. A folyamat során képződő, nanoszálakból felépülő szövetek nagy fajlagos felületű, porózus mátrixot alkot, amely kitűnően alkalmazható terápiás enzimek hordozójaként. Amennyiben a szálképzéshez használt polimer prekursor oldathoz enzimeket adagolunk, azok a szálképzés során beépülnek a megszilárduló polimer nanoszálakba, így egy szilárd halmazállapotú, nanoszálás enzimformula jön létre^{57,58}.

Az ilyen nanoszálás formuláció számos előnyt nyújthat az enzimterápiák terén. Egyrészt a polimer mátrix fizikailag védi az enzimet a denaturáló hatásoktól, melynek köszönhetően jelentősen nő az enzim stabilitása (például javul a tárolhatóság vagy a gyomorsavval szembeni ellenállás)⁵⁹. Másrészt a nanoszálás szerkezet és az immobilizáció következtében az enzimaktivitás is fokozódhat: kutatócsoportunk kísérletei során számos esetben tapasztaltuk, hogy a nanoszálakba ágyazott enzimek aktivitása többszörösen meghaladta a szabad (natív) enzimekéét. A nanométeres szálás hordozóformának köszönhetően lehetőség nyílik az enzimek újszerű adagolására, beleértve az orális (szájon át történő) alkalmazást, a helyi (topikális) dermális kezeléseket, sőt akár kombinált terápiás rendszerek kialakítását is, például az enzim egy másik gyógyszerhatóanyaggal együtt

történő alkalmazását⁵¹. Szintén kiemelendő, hogy az elektrosztatikus szálképzés rugalmasan adaptálható különböző polimerek használatával: csoportunk munkája során vízzoldható polimerekből, úgymint poli(vinil-alkohol) (PVA) és poli(vinil-pirrolidon) (PVP), valamint vízben nem oldódó, biokompatibilis polimerekből (például politejsav, PLA) egyaránt sikeresen állítottunk elő enzimtartalmú nanoszálakat^{60,61}. Szükség esetén további stabilizáló, vagy enzimaktivitást fokozó segédanyagok is beépíthetők a formulációba.

Kutatócsoportunk munkájának egyik fő célja olyan nanoszál enzimformulációk kifejlesztése volt, amelyek alkalmazhatók lehetnek orális emésztőenzim-helyettesítő terápiában. Ebből a célból elsőként az ilyen terápiákban leggyakrabban alkalmazott lipáz, a sertés hasnyálmirigy lipáz (*PpL*) nanoformulálását valósítottuk meg elektrosztatikus szálképzéssel. A formulálás során különböző nanoszál mátrixokat alakítottunk ki: vízzoldható poli(vinil-alkohol) (PVA), poli(vinil-pirrolidon) (PVP) és vízzoldhatatlan politejsav (PLA) polimereket felhasználva. Eredményeink alapján a nanoszál formuláció minden esetben jelentősen növelte a *PpL* aktivitását a szabad enzimhez képest, melyek közül a legmagasabb aktivitásértéket a PLA-mátrixba rögzített készítmények esetében mértük. Ezek az értékek

elérték, sőt esetenként meg is haladták a kereskedelmi forgalomban kapható referencia *PpL* készítmények aktivitását, ami alátámasztja, hogy a nanoszál formuláció ígéretes megközelítés lehet az orális lipázterápia hatékonyságának növelésére. A projekt következő fázisában olyan vízzoldható nanoszál rendszerek fejlesztésére törekedtünk, amelyek a PLA-alapú formulákhoz hasonlóan magas enzimaktivitást biztosítanak. Korábbi eredményeinkre építve két jelentős terápiás potenciállal rendelkező lipázt – *Aspergillus oryzae* és *Burkholderia cepacia* lipázok – immobilizáltunk PVA nanoszálakba. A specifikus aktivitás további növelése érdekében pedig különböző ciklodextrin alapú stabilizáló adalékokat ko-formuláltunk a lipázokkal. Az így létrehozott formulációk minden tesztelt körülmény között lényegesen meghaladták a referencia-készítmények aktivitását (lásd 5. ábra). Eredményeink azt is igazolták, hogy a ciklodextrinek nemcsak fokozzák az enzimaktivitást, hanem elősegítik az lipázok egyenletes eloszlását a nanoszál mátrixban. Mindez alátámasztja, hogy a ciklodextrinek alkalmazása jelentősen javíthatja a nanoszál enzimformulációk terápiás hatékonyságát^{61,62}.



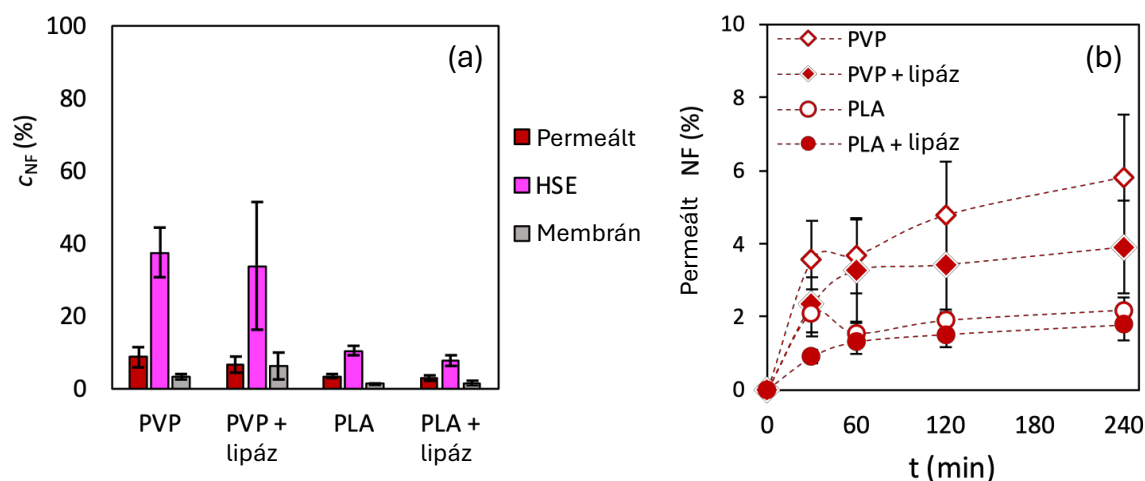
5. Ábra. Nanoszál lipázformulációk és kereskedelmi pankreatin készítmények specifikus aktivitásának összehasonlítása *p*-nitrofenil-palmitát (*p*-NPP) szubsztrát hidrolízise során (U_B , $U \times g^{-1}$, 37°C, 1 óra). A mérések a lipázaktivitás kifejezését segítő standard és a felhasználás körülményeit szimuláló FeSSIF (*Fed State Simulated Intestinal Fluid*) közegben történtek. A nanoszál rendszerek különböző ciklodextrineket (B-CD: β -ciklodextrin, HPB-CD: 2-hidroxiopropil- β -ciklodextrin, SSB-CD: szulfobutilált- β -ciklodextrin) tartalmaztak⁶².

Egy másik kutatási projektünk célja egy topikális alkalmazásra szánt, kombinált hatásmechanizmusú nanoszál gyógyszerhordozó rendszer kifejlesztése volt, amely alkalmas a *Propionibacterium acnes* által kiváltott *acne vulgaris* kezelésére. A projekt során háromrétegű nanoszál arcmaszkokat állítottunk elő elektrosztatikus szálképzéssel, vízzoldható (PVP) és vízzoldhatatlan (PLA) polimerek felhasználásával. Az arcmaszkokba *Candida rugosa* és *Rhizomucor miehei* eredetű lipázok, valamint a nadifloxacin nevű antibiotikum együttes formulációját valósítottuk meg. A készítményben található lipázok feladata a bőrfagy-

gyú fő zsírsavészterének lebontása volt, elősegítve ezzel a nadifloxacin mélyebb penetrációját az epidermiszbe, míg az antibiotikum közvetlenül célzott a gyulladásért felelős baktériumokat. Az immobilizált enzimek minden vizsgált zsírsavészter hidrolízisében magas biokatalitikus aktivitást mutattak, különösen a PLA alapú nanoszálakban, amelyek hidrofób jellege stabilabb enzimkészítményt eredményezett. A háromrétegű maszkokban az együttesen formulált lipázok kombinációja kiegyensúlyozott aktivitást biztosított a vizsgált szubsztrátok teljes spektrumán. A bőrön át történő hatóanyag-leadás vizsgálata ex vivo Franz-diffúziós cel-

lával történt humán epidermisz mintán, amely igazolta a nadifloxacin sikeres penetrációját: a PVP-alapú maszk gyors, míg a PLA-alapú maszk elnyújtott hatóanyagleadást biztosított, ahogy az a 6. ábrán is látható. Összegzőként az előállított nanoszálás maszkok kedvező kombinációját nyújtják a mechanikai stabilitásnak, a hangolható hatóanyagleadásnak és az enzimaktivitás fenntartásának, így alapjául szolgálhatnak olyan bőrgyógyászati terápiáknak, ahol egyidejű antimikrobiális és lipolitikus hatás szükséges⁶³.

Összességében az enzimalapú terápiák jövője szorosan összefonódik a nanotechnológia fejlődésével. A nanoszálás rendszerek új távlatokat nyitnak a hatékonyabb, célzottabb és felhasználóbarátabb gyógyszerformák fejlesztésében, különösen az olyan érzékeny hatóanyagok esetén, mint a terápiás enzimek.



6. Ábra. A nanoszálás formulákban rögzített nadifloxacin (NF) bőrön át történő penetrációjának vizsgálata hővel leválasztott humán epidermiszen (HSE), topikális-transzdermális Franz-diffúziós cella segítségével. (a) A NF koncentrációja 24 órás inkubáció után az akceptor fázisban, az epidermiszben és a membránban; (b) az NF átjutott mennyisége egy 4 órás periódus során⁶³.

6. Biokatalizátor mint szintetikus kémia eszközei

Az enzimek – mint biokatalizátorok – számos előnyt kínálnak a hagyományos kémiai katalizátorokhoz képest. Egyrészt, segítségükkel gyakran enyhe (vízbázisú, szobahőmérsékletű) és környezetbarát reakciókörülmények között valósítható meg a kívánt átalakítás, minimalizálva a veszélyes vegyszerek és melléktermékek használatát⁶⁴. Másrészt, az enzimkatalizált reakciók kiemelkedő szelektivitással – többek között enantioszelektivitással és regio-szelektivitással – zajlanak, lehetővé téve királis vegyületek (pl. aminosavak, aminok) hatékony előállítását^{65,66}. Számos ipari területen alkalmaznak enzimeket a szintetikus folyamatokban, a finom-kémiai termékek gyártásától a gyógyszeriparon át a biodízel előállításáig^{67,68}.

Bár az enzimek rendkívül hatékony katalizátorok, alkalmazásukat számos kihívás nehezíti. Az izolált enzimek gyakran instabilak a természetes környezetükön kívül, érzékenyek a hőmérséklet-ingadozásra, pH -eltérésekre és a szerves oldószerek jelenlétére^{69,70}. Ezen túlmenően a szabad formában alkalmazott enzimek újrafelhasználhatósága korlátozott, mivel nehéz őket visszanyerni a reakcióelegyből, ami gazdaságtalanná teheti az eljárást. Mivel a tisztított enzimfehérjék előállítása jelentős költségekkel jár, stabilitásuk és újrafelhasználhatóságuk biztosítása elengedhetetlen a fenntartható ipari alkalmazásukhoz⁷¹.

Számos kutatás foglalkozott nanoméretű hordozók alkalmazásával az enzimstabilitás javítása érdekében⁵⁹. A szilí-

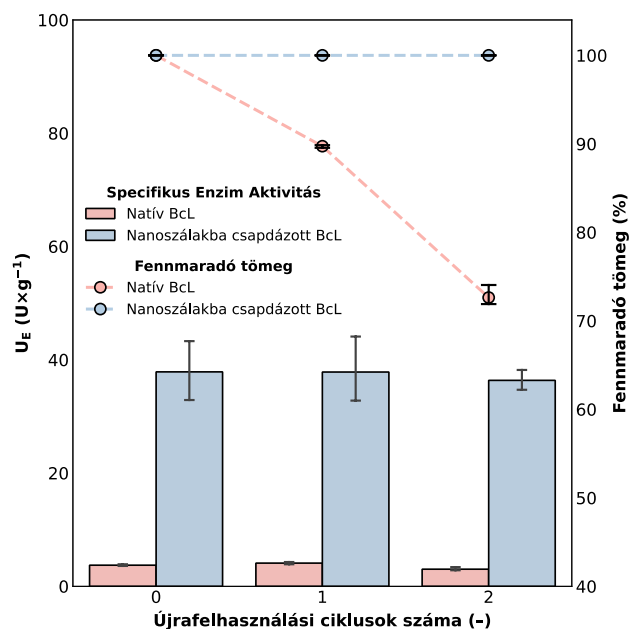
cium-dioxid alapú nanorészecskék (szilikagél, mezopórusos szilika stb.) különösen elterjedtek és ipari méretekben is beváltak az enzimek immobilizálására. Ezenkívül számos fém-oxid nanohordozót (pl. titán-dioxid, cink-oxid) is alkalmaznak, melyeket gyakran felületmódosítással tesznek alkalmassá az enzimmolekulák megkötésére⁷². Köztük a mágneses nanorészecskék – például vas-oxid (magnetit) – azért vonzóak, mert külső mágneses tér segítségével egyszerűen visszanyerhetők a reakcióelegyből. Az ilyen nanorészecske-hordozók nagy fajlagos felülete nemcsak a magas enzimkötési kapacitást segíti elő, hanem a fehérjék konformációjának stabilizálásához is hozzájárul; kimutatták például, hogy nano-hordozón történő rögzítés csökkenti az enzim kicsapódását és növeli a katalizátor hő- és pH stabilitását⁷³.

Az elektrosztatikus szálképzéssel előállított polimer nanoszálak rendkívül nagy fajlagos felülettel és belső porozitással rendelkeznek, amelyek magas enzimkötő kapacitást biztosít és elősegíti a hatékony szubsztrát-diffúziót. A módszer során az enzimek közvetlenül a polimer oldathoz keverhetők, melyek az ezt követő szálképzés folyamán fizikailag csapdázódnak a keletkező nanoszálak belsejében⁷⁴. Alternatív megközelítésként az enzimek adszorpcióval, vagy a nanoszálak felületének funkcionizálását követően kovalens kötéssel is rögzíthetők a szálakhoz⁷⁵. Jelentős előny, hogy a szálak belsejébe zárt enzimek megőrizhetik natív konformációjukat, így fokozott védelmet élveznek - és hőingadozásokkal szemben, ami hosszabb élettartamot és nagyobb stabilitást biztosít a

katalizátor számára⁷⁶. Mindezek következményeként egyre több kutatás számol be arról, hogy a nanoszálak biokatalizátorok ígéretes megoldást jelentenek a finomkémiai eljárásokban, az élelmiszeripari folyamatokban, a tejfeldolgozásban és a bioüzemanyagok előállításában^{68,77}.

Kutatócsoportunk egyik tanulmánya során célul tűztük ki, hogy egy *electrospinning* technika segítségével létrehozott biokatalizátor előállítása során feltérképezzük a polimer tulajdonságainak és a szálképzési paramétereknek a hatását a kialakuló termék szerkezetére és a csapdázott enzim aktivitására. A kísérletek során a *Burkholderia cepacia* eredetű lipáz (BcL) PVA alapú nanoszálakban történő csapdázását valósítottuk meg elektrosztatikus szálképzéssel. Szisztematikus vizsgálat keretében különböző molekulatömegű és eltérő hidrolizáltsági fokú PVA alapanyagokat hasonlítottunk össze, miközben optimalizáltuk a szálképzés legfontosabb technológiai paramétereit.

Az elvégzett aktivitásvizsgálatok alapján megállapítottuk, hogy a nanoszálakba csapdázott BcL specifikus aktivitása – a megfelelő gyártási paraméterek mellett – akár tízszerese is lehetett a liofilizált enzimének. Emellett a csapdázott biokatalizátor kiváló visszaforgathatóságot mutatott: az ismételt aktivitástesztetek során sem az enzim aktivitásában, sem a tömegében nem észleltünk jelentős veszteséget (lásd 7. ábra). Ezzel szemben a liofilizált enzim a harmadik visszaforgatási ciklus végére eredeti tömegének közel 30 százalékát elveszítette.

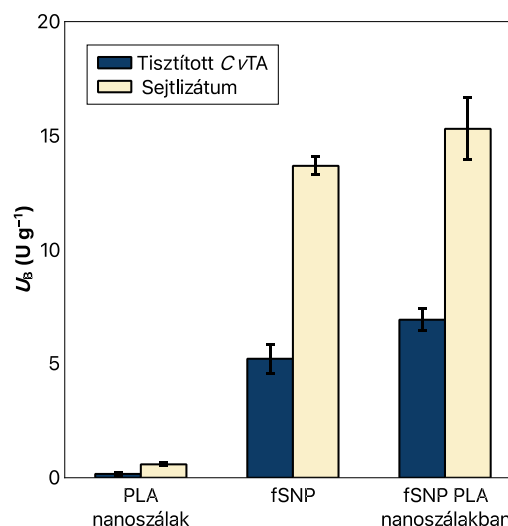


7. Ábra. Három egymást követő reakcióciklus során vizsgáltuk a natív BcL és a PVA nanoszálak mátrixban immobilizált BcL stabilitását és katalitikus aktivitását. Minden ciklus egy 24 órás átészterezési reakciót foglalt magában, majd a katalizátorokat elválasztottuk, mostuk és állandó tömegig szárítottuk. A natív enzimet centrifugálással, míg a nanoszálak katalizátort csipesszel távolítottuk el a reakcióelegyből. A ciklusok végén meghatároztuk a specifikus enzimaktivitást (U_E ; $U \times g^{-1}$) és a katalizátor tömegcsökkenését (%)⁶⁰.

A nanoszálak csapdázás során tapasztalt enzimaktivitás-növekedés okainak felderítése során a következő megállapításokat tettük: A differenciál pásztázó kalorimetriás vizsgálatok egyértelmű kapcsolatot mutattak a nanoszálak biokatalizátorok üvegesedési hőmérséklete (T_g) és az enzimaktivitás között. A magasabb T_g -vel rendelkező polimer mátrixok minden esetben nagyobb mértékben járultak hozzá az enzim katalitikus működéséhez. Ez a megfigyelés a PVA mátrix és a csapdázott lipáz között kialakuló stabilizáló kölcsönhatások kialakulására utalhat.

A PVA és a lipáz közötti specifikus kölcsönhatásokat molekuladokkolási szimulációkkal is vizsgáltuk. Az eredmények alátámasztották, hogy a polimer és az enzim közötti közvetlen kapcsolatok hozzájárulnak az enzim konformációs stabilitásához, ezáltal növelve annak aktivitását a nanoszálak környezetben.

Egy párhuzamos tanulmányban kutatócsoportunk olyan nanoformulációs stratégiát dolgozott ki, amely nemcsak az enzimek stabilizálását és aktivitásuk megőrzését segíti elő, hanem közvetlenül integrálható a rekombináns fehérjetermelés utófeldolgozási szakaszába is. Hisztidin-jelölt *Chromobacterium violaceum* aminosztransferázt (CvTA) sikerült közvetlenül a nyers sejtlizátumból izolálnunk és fémionokkal funkcionizált szilícium-dioxid nanorészecskékre immobilizálnunk, így elkerülhetővé vált a költséges fehérjetisztítás, és az eljárás ideje a hagyományoshoz képest kevesebb mint negyedére csökkent. A nyers sejtlizátumból közvetlenül rögzített enzimek aktivitása magasabbnak adódott, mint a tisztított fehérjéből immobilizált változatoké, ami arra utal, hogy a sejtlizátum összetevői – például stabilizáló fehérjék vagy kofaktorok – kedvező mikro-környezetet biztosíthatnak az enzim számára.



8. Ábra. Az alkalmazott nanohordozó rendszer (fSNP: aminosz-funkcionalizált szilika nanorészecské, PLA nanoszálak és fSNP-t tartalmazó PLA nanoszálak) hatása a tisztított CvTA és a sejtlizátum biokatalitikus aktivitására (U_B)⁷⁸.

A továbbfejlesztett, „második generációs” rendszerben az enzim–nanorészecske komplexet elektrosztatikus szálképzéssel PLA nanoszálakba ágyaztuk, amely tovább növelte a stabilitást. Ahogy azt a 8. ábra is mutatja, az így kapott kompozit biokatalizátor specifikus aktivitása jelentősen meghaladta a csak nanorészecskén rögzített, és a pusztán nanoszálakba csapdázott enzimekét egyaránt. A nanoszálás mátrix és a nanohordozók kombinációja tehát szinergikusan javította az enzim teljesítményét és újrafelhasználhatóságát, ami különösen előnyös lehet szintetikus biokatalitikus alkalmazásokban⁷⁸.

Hivatkozások

1. Stellenbosch Nanofiber Company Introduction 2018, <https://innovationbridge.info/ibportal/sites/default/files/SNC%20Introduction%20%28PDF%20version%20with%20YouTube%20links%20to%20videos%29.pdf>, Utoljára megnyitva: 2025.máj.26.
2. Pulungan, M. A.; Sriyanti, I.; Marlina, L. Physicochemical Properties of Characterization of PVP/CA/AE Nanofiber. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Fisika Al-Biruni* **2023**, *12* (1), 11–18. <https://doi.org/10.24042/jipfalbiruni.v12i1.14904>
3. Tian, D.; Li, X.-X.; He, J.-H. Geometrical Potential and Nanofiber Membrane's Highly Selective Adsorption Property. *Adsorption Science & Technology* **2019**, *37* (5-6), 367–388. <https://doi.org/10.1177/0263617418813826>
4. Bhat, G. Advances in Polymeric Nanofiber Manufacturing Technologies. *J. Nanomater. Mol. Nanotechnol* **2016**, *5* (10.4172), 2324–8777.
5. Song, B.; Chen, Z.; Ao, H.; Zhang, M. Nanofibrous Biomaterials for Biomedical Applications. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2023, *11*, 1279471. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2023.1279471>
6. Zhang, M.; Song, W.; Tang, Y.; Xu, X.; Huang, Y.; Yu, D. Polymer-Based Nanofiber–Nanoparticle Hybrids and Their Medical Applications. *Polymers* **2022**, *14* (2), 351. <https://doi.org/10.3390/polym14020351>
7. Behere, I.; Ingavle, G. In Vitro and in Vivo Advancement of Multifunctional Electrospun Nanofiber Scaffolds in Wound Healing Applications: Innovative Nanofiber Designs, Stem Cell Approaches, and Future Perspectives. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* **2022**, *110* (2), 443–461. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.37290>
8. Pérez-González, G. L.; Villarreal-Gómez, L. J.; Serrano-Medina, A.; Torres-Martínez, E. J.; Cornejo-Bravo, J. M. Mucoadhesive Electrospun Nanofibers for Drug Delivery Systems: Applications of Polymers and the Parameters' Roles. *International Journal of Nanomedicine* **2019**, 5271–5285. <https://doi.org/10.2147/IJN.S193328>
9. Chen, K.; Li, Y.; Li, Y.; Tan, Y.; Liu, Y.; Pan, W.; Tan, G. Stimuli-Responsive Electrospun Nanofibers for Drug Delivery, Cancer Therapy, Wound Dressing, and Tissue Engineering. *Journal of Nanobiotechnology* **2023**, *21* (1), 237. <https://doi.org/10.1186/s12951-023-01987-z>
10. Aman Mohammadi, M.; Dakhili, S.; Mirza Alizadeh, A.; Kooki, S.; Hassanzadazar, H.; Alizadeh-Sani, M.; McClements, D. J. New Perspectives on Electrospun Nanofiber Applications in Smart and Active Food Packaging Materials. *Critical reviews in food science and nutrition* **2024**, *64* (9), 2601–2617. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2124506>
11. Tamura, Y.; Kanomata, K.; Kitaoka, T. Interfacial Hydrolysis of Acetals on Protonated TEMPO-Oxidized Cellulose Nanofibers. *Scientific reports* **2018**, *8* (1), 5021. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-23381-8>
12. Arizapana, K.; Schossig, J.; Wildy, M.; Weber, D.; Gandotra, A.; Jayaraman, S.; Wei, W.; Xu, K.; Yu, L.; Mugweru, A. M.; others. Harnessing the Synergy of Fe and Co with Carbon Nanofibers for Enhanced CO₂ Hydrogenation Performance. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering* **2024**, *12* (5), 1868–1883. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.3c05489>
13. Langner, M.; Greiner, A. Wet-Laid Meets Electrospinning: Nonwovens for Filtration Applications from Short Electrospun Polymer Nanofiber Dispersions. *Macromolecular Rapid Communications* **2016**, *37* (4), 351–355. <https://doi.org/10.1002/marc.201500514>
14. Pereao, O.; Bode-Aluko, C.; Laatikainen, K.; Nechaev, A.; Petrik, L. Morphology, Modification and Characterisation of Electrospun Polymer Nanofiber Adsorbent Material Used in Metal Ion Removal. *Journal of Polymers and the Environment* **2019**, *27*, 1843–1860. <https://doi.org/10.1007/s10924-019-01497-w>
15. Tahir, M.; Vicini, S.; Sionkowska, A. Electrospun Materials Based on Polymer and Biopolymer Blends—a Review. *Polymers* **2023**, *15* (7), 1654. <https://doi.org/10.3390/polym15071654>
16. Ji, H.; Zhao, R.; Zhang, N.; Jin, C.; Lu, X.; Wang, C. Lightweight and Flexible Electrospun Polymer Nanofiber/Metal Nanoparticle Hybrid Membrane for High-Performance Electromagnetic Interference Shielding. *NPG Asia Materials* **2018**, *10* (8), 749–760. <https://doi.org/10.1038/s41427-018-0070-1>
17. Wang, L.; Sun, Y.; Wang, J.; Li, Z. Assembly of Gold Nanoparticles on Electrospun Polymer Nanofiber Film for SERS Applications. *Bulletin of the Korean Chemical Society* **2014**, *35* (1), 30–34. <https://doi.org/10.5012/bkcs.2014.35.1.30>
18. Li, Y.; Zhu, J.; Cheng, H.; Li, G.; Cho, H.; Jiang, M.; Gao, Q.; Zhang, X. Developments of Advanced Electrospinning Techniques: A Critical Review. *Advanced Materials Technologies* **2021**, *6* (11), 2100410. <https://doi.org/10.1002/admt.202100410>
19. Golpira, F.; Maftoonazad, N.; Ramaswamy, H. S. Evaluation of Freeze Drying and Electrospinning Techniques for Saffron Encapsulation and Storage Stability of Encapsulated Bioactives. *Journal of Composites Science* **2021**, *5* (12), 326. <https://doi.org/10.3390/jcs5120326>
20. Ji, D.; Lin, Y.; Guo, X.; Ramasubramanian, B.; Wang, R.; Radacsi, N.; Jose, R.; Qin, X.; Ramakrishna, S. Electrospinning of Nanofibres. *Nature Reviews Methods Primers* **2024**, *4* (1), 1. <https://doi.org/10.1038/s43586-023-00278-z>
21. Singh, S. K.; Sarma, S. Taylor Cone Height as a Tool to Understand Properties of Electrospun PVDF Nanofibers. *Journal of Electrostatics* **2022**, *120*, 103770. <https://doi.org/10.1016/j.elstat.2022.103770>
22. Alqallab, O. N.; Jumali, M. H. H. A Novel Centrifugal Electrospinning Design for Preparing of High Alignment-Phase PVDF Nanofibers for High-Performance Piezoelectric Nanogenerators. *Polymer* **2024**, *304*, 127137. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2024.127137>
23. Lei, S.; Xiong, C.; Quan, Z.; Qin, X.; Yu, J. Controlled Stretching of the First Spiral in Electrospinning Whipping Jet via Surface Charge. *Polymer* **2021**, *217*, 123443. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2021.123443>

24. Guo, Y.; Wang, X.; Shen, Y.; Dong, K.; Shen, L.; Alzabal, A. A. Research Progress, Models and Simulation of Electrospinning Technology: A Review. *Journal of Materials Science* **2022**, 1–47.
<https://doi.org/10.1007/s10853-021-06575-w>
25. Keirouz, A.; Wang, Z.; Reddy, V. S.; Nagy, Z. K.; Vass, P.; Buzgo, M.; Ramakrishna, S.; Radacsi, N. The History of Electrospinning: Past, Present, and Future Developments. *Advanced Materials Technologies* **2023**, 8 (11), 2201723.
<https://doi.org/10.1002/admt.202201723>
26. Yavari, A.; Ito, T.; Hara, K.; Tahara, K. Comparative Analysis of Needleless and Needle-Based Electrospinning Methods for Polyamide 6: A Technical Note. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* **2025**, 73 (1), 18–24.
<https://doi.org/10.1248/cpb.c24-00611>
27. Kouhi, M.; Mobasheri, M.; Valipouri, A. Needleless Electrospinning. In *Electrospun and nanofibrous membranes*; Elsevier, 2023; pp 145–171.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823032-9.00011-8>
28. Lu, W.-C.; Chen, C.-Y.; Cho, C.-J.; Venkatesan, M.; Chiang, W.-H.; Yu, Y.-Y.; Lee, C.-H.; Lee, R.-H.; Rwei, S.-P.; Kuo, C.-C. Antibacterial Activity and Protection Efficiency of Polyvinyl Butyral Nanofibrous Membrane Containing Thymol Prepared Through Vertical Electrospinning. *Polymers* **2021**, 13 (7), 1122.
<https://doi.org/10.3390/polym13071122>
29. Tang, C.; Levit, S. L.; Swana, K. F.; Thornton, B. T.; Barlow, J. L.; Dotivala, A. C. Electrospinning Parameters and Resulting Nanofiber Characteristics: Theoretical to Practical Considerations. *Applications of Polymer Nanofibers* **2022**, 1–40.
<https://doi.org/10.1002/9781119267713.ch1>
30. Jacobs, V.; Anandjiwala, R. D.; Maaza, M. The Influence of Electrospinning Parameters on the Structural Morphology and Diameter of Electrospun Nanofibers. *Journal of applied polymer science* **2010**, 115 (5), 3130–3136.
<https://doi.org/10.1002/app.31396>
31. Filip, P.; Zelenkova, J.; Peer, P. Electrospinning of a Copolymer PVDF-Co-HFP Solved in DMF/Acetone: Explicit Relations Among Viscosity, Polymer Concentration, DMF/Acetone Ratio and Mean Nanofiber Diameter. *Polymers* **2021**, 13 (19), 3418.
<https://doi.org/10.3390/polym13193418>
32. Han, W.; Wang, L.; Li, Q.; Ma, B.; He, C.; Guo, X.; Nie, J.; Ma, G. A Review: Current Status and Emerging Developments on Natural Polymer-Based Electrospun Fibers. *Macromolecular Rapid Communications* **2022**, 43 (21), 2200456.
<https://doi.org/10.1002/marc.202200456>
33. Ramakrishna, S. *An Introduction to Electrospinning and Nanofibers*; World scientific, 2005.
<https://doi.org/10.1142/5894>
34. Koski, A.; Yim, K.; Shivkumar, S. Effect of Molecular Weight on Fibrous PVA Produced by Electrospinning. *Materials letters* **2004**, 58 (3–4), 493–497.
[https://doi.org/10.1016/S0167-577X\(03\)00532-9](https://doi.org/10.1016/S0167-577X(03)00532-9)
35. Angammana, C. J.; Jayaram, S. H. Fundamentals of Electrospinning and Processing Technologies. *Particulate Science and Technology* **2016**, 34 (1), 72–82.
<https://doi.org/10.1080/02726351.2015.1043678>
36. Zuo, W.; Zhu, M.; Yang, W.; Yu, H.; Chen, Y.; Zhang, Y. Experimental Study on Relationship Between Jet Instability and Formation of Beaded Fibers During Electrospinning. *Polymer Engineering & Science* **2005**, 45 (5), 704–709.
<https://doi.org/10.1002/pen.20304>
37. Ibrahim, H. M.; Klingner, A. A Review on Electrospun Polymeric Nanofibers: Production Parameters and Potential Applications. *Polymer Testing* **2020**, 90, 106647.
<https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2020.106647>
38. Zargham, S.; Bazgir, S.; Tavakoli, A.; Rashidi, A. S.; Damerchely, R. The Effect of Flow Rate on Morphology and Deposition Area of Electrospun Nylon 6 Nanofiber. *Journal of Engineered Fibers and Fabrics* **2012**, 7 (4), 155892501200700414.
<https://doi.org/10.1177/155892501200700414>
39. Duan, X.-P.; Yan, X.; Zhang, B.; Zhang, Z.-G.; Yu, M.; Zhang, H.-D.; Yang, D.-P.; Long, Y.-Z. Simple Piezoelectric Ceramic Generator-Based Electrospinning Apparatus. *RSC advances* **2016**, 6 (70), 66252–66255.
<https://doi.org/10.1039/C6RA14695C>
40. Long, Y.-Z.; Yan, X.; Wang, X.-X.; Zhang, J.; Yu, M. Electrospinning: The Setup and Procedure. In *Electrospinning: Nanofabrication and applications*; Elsevier, 2019; pp 21–52.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-323-51270-1.00002-9>
41. Liu, Y.; Wang, Y.; Lee, C.-H.; Kan, C.-W.; Lu, X. Influence of Electrospinning Parameters on the Morphology of Electrospun Poly (3-Hydroxybutyrate-Co-3-Hydroxyvalerate) Fibrous Membranes and Their Application as Potential Air Filtration Materials. *Polymers* **2024**, 16 (1), 154.
<https://doi.org/10.3390/polym16010154>
42. Medeiros, G. B.; Lima, F. de A.; Almeida, D. S. de; Guerra, V. G.; Aguiar, M. L. Modification and Functionalization of Fibers Formed by Electrospinning: A Review. *Membranes* **2022**, 12 (9), 861.
<https://doi.org/10.3390/membranes12090861>
43. Wang, X.; Um, I. C.; Fang, D.; Okamoto, A.; Hsiao, B. S.; Chu, B. Formation of Water-Resistant Hyaluronic Acid Nanofibers by Blowing-Assisted Electro-Spinning and Non-Toxic Post Treatments. *Polymer* **2005**, 46 (13), 4853–4867.
<https://doi.org/10.1016/j.polymer.2005.03.058>
44. ÇAVDAR, F. Y.; UĞUZ, A. A Comparative Study of Electrospinning Process for Two Different Collectors: The Effect of the Collecting Method on the Nanofiber Diameters. *Mechanical Engineering Journal* **2019**, 6 (1), 18–00298.
<https://doi.org/10.1299/mej.18-00298>
45. Morsy, R. Influence of Substrate Temperature Parameter on Electrospinning Process: Example of Application to the Formation of Gelatin Fibers. *Polymer Bulletin* **2023**, 80 (2), 1519–1530.
<https://doi.org/10.1007/s00289-022-04109-1>
46. Mailley, D.; Hebraud, A.; Schlatter, G. A Review on the Impact of Humidity During Electrospinning: From the Nanofiber Structure Engineering to the Applications. *Macromolecular Materials and Engineering* **2021**, 306 (7), 2100115.
<https://doi.org/10.1002/mame.202100115>
47. Robinson, P. K. Enzymes: Principles and Biotechnological Applications. *Essays in biochemistry* **2015**, 59, 1.
<https://doi.org/10.1042/bse0590001>
48. Marchetti, M.; Faggiano, S.; Mozzarelli, A. Enzyme Replacement Therapy for Genetic Disorders Associated with Enzyme Deficiency. *Current Medicinal Chemistry* **2022**, 29 (3), 489–525.
<https://doi.org/10.2174/0929867328666210526144654>
49. De La Fuente, M.; Lombardero, L.; Gómez-González, A.; Solari, C.; Angulo-Barturen, I.; Acera, A.; Vecino, E.; Astigarraga, E.; Barreda-Gómez, G. Enzyme Therapy: Current Challenges and Future Perspectives. *International Journal of Molecular Sciences* **2021**, 22 (17), 9181.
<https://doi.org/10.3390/ijms22179181>
50. Lachmann, R. H. Enzyme Replacement Therapy for Lysosomal Storage Diseases. *Current opinion in pediatrics* **2011**, 23 (6), 588–593.
<https://doi.org/10.1097/MOP.0b013e32834c20d9>

51. Tóth, G. D.; Koplányi, G.; Kenéz, B.; Balogh-Weiser, D. Nanoformulation of Therapeutic Enzymes: A Short Review. *Periodica Polytechnica Chemical Engineering* **2023**, *67* (4), 624–635.
<https://doi.org/10.3311/PPCh.22826>
52. Silva, A.; Sagné, C.; Gazeau, F.; Abasolo, I. Enzyme Replacement Therapy: Current Challenges and Drug Delivery Prospects via Extracellular Vesicles. *Rare Disease and Orphan Drugs Journal* **2022**, *1* (3), 13.
<https://doi.org/10.20517/rdodj.2022.09>
53. Yıldız, Y.; Sivri, H. S. Difficulties Associated with Enzyme Replacement Therapy for Mucopolysaccharidoses. *Turkish Archives of Pediatrics* **2021**, *56* (6), 602.
<https://doi.org/10.5152/TurkArchPediatri.2021.21235>
54. Bosio, V. E.; Islan, G. A.; Martínez, Y. N.; Durán, N.; Castro, G. R. Nanodevices for the Immobilization of Therapeutic Enzymes. *Critical reviews in biotechnology* **2016**, *36* (3), 447–464.
55. Hu, F.; Deng, C.; Zhang, X. Development of High Performance Liquid Chromatography with Immobilized Enzyme onto Magnetic Nanospheres for Screening Enzyme Inhibitor. *Journal of chromatography B* **2008**, *871* (1), 67–71.
<https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2008.06.036>
56. Souza Guimarães, M. de; Cachumba, J. J. M.; Bueno, C. Z.; Torres-Obreque, K. M.; Lara, G. V. R.; Monteiro, G.; Barbosa, L. R. S.; Pessoa Jr, A.; Rangel-Yagui, C. de O. Peg-Grafted Liposomes for L-Asparaginase Encapsulation. *Pharmaceutics* **2022**, *14* (9), 1819.
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14091819>
57. San Keskin, N. O.; Dinç, S. K. Electrospinning Techniques for Encapsulation. In *Micro- and nano-containers for smart applications*; Springer, 2022; pp 39–61.
https://doi.org/10.1007/978-981-16-8146-2_2
58. Li, D.; Wang, Q.; Huang, F.; Wei, Q. Electrospun Nanofibers for Enzyme Immobilization. In *Electrospinning: Nanofabrication and applications*; Elsevier, 2019; pp 765–781.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-323-51270-1.00026-1>
59. Mohamad, N. R.; Marzuki, N. H. C.; Buang, N. A.; Huyop, F.; Wahab, R. A. An Overview of Technologies for Immobilization of Enzymes and Surface Analysis Techniques for Immobilized Enzymes. *Biotechnology & Biotechnological Equipment* **2015**, *29* (2), 205–220.
<https://doi.org/10.1080/13102818.2015.1008192>
60. Tóth, G. D.; Molnár, Z.; Koplányi, G.; Gyarmati, B.; Szilágyi, A.; Katona, G.; Menyhárd, A.; Poppe, L.; Pukánszky, B.; Balogh-Weiser, D. How Could the Physical Properties of Poly (Vinyl Alcohol) Influence Enzymatic Activity? A Detailed Study on Nanofibrous Catalysts Incorporating a Lipase from Burkholderia Cepacia. *ChemCatChem* **2025**, *17* (5), e202400562.
<https://doi.org/10.1002/cctc.202400562>
61. Tóth, G. D.; Kállai-Szabó, N.; Lengyel, M.; Süvegh, K.; Ender, F.; Katona, G.; Kazsoki, A.; Zekó, R.; Antal, I.; Balogh, G. T.; others. Nanoformulation of Lipase from Porcine Pancreas by Electrospinning as a Novel Alternative for Enzyme-Based Per Os Therapies. *Journal of Molecular Liquids* **2023**, *389*, 122819.
<https://doi.org/10.1016/j.molliq.2023.122819>
62. Tóth, G. D.; Kazsoki, A.; Gyarmati, B.; Szilágyi, A.; Vasvári, G.; Katona, G.; Sente, L.; Zekó, R.; Poppe, L.; Balogh-Weiser, D.; others. Nanofibrous Formulation of Cyclodextrin Stabilized Lipases for Efficient Pancreatin Replacement Therapies. *Pharmaceutics* **2021**, *13* (7), 972.
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13070972>
63. Balogh-Weiser, D.; Molnár, A.; Tóth, G. D.; Koplányi, G.; Szemes, J.; Decsi, B.; Katona, G.; Salamah, M.; Ender, F.; Kovács, A.; others. Combined Nanofibrous Face Mask: Co-Formulation of Lipases and Antibiotic Agent by Electrospinning Technique. *Pharmaceutics* **2023**, *15* (4), 1174.
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15041174>
64. Buller, R.; Lutz, S.; Kazlauskas, R.; Snajdrova, R.; Moore, J.; Bornscheuer, U. From Nature to Industry: Harnessing Enzymes for Biocatalysis. *Science* **2023**, *382* (6673), eadh8615.
<https://doi.org/10.1126/science.adh8615>
65. Imarah, A. O.; Silva, F. M.; Tuba, L.; Malta-Lakó, Á.; Szemes, J.; Santa-Bell, E.; Poppe, L. A Convenient u-Shape Microreactor for Continuous Flow Biocatalysis with Enzyme-Coated Magnetic Nanoparticles-Lipase-Catalyzed Enantiomer Selective Acylation of 4-(morpholin-4-Yl) Butan-2-Ol. *Catalysts* **2022**, *12* (9), 1065.
<https://doi.org/10.3390/catal12091065>
66. Broderick, J. B.; Broderick, W. E.; Hoffman, B. M. Radical SAM Enzymes: Nature's Choice for Radical Reactions. *FEBS letters* **2023**, *597* (1), 92–101.
<https://doi.org/10.1002/1873-3468.14519>
67. Jegannathan, K. R.; Nielsen, P. H. Environmental Assessment of Enzyme Use in Industrial Production—a Literature Review. *Journal of cleaner production* **2013**, *42*, 228–240.
<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2012.11.005>
68. Victorino da Silva Amatto, I.; Gonsales da Rosa-Garzon, N.; Antonio de Oliveira Simoes, F.; Santiago, F.; Pereira da Silva Leite, N.; Raspante Martins, J.; Cabral, H. Enzyme Engineering and Its Industrial Applications. *Biotechnology and applied biochemistry* **2022**, *69* (2), 389–409.
<https://doi.org/10.1002/bab.2117>
69. Nezhad, N. G.; Rahman, R. N. Z. R. A.; Normi, Y. M.; Oslan, S. N.; Shariff, F. M.; Leow, T. C. Thermostability Engineering of Industrial Enzymes Through Structure Modification. *Applied Microbiology and Biotechnology* **2022**, *106* (13), 4845–4866.
<https://doi.org/10.1007/s00253-022-12067-x>
70. Doukyu, N.; Ogino, H. Organic Solvent-Tolerant Enzymes. *Biochemical engineering journal* **2010**, *48* (3), 270–282.
<https://doi.org/10.1016/j.bej.2009.09.009>
71. Atiroğlu, V.; Atiroğlu, A.; Atiroğlu, A.; Al-Hajri, A. S.; Özacar, M. Green Immobilization: Enhancing Enzyme Stability and Reusability on Eco-Friendly Support. *Food Chemistry* **2024**, *448*, 138978.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.138978>
72. Thakur, K.; Atti, C.; Seth, A. Nanocarriers-Based Immobilization of Enzymes for Industrial Application. *3 Biotech* **2021**, *11* (10), 427.
<https://doi.org/10.1007/s13205-021-02953-y>
73. Matveeva, V. G.; Bronstein, L. M. Magnetic Nanoparticle-Containing Supports as Carriers of Immobilized Enzymes: Key Factors Influencing the Biocatalyst Performance. *Nanomaterials* **2021**, *11* (9), 2257.
<https://doi.org/10.3390/nano11092257>
74. Khan, R. S.; Rather, A. H.; Wani, T. U.; Rather, S.; Amna, T.; Hassan, M. S.; Sheikh, F. A. Recent Trends Using Natural Polymeric Nanofibers as Supports for Enzyme Immobilization and Catalysis. *Biotechnology and Bioengineering* **2023**, *120* (1), 22–40.
<https://doi.org/10.1002/bit.28246>
75. Maghraby, Y. R.; El-Shabasy, R. M.; Ibrahim, A. H.; Azzazy, H. M. E.-S. Enzyme Immobilization Technologies and Industrial Applications. *ACS omega* **2023**, *8* (6), 5184–5196.
<https://doi.org/10.1021/acsomega.2c07560>

76. Ribeiro, E. S.; Farias, B. S. de; Junior, T. R. S. C.; Almeida Pinto, L. A. de; Diaz, P. S. Chitosan-Based Nanofibers for Enzyme Immobilization. *International Journal of Biological Macromolecules* **2021**, *183*, 1959–1970. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.05.214>
77. Liu, X.; Kokare, C. Microbial Enzymes of Use in Industry. In *Biotechnology of microbial enzymes*; Elsevier, 2023; pp 405–444. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-19059-9.00021-9>
78. Koplányi, G.; Bell, E.; Molnár, Z.; Katona, G.; Lajos Neumann, P.; Ender, F.; Balogh, G. T.; Žnidaršič-Plazl, P.; Poppe, L.; Balogh-Weiser, D. Novel Approach for the Isolation and Immobilization of a Recombinant Transaminase: Applying an Advanced Nanocomposite System. *Chembiochem* **2023**, *24* (7), e202200713. <https://doi.org/10.1002/cbic.202200713>

Application Possibilities of Nanofiber-Supported Biocatalysts

This short review presents an overview of the electrospinning process and highlights its potential in biomedical and synthetic biocatalytic applications. Emphasis is placed on nanofibrous enzyme formulations developed by our research group, demonstrating how electrospun polymer matrices can enhance the stability, reusability, and activity of immobilized enzymes. Case studies include oral enzyme replacement therapy using lipase-loaded na-

nofibers, and the design of multilayered nanofibrous facial masks for topical drug delivery. In synthetic applications, we describe the development of highly active, nanofiber-immobilized lipase systems and a hybrid platform combining silica nanoparticles and nanofibers for enhanced aminotransferase catalysis. These results underline the versatility of electrospun nanofibers as functional carriers in advanced biocatalytic systems.