

Application of mesoporous adsorbents in enzyme immobilization

Zastosowanie mezoporowatych adsorbentów w procesie immobilizacji enzymów



DOI: 10.15199/62.2025.6.5

A review, with 25 refs., of use of mesoporous silicas, metal-org. framework and covalent org. framework as the enzyme support. The carrier-immobilized enzyme systems used in technol. processes (hydrolysis, transesterification), laboratory diagnostics and toxic substance neutralization were described. Immobilization decreased the enzyme activity and simultaneously increased their thermal stability to environmental factors (pH).

Keywords: porous materials, enzyme, surface modification, adsorption

Przegląd literaturowy dotyczący zastosowania mezoporowatych krzemionek, szkieletów metaloorganicznych oraz struktur organicznych jako nośników enzymów. Układy nośnik-unieruchomiony enzym znalazły zastosowanie w procesach technologicznych (reakcje hydrolizy, transestryfikacji), diagnostyce laboratoryjnej i neutralizacji substancji szkodliwych. Immobilizacja zazwyczaj zmniejsza aktywność enzymów, zwiększając jednocześnie ich stabilność termiczną oraz odporność na czynniki środowiskowe (pH).

Słowa kluczowe: materiały porowate, enzymy, modyfikacja powierzchni, adsorpcja

Materiały mezoporowate definiuje się jako ciała porowate o średnicy porów 2–50 nm¹⁾. Pod względem składu chemicznego wyróżnić można mezoporowate krzemionki, węgle, tlenki metali, szkielety metaloorganiczne MOF (*metal-organic framework*) i struktury organiczne, takie jak porowate szkielety aromatyczne PAF (*porous aromatic framework*)²⁾. Na ogół charakteryzują się one dobrze rozwiniętą powierzchnią oraz znaczną objętością porów³⁾. Sprawia to, że substancje te znajdują zastosowanie w procesach adsorpcji. Wykorzystywane są jako nośniki substancji leczniczych w systemach dostarczania leków (*drug delivery system*)^{4, 5)}, w procesach rozdzielania substancji⁶⁾, zatężaniu związków biologicznie czynnych⁷⁾ i w medycynie regeneracyjnej⁸⁾. Mezoporowate substancje znajdują także zastosowanie w procesach immobilizacji (*immobilization*) enzymów. Istotą tego procesu jest unieruchomienie enzymu w podłożu stałym umożliwiające wielokrotne użycie układu nośnik-enzym w procesach technologicznych. Immobilizacja jest prowadzona w celu ułatwienia oddzielenia enzymu od produktów reakcji, jego ochrony przed czynnikami środowiskowymi

lub z powodów ekonomicznych (ograniczenie utraty drogiego enzymu). Może być ona prowadzona metodą adsorpcji fizycznej lub poprzez stworzenie kowalencyjnych oddziaływań pomiędzy nośnikiem a enzymem. Unieruchamianie enzymów, poza zastosowaniem technologicznym (reakcje hydrolizy⁹⁾, estryfikacji¹⁰⁾), wykorzystywane jest także w diagnostyce medycznej¹¹⁾ i stanowi przedmiot studiów eksperymentalnych dotyczących bliższego poznania zjawiska adsorpcji biokatalizatorów¹²⁾.

Reakcje hydrolizy

Sousa i współpr.⁹⁾ przeprowadzili immobilizację β -galaktozydazy izolowanej z *Kluyveromyces lactis* na mezoporowatej krzemionce modyfikowanej 3-aminopropylotrietoksylanem i aldehydem glutarowym jako czynnikiem sieciującym. β -Galaktozydaza hydrolizuje laktozę do glukozy i galaktozy, co jest powszechnie wykorzystywane w przemyśle spożywczym w celu otrzymywania produktów mlecznych pozbawionych laktozy. Dowiedziono, że unieruchomiony



Dr hab. n. farm. Małgorzata GESZKE-MORITZ (ORCID: 0000-0001-5643-0040) w roku 2008 ukończyła studia farmaceutyczne na Wydziale Farmaceutycznym Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu. W 2011 r. uzyskała stopień doktora nauk farmaceutycznych, a w 2019 r. stopień doktora habilitowanego nauk farmaceutycznych na tym samym wydziale. Obecnie jest kierownikiem Zakładu Farmakognozji i Naturalnych Środków Leczniczych na Wydziale Farmacji, Biotechnologii Medycznej i Medycyny Laboratoryjnej Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie. Specjalność – synteza i właściwości kropek kwantowych, biomedyczne zastosowania nanomateriałów, zastosowania materiałów mezoporowatych w systemach dostarczania substancji leczniczych, adsorpcja związków biologicznie czynnych pochodzenia roślinnego.



Mgr Karolina KAMASA jest absolwentką kierunku farmacja na Wydziale Farmaceutycznym Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu.

enzym wykazuje 70% pierwotnej aktywności po 4 cyklach użycia, zaś jego maksymalną aktywność obserwowano w środowisku o odczynie pH 7,0–7,5. Przechowywanie układu nośnik-enzym przez 105 dni w warunkach chłodniczych (8°C) powodowało jednak znaczną utratę aktywności biokatalizatora (44% początkowej aktywności)⁹. Z kolei Hwang¹³ zaproponował unieruchamianie esterazy karboksylowej (izolowanej z *Rhizopus oryzae*) w nanosferach mezoporowatej krzemionki modyfikowanej nanocząstkami Fe₃O₄. Unieruchamiany enzym, podobnie jak w poprzednim przypadku, znajduje zastosowanie w przemyśle spożywczym w celu poprawy smaku i konsystencji produktów spożywczych, a także w otrzymywaniu paliw (biodiesel) i tworzyw sztucznych. Otrzymany nanokompozyt zawierający nanocząstki Fe₃O₄ o właściwościach magnetycznych umożliwiał łatwe oddzielenie nośnika zawierającego enzym (pole magnetyczne) od środowiska, w którym prowadzono reakcję. Proces immobilizacji spowodował znaczną utratę pierwotnej aktywności enzymu (10,9% aktywności wolnego enzymu), zaś jego przechowywanie przez 30 dni w temp. 25°C powodowało dalszy spadek jego aktywności (52% początkowej aktywności immobilizowanego biokatalizatora). Autorzy opracowanego nanokompozytu potwierdzili jego skuteczność w hydrolizie maślanu *p*-nitrofenylu nawet po 13 cyklach jego stosowania¹³. W innej pracy¹⁴ zbadano wpływ typu mezoporowatej krzemionki na aktywność enzymu pozyskanego ze szczepu *Streptomyces griseus* HUT 6037, w celu hydrolitycznego rozkładu chityny. W procesie unieruchamiania enzymu zastosowano niemodyfikowane adsorbenty: mezoporowatą krzemionkę w postaci cienkiej warstwy, piankę MCF oraz krzemionkę SBA-15 w postaci pałeczek. Najwyższą aktywność enzymu zaobserwowano w przypadku jego immobilizacji na powierzchni filmu mezoporowatej krzemionki, najmniejszą zaś w przypadku adsorbentu SBA-15 o morfologii pałeczek. Według autorów krótkie kanały mezoporowatej krzemionki w postaci cienkiej warstwy wpływały korzystnie na dostępność substratu (chityna) dla centrum aktywnego enzymu, natomiast dłuższe i węższe kanały SBA-15 utrudniały procesy dyfuzji. W pracy podkreślono, że do oddzielenia układu enzym-nośnik od roztworu, w którym przeprowadzono reakcję

hydrolizy można wykorzystać proste techniki separacji, takie jak wirowanie i filtracja¹⁴. Unieruchomione enzymy znajdują także zastosowanie w technologiach przetwarzania surowców odnawialnych. Tian i współpr.¹⁵ opracowali wieloenzymatyczny układ, w którym jako nośnik zastosowano kowalencyjny szkielet organiczny COF (*covalent organic framework*) do bezpośredniej immobilizacji celulazy oraz β -glukozydazy w celu hydrolizy lignocelulozy (produkt odpadowy podczas przeróbki drewna). Produktem hydrolizy tego substratu jest glukoza. Unieruchomienie enzymu przeprowadzono podczas syntezy samego szkieletu organicznego, w którym jako substraty zastosowano kwas 2,5-diaminobenzenosulfonowy, kwas *p*-toluenosulfonowy oraz 2,4,6-triformylofloroglucynę. Otrzymany układ nośnik-enzym odznaczał się aktywnością katalityczną w szerokim zakresie odczynu środowiska (pH 4–7) oraz temperatury (50–70°C), a także zachował ok. 75% swojej pierwotnej aktywności hydrolitycznej po 7 cyklach stosowania. W pracy podkreślono, że zaletą opisaną metody immobilizacji jest brak ograniczenia procesu katalizy warunkowany rozmiarem enzymu oraz niezajmowanie przez biokatalizator naturalnych porów struktury organicznej, co ma korzystnie wpływać na dyfuzję substratów i produktów¹⁵. Z kolei w pracy¹⁶ zastosowano porowaty szkielet aromatyczny PAF (*porous aromatic framework*) cechujący się wysokim stopniem uporządkowania, jako nośnik dla lipazy izolowanej z *Aspergillus oryzae*. Autorzy wykorzystali tu jako prekursor struktury porowatej 5 związków o różnym kształcie i rozmiarze cząsteczki, czyli 1,4-dibromobenzen, 4,4-dibromobifenyl, 1,3,5-tribromobenzen, 1,3,5-tribromofenylbenzen oraz tetra(4-bromofenyl)metan. Otrzymany mezoporowaty adsorbent charakteryzował się znaczną powierzchnią właściwą rzędu 2800 m²/g oraz uporządkowaną strukturą mezoporów o średnicy 4–5 nm. Pojemność adsorpcyjna nośnika wobec adsorbowanego biokatalizatora była znaczna i wyniosła 1456 mg/g. Podczas przeprowadzonych studiów hydrolizy modelowego substratu (ester kaprylowy *p*-nitrofenolu) autorzy pracy wykazali wyższą aktywność hydrolityczną immobilizowanego enzymu w zakresie temp. 30–100°C w porównaniu z aktywnością wolnego enzymu (w roztworze). Ponadto aktywność unieruchomionego enzymu była wyższa (~30%) w porównaniu z wolnym enzymem zarówno w kwasowym (pH = 4), jak i alkalicznym (pH = 10) środowisku reakcji¹⁶.

Reakcje estryfikacji i transestryfikacji

Lipaza izolowana z grzyba *Candida antarctica* (CLAB) jest enzymem wykorzystywanym w procesach przemysłowych w celu przeprowadzania reakcji estryfikacji. Lipaza jest stabilna w rozpuszczalnikach organicznych i wykazuje szeroką specyficzność substratową. Enzym ten wykazuje jednak pewne wady, takie jak mała stabilność termiczna oraz trudność jego ponownego wykorzystania. Bordin i współpr.¹⁰ przeprowadzili proces unieruchomienia lipazy podczas etapu syntezy krzemionek MCM-41 oraz MCM-48



Dr hab. n. farm. Michał MORITZ (ORCID: 0000-0003-1784-4325) w roku 2007 ukończył studia biotechnologiczne na Wydziale Biologii Uniwersytetu im. A. Mickiewicza w Poznaniu, a w 2008 r. studia farmaceutyczne na Wydziale Farmaceutycznym Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu. W 2011 r. uzyskał stopień doktora nauk chemicznych na Wydziale Chemii Uniwersytetu im. A. Mickiewicza w Poznaniu, a w 2018 r. stopień doktora habilitowanego nauk farmaceutycznych na Uniwersytecie Medycznym w Białymstoku. Obecnie jest kierownikiem Zakładu Chemii Farmaceutycznej na Wydziale Farmacji, Biotechnologii Medycznej i Medycyny Laboratoryjnej Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie. Specjalność – synteza i właściwości materiałów mezoporowatych, modelowanie procesów adsorpcji, systemy dostarczania substancji leczniczych, biomedyczne zastosowania nanomateriałów, adsorpcja substancji biologicznie czynnych.

* Adres do korespondencji:

Zakład Chemii Farmaceutycznej, Wydział Farmacji, Biotechnologii Medycznej i Medycyny Laboratoryjnej, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie, pl. Polskiego Czerwonego Krzyża 1, 71-251 Szczecin, tel.: (91) 815-10-12, e-mail: michal.moritz@pum.edu.pl

Table. Use of various mesoporous adsorbents in enzyme immobilization

Tabela. Zastosowania wybranych mezoporowatych adsorbentów w procesie unieruchamiania enzymów

Mezoporowaty nośnik	Czynnik modyfikujący powierzchnię nośnika	Unieruchomiony enzym	Uzyskany efekt, zastosowanie	Literatura
SBA-15	3-aminopropylotrietoksylan, aldehyd glutarowy	lakkaza	usuwanie 2,4-dichlorofenolu z próbek wody; wpływ sposobu modyfikacji na aktywność enzymu	20
Krzemionka o różnej morfologii cząstek (pałeczki, rurki, sfery)	acetyloacetonian żelaza(III), roztwór siarki elementarnej w kwasie oleinowym, 3-aminopropylotrietoksylan, aldehyd glutarowy	lakkaza	usuwanie metoksychloru (pestycyd); obecność nanocząstek Fe_3S_4 wewnątrz porów nadaje adsorbentowi właściwości magnetyczne, zaś FeS_2 – katalityczne	21
Kompozyt otrzymany z hierarchicznego materiału zeolitowego oraz węgla CMK-3	3-aminopropylotrietoksylan	peroksydaza sojowa	stabilność enzymu w środowisku o odczynie kwasowym ($\text{pH} < 4$)	22
Krzemionka SBA-15	różne trialkoksylany	β -glukozydaza	znaczna wydajność oraz stabilność układu nośnik-enzym podczas hydrolizy epimedyny A do sagitatozydu A (substancja lecznicza)	23
Krzemionka SBA-15	polietylenoimina	esteraza BaCE _m	możliwość 10-krotnego wykorzystania układu nośnik-enzym (58% aktywności początkowej); wysoka enancjoselektywność podczas hydrolizy estru etylowego kwasu indolilo-2-karboksylowego	24
Krzemionka SBA-15	hydrożel utworzony z karboksymetylocelulozy i kwasu akrylowego	lipaza	rozdzielanie enancjomerów ibuprofenu; znaczna enancjoselektywność podczas hydrolizy racemicznej mieszaniny estru etylowego ibuprofenu	25

modyfikowanych tlenkiem niobu(V). W tym celu do mieszaniny reakcyjnej zawierającej stosowny surfaktant (chlorek 1-tetradecylo-3-metyloimidazoliowy), prekursor krzemionki (tetraetoksyortokrzan) oraz tlenek niobu(V) dodano ekstrakt zawierający lipazę. Aktywność enzymatyczna otrzymanych układów nośnik-enzym została określona w reakcji estryfikacji kwasu oleinowego wobec alkoholu etylowego (stosunek molowy substratów 1:1). Najwyższą aktywność biokatalizatora obserwowano podczas prowadzenia reakcji w temp. 40°C. Zastosowanie wyższej temperatury (80°C) powodowało utratę ok. 70% początkowej aktywności enzymu. Wykazano, że preparat enzymatyczny zachowuje ok. 50% swojej pierwotnej aktywności nawet po 26 oraz 16 cyklach stosowania dla krzemionek odpowiednio MCM-41 i MCM-48 modyfikowanych tlenkiem niobu(V). Stwierdzono również, że zastosowane adsorbenty przyczyniły się do zachowania aktywności enzymatycznej otrzymanych preparatów podczas ich przechowywania przez 5 miesięcy w warunkach chłodniczych (5–7°C) oraz w temperaturze pokojowej¹⁰. W innej pracy¹⁷ zaproponowano z kolei wykorzystanie lipazy unieruchomionej na mezoporowatej krzemionce w celu otrzymania paliwa silnikowego (*biodiesel*) metodą transestryfikacji oleju rzepakowego oraz oleju otrzymanego z alg, wykorzystując jako substrat etanol. Autorzy pracy wykazali, że po 50 h trwania reakcji prowadzonej wobec immobilizowanego biokatalizatora wydajność transestryfikacji do estrów etylowych była nieco większa (ok. 95%) w przypadku oleju z alg niż handlowego oleju rzepakowego (ok. 90%)¹⁷.

Diagnostyka medyczna

Lin i współpr.¹¹ opracowali test diagnostyczny wykorzystujący dwa enzymy (oksydazę glukozową oraz

peroksydazę chrzanową) unieruchomione na mezoporowatym nośniku UiO-66(Ce) będącym szkieletem metaloorganicznym MOF zawierającym cer. Otrzymany układ posłużył jako komponent diagnostycznego testu immunoenzymatycznego służącego do wykrywania białka wirusa wywołującego gorączkę krwotoczną (*dengue virus*). Mezoporowaty nośnik UiO-66(Ce) zawierający współzaadsorbowane enzymy zmodyfikowano następnie przeciwciałem wiążącym białko DENV2-NS1 chorobotwórczego wirusa. Związanie wirusowego białka z przeciwciałem sprzęgniętym z cząstką MOF zawierającą enzymy inicjowało zajście szeregu reakcji chemicznych powodujących zmianę barwy układu. Opracowany czujnik charakteryzował się „odpowiedzią” na badany analit w zakresie stężeń 0,05–100 ng/mL wirusowego białka, przy czym granica wykrywalności wyniosła 39,7 pg/mL. Autorzy pracy podkreślili, że opracowany test diagnostyczny nie ustępuje pod względem skuteczności oznaczania innym komercyjnym zestawom analitycznym. Przechowywanie układu nośnik-enzymy w temperaturze pokojowej przez 60 dni pozwoliło na zachowanie 90% początkowej aktywności enzymatycznej¹¹. Znane jest również wykorzystanie materiałów mezoporowatych jako mikroreaktorów w testach genetycznych podczas procesu powielania materiału genetycznego (DNA) metodą PCR (*polimerase chain reaction*). Powielanie niewielkich początkowych ilości docelowego materiału genetycznego (np. istotnego z analitycznego i diagnostycznego punktu widzenia) wobec nadmiaru zanieczyszczeń oraz startów powoduje hamowanie jego amplifikacji. Japońscy badacze¹⁸ wykazali, że zastosowanie nośników SBA-15 oraz FSM zawierających unieruchomioną polimerazę KOD DNA (izolowaną z *Thermococcus kodakaraensis*)

w opracowanej zmodyfikowanej metodzie MSE (*mesoporous silica-enhanced*) ogranicza niespecyficzne reakcje zachodzące podczas powielania małych ilości kwasów nukleinowych.

Inne zastosowania

Hao i współpr.¹⁹⁾ opracowali metodę immobilizacji wielu enzymów biorących udział w biosyntezie izoprenu. Izopren jest kluczowym prekursorem kauczuku oraz związków o charakterze terpenoidowym. Mikrobiologiczna synteza izoprenu z użyciem kultury *Escherichia coli* jest metodą, w której nagromadzenie produktów pośrednich metabolizmu (szlak kwasu mewalonowego) powoduje hamowanie wzrostu komórek i spadek aktywności enzymów, co ostatecznie prowadzi do zmniejszenia wydajności otrzymywania izoprenu. W przedstawionym eksperymencie dokonano immobilizacji 5 enzymów biorących udział w biosyntezie izoprenu (kinaza mewalonianowa, kinaza fosfomewalonianowa, dekarboksylaza pirofosforanu mewalonianu, izomeraza pirofosforanu izopentenylu, syntazy izoprenu). Początkowo mezoporowatą krzemionkę SBA-15 poddano modyfikacji z użyciem 3-aminopropylotrietoksylanu, a następnie dodano mieszaninę enzymów oraz eter diglicydylowy glikolu polietylenowego jako czynnik sieciujący enzymy. Opracowany układ wieloenzymatyczny wykorzystujący jako substrat kwas mewalonowy odznaczał się o ok. 30% większą wydajnością otrzymywania izoprenu w porównaniu z procesem prowadzonym z zastosowaniem kultury bakteryjnej *E. coli*¹⁹⁾.

Liu i współpr.¹²⁾ otrzymali struktury metaloorganiczne ZIF-8 (*zeolitic imidazolate framework*) zawierające w swojej strukturze mezopory dostosowane pod względem rozmiaru i kształtu do adsorbowanych enzymów (peroksydaza chrzanowa, cytochrom c, lipaza). Zamierzoną wielkość porów adsorbentu otrzymano, stosując tzw. metodę „fizycznego wdrukowania” (*physical imprinting*) polegającą na dodaniu do środowiska reakcji podczas otrzymywania nośnika, poza podstawowymi prekursorami struktury ZIF-8 (azotan(V) cynku, 2-metyloimidazol, metanol) także odpowiedni enzym. Ostatnim etapem otrzymywania struktury metaloorganicznej była jej kalcynacja, która doprowadziła do usunięcia biokatalizatora, pozostawiając pory o kształcie i rozmiarach zbliżonych do zajmowanego uprzednio w tym miejscu enzymu. Zastosowanie otrzymanego w ten sposób adsorbentu „uszytego na miarę enzymu” miało zapewnić wg autorów nie tylko znaczną pojemność adsorpcyjną struktury ZIF wobec adsorbowanych enzymów (135,3 mg/g oraz 105,3 mg/g dla odpowiednio cytochromu c oraz peroksydazy chrzanowej), ale przede wszystkim wysoką aktywność immobilizowanych biokatalizatorów (względny wzrost aktywności enzymu w porównaniu z jego formą rozpuszczoną (wolną)). Autorzy pracy wykazali również, że wobec wszystkich unieruchomionych w strukturze ZIF-8 enzymów obserwowano ponad 80-proc. aktywność (w porównaniu z początkową

aktywnością) po 18 cyklach użycia układu nośnik-enzym¹²⁾. Pozostałe przykłady zastosowania mezoporowatych sit molekularnych jako nośników enzymów oraz ich zastosowania zestawiono w tabeli.

Podsumowanie

Zastosowanie materiałów mezoporowatych jako adsorbentów w celu immobilizacji enzymów powoduje zazwyczaj (choć nie zawsze) zmniejszenie ich aktywności w porównaniu z formą rozpuszczalną. Użycie porowatego adsorbentu może ograniczać zarówno dostępność centrów aktywnych biokatalizatorów dla substratów, jak i utrudniać dyfuzję substratów i produktów. Unieruchomione enzymy wykazują jednak większą stabilność termiczną oraz optimum aktywności w szerszym zakresie odczynu środowiska. Ponadto zastosowanie porowatego adsorbentu umożliwia zazwyczaj kilkunastokrotne użycie układu nośnik-enzym, co jest istotne ze względów ekonomicznych.

Publikację sfinansowano ze środków MEiN (w 2025 r.) w ramach projektu nr WFB-405/S/2025 realizowanego na Wydziale Farmacji, Biotechnologii Medycznej i Medycyny Laboratoryjnej Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie.

Otrzymano: 03-06-2025

Zrecenzowano: 08-06-2025

Zaakceptowano: 09-06-2025

Opublikowano: 25-06-2025

LITERATURA

- [1] K.S.W. Sing, D.H. Everett, R.A.W. Haul, L. Moscou, R.A. Pierotti, J. Rouquerol, T. Siemienińska, *Pure Appl. Chem.* 1985, **57**, 603.
- [2] M. Moritz, M. Geszke-Moritz, *Mater. Sci. Eng. C* 2015, **49**, 114.
- [3] V. Meynen, P. Cool, E.F. Vansant, *Micropor. Mesopor. Mater.* 2009, **125**, 170.
- [4] M. Geszke-Moritz, A. Stoińska, M. Moritz, *Przem. Chem.* 2024, **103**, nr 11, 1256.
- [5] M. Moritz, M. Geszke-Moritz, *Materials* 2020, **13**, 2913.
- [6] M. Geszke-Moritz, A. Pyć, A. Stoińska, W. Lis, M. Moritz, *Przem. Chem.* 2022, **101**, nr 8, 602.
- [7] M. Moritz, W. Lis, M. Geszke-Moritz, *Przem. Chem.* 2023, **102**, nr 9, 947.
- [8] M. Moritz, M. Geszke-Moritz, *Przem. Chem.* 2024, **103**, nr 10, 1168.
- [9] C.C. de Sousa, L.N.S.S. Falleiros, E.J. Ribeiro, M.M. de Resende, *Food Bioprod. Process.* 2025, **149**, 165.
- [10] I. Bordin, V. de Aguiar Pedott, C.E.D. Oro, A. Junges, R.M. Dallago, M.L. Mignoni, *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2021, **193**, 1072.
- [11] L. Lin, X. Fan, Y. Yan, T. Lin, X. Han, D. Tang, L. Han, *Sens. Diagn.* 2025, **4**, 75.
- [12] Y. Liu, Z. Chen, Z. Wang, Y. Lv, *Adv. Sci.* 2024, **11**, 2309243.
- [13] E.T. Hwang, *Food Sci. Technol.* 2024, **197**, 115900.
- [14] P.-C. Kuo, Z.-X. Lin, T.-Y. Wu, C.-H. Hsu, H.-P. Lin, T.-S. Wu, *RSC Adv.* 2021, **11**, 10010.
- [15] P. Tian, M. Yang, A. Muhmood, H. Yu, X. Wang, Y. Sun, *Environ. Technol. Innov.* 2024, **36**, 103796.
- [16] Z. Zhang, Y. Zheng, Z. Dou, M. Gu, M. Sun, J. Song, N. Gao, F. Cui, Y. Tian, G. Zhu, *ACS Cent. Sci.* 2023, **9**, 488.
- [17] S.M. Mirsalami, M. Mirsalami, *Results Eng.* 2024, **22**, 102138.
- [18] S. Matsuura, T. Baba, T. Ikeda, K. Yamamoto, T. Tsunoda, A. Yamaguchi, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 2022, **14**, 29483.
- [19] S. Hao, M. Xu, L. Li, L. Wang, Z. Su, *Bioprocess Biosyst. Eng.* 2025, **48**, 53.
- [20] B. Yang, K. Tang, S. Wei, X. Zhai, N. Nie, *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2021, **193**, 2547.
- [21] J. Yang, Y. Yang, Z. Chang, Y. Huang, H. Yuan, Y. Zhao, X. Liu, C. Ni, *Environ. Sci. Pollution Res.* 2024, **31**, 25202.
- [22] P. Azhagapillai, K. Gopalsamy, I. Othman, N.I. Alhatti, M.A. Haija, S.S. Ashraf, *RSC Adv.* 2025, **15**, 5781.
- [23] Y.-Y. Yang, S.-L. Jing, J.-L. Shao, J.-X. Chen, W.-F. Zhang, S.-Y. Wan, Y.-P. Shen, H. Yang, W. Yu, *Nat. Prod. Bioprospect.* 2024, **14**, 50.
- [24] H. Zhang, Y. Li, L. Wei, Z. Wang, Y. Zhang, *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2025, **197**, 735.
- [25] H. Zhang, W. Liu, L. Wang, X. Zhang, B. Wang, X. Zeng, B. Zhang, *Green Chem. Lett. Rev.* 2024, **17**, 2338241.