

## LIGNINOLYTICKÉ ENZYMY JAKO ÚČINNÉ NÁSTROJE PRO BIODEGRADACI OBTÍŽNĚ ROZLOŽITELNÝCH ORGANOPOLUTANTŮ

MARTIN ŠUŠLA a KATEŘINA SVOBODOVÁ

Laboratoř experimentální mykologie, Mikrobiologický  
ústav AVČR, Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4  
susla@biomed.cas.cz

Došlo 2.12.05, přijato 11.5.06.

Klíčová slova: ligninperoxidasa, mangan-dependentní  
peroxidasa, lakasa, biodegradace, houby bílé hniloby

### Obsah

1. Úvod
2. Produkce ligninolytických enzymů houbami bílé hniloby a jejich význam při degradaci ligninu
3. Charakteristika ligninolytických enzymů
  - 3.1. Ligninperoxidasa
  - 3.2. Mangan-dependentní peroxidasa
  - 3.3. Lakasa
  - 3.4. Versatilní peroxidasa
4. Regulace exprese genů kódujících ligninolytické enzymy
5. Uplatnění ligninolytických enzymů v degradaci organopolutantů
6. Využití ligninolytických enzymů v biotechnologických aplikacích

### 1. Úvod

Znečištění životního prostředí nebezpečnými odpady, které obsahují obtížně rozložitelné látky, představuje v současné době významný ekologický problém. Jen v USA dosahuje roční produkce nebezpečných odpadů asi čtyřiceti miliónů tun. Přestože jsou některé produkované odpady v životním prostředí úspěšně rozkládány, existuje řada organických sloučenin, které vykazují extrémní odolnost vůči mikrobiální degradaci<sup>1</sup>.

Pro remediaci těchto typů látek byly vyvinuty fyzikální či chemické technologie založené na adsorbci, precipitaci, chemické oxidaci nebo membránové filtraci<sup>2</sup>. Podstatnou nevýhodou uvedených technologií je jejich finanční nákladnost a také možnost vzniku degradačních derivátů, které jsou toxičtější a odolnější dalšímu rozkladu než původní sloučeniny<sup>3</sup>. Alternativou postupů využívajících fyzikální a chemické degradace je biologická dekontaminace a bioremediace. Jedná se o technologický proces s účastí biologického systému, jehož cílem je efektivně

odstranit polutanty z životního prostředí<sup>4</sup>.

Mikroorganismy mohou mineralizovat organické polutanty na anorganické sloučeniny, jako je CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O, Cl<sup>-</sup> aj. Účinnost bioremediace perzistentních organopolutantů však z velké části závisí na biodegradační kapacitě použitého mikroorganismu. Bylo prokázáno, že houby bílé hniloby jsou schopny svým ligninolytickým enzymovým systémem degradovat a mineralizovat širokou skupinu obtížně rozložitelných látek<sup>5</sup>. Mezi tyto látky patří např. významné polutanty životního prostředí, jako jsou pesticidy, polychlorované bifenylly, polycyklické aromatické uhlovodíky, syntetická barviva, muniční odpad a syntetické polymery.

Ligninolytický enzymový systém byl popsán u mnoha dřevokazných hub bílé hniloby<sup>6</sup>. Tento referát shrnuje dosavadní poznatky o lignin-degradujících enzymech dřevokazných hub a jejich přímé účasti v biodegradačních procesech. Současně se referát zaměřuje na různé možnosti aplikace ligninolytických enzymů v bioremediacích těžko rozložitelných organopolutantů.

### 2. Produkce ligninolytických enzymů houbami bílé hniloby a jejich význam při degradaci ligninu

Dřevokazné basidiomycetní houby označované jako houby bílé hniloby jsou organismy známé produkcí lignin-degradujících enzymů. Označení houby bílé hniloby je odvozeno od vzhladu jimi napadeného dřeva. Tyto houby se vyznačují zcela ojedinělou schopností degradovat lignin. Rozložení ligninu vede u atakovaného dřeva k jeho vybělení<sup>7</sup>.

Lignin patří mezi třetí nejpočetnější biopolymer na Zemi (po celulóse a hemicelulóse). Jedná se o amorfní heterogenní polyfenolický biopolymer tvořený třemi základními monomery, koniferyly alkoholem, sinapyl alkoholem a *p*-kumaryl alkoholem<sup>8</sup>. Vzhledem ke značné složitosti molekuly ligninu je obtížné určit jeho přesnou chemickou strukturu a molekulovou hmotnost. Rovněž izolace nativního ligninu je velmi komplikovaná. Biodegradace ligninu představuje klíčový krok v koloběhu uhlíku v přírodě<sup>8</sup>.

Mezi nejprostudovanější ligninolytické enzymy hub bílé hniloby se řadí ligninperoxidasa (LiP, E.C. 1.11.1.14), mangan-dependentní peroxidasa (MnP, E.C. 1.11.1.13) a lakasa (Lac, E.C. 1.10.3.2)<sup>9</sup>. Někteří autoři uvádějí také mangan-independentní MnP a jiné versatilní peroxidasy<sup>10,11</sup>.

S těmito enzymy v biodegradaci ligninu dále spolupracují enzymy, které již nemají schopnost rozkládat lignin samy o sobě. Jsou to např. glyoxaloxidasa (E.C. 1.2.3.5), superoxiddismutasa (E.C. 1.15.1.1), glukosaoxidasa (E.C. 1.1.3.4), arylalkoholoxidasa (E.C. 1.1.3.7)

a cellobiosadehydrogenasa (E.C. 1.1.99.18). Tyto enzymy produkují  $H_2O_2$  vyžadovaný ligninolytickými peroxidasami nebo jinak propojují lignocelulosoové degradační dráhy<sup>12</sup>.

Houby bílé hniloby je možné na základě produkce ligninolytických enzymů rozdělit do několika skupin<sup>13</sup>. Tzv. LiP-MnP skupina obsahuje nejprostudovanějšího zástupce hub bílé hniloby *Phanerochaete chrysosporium* Burds. Houby patří do skupiny LiP-MnP se vyznačují produkcí ligninperoxidasy a MnP. Zbývajícími skupinami jsou MnP-Lac, LiP-Lac a nově skupina hub produkující tzv. versatilní peroxidasy.

### 3. Charakteristika ligninolytických enzymů

Hlavní ligninolytické enzymy hub bílé hniloby představují peroxidasy (LiP, MnP, versatilní peroxidasa) a fenoloxidas lakasa. Jsou to oxidativní a vzhledem k velké polymerní molekule jejich substrátu, ligninu, největší extracelulárně produkované enzymy. Substrátová specifita ligninolytických enzymů je velmi nízká vzhledem k nepravidelné struktuře molekuly ligninu. Právě nízká substrátová specifita dodává ligninolytickým enzymům široký biodegradační potenciál. Navíc bylo prokázáno, že ligninolytické enzymy jsou kódovány vždy několika geny, čímž je v houbových kulturách umožněna produkce různých izoenzymů lišících se svými katalytickými vlastnostmi v závislosti na vnějších podmínkách<sup>14</sup>.

#### 3.1. Ligninperoxidasa

Ligninperoxidasa (LiP) je glykoprotein s molekulovou hmotností v rozmezí 40–45 kDa. Jedná se o složený protein obsahující hem. V přítomnosti endogenně vytvářeného  $H_2O_2$  katalyzuje oxidaci nefenolických aromatických struktur ligninu za vzniku aryl kationtových radikálů<sup>15</sup>.

Během svého katalytického cyklu (obr. 1) je LiP oxi-

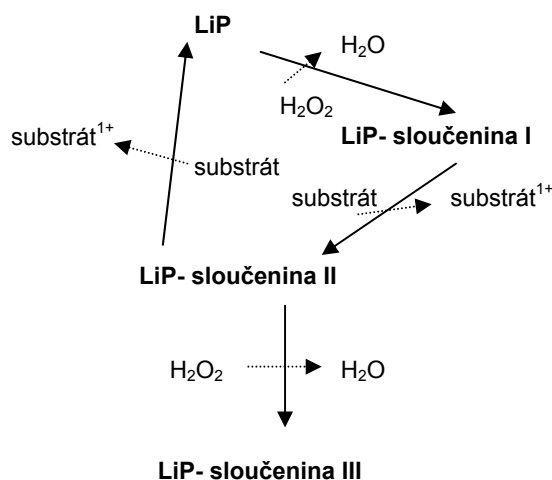
dována  $H_2O_2$ . Dochází k odejmutí dvou elektronů z její molekuly a vzniká meziprodukt (sloučenina I), který poté oxiduje substrát odstraněním jednoho elektronu za vzniku redukovatelnějšího enzymového meziproduktu (sloučenina II). Tento meziprodukt pak oxiduje další molekulu substrátu odejmutím jednoho elektronu, čímž se enzym vrací do svého původního stavu. V přítomnosti nízké koncentrace substrátu a nadbytku  $H_2O_2$  může být sloučenina II díky své vysoké reaktivitě s  $H_2O_2$  přeměněna na neaktivní formu enzymu (sloučenina III)<sup>15</sup>.

Inaktivaci enzymu v nadbytku  $H_2O_2$  brání aromatické látky jako např. veratryl alkohol a tryptofán. Pokud jsou tyto sloučeniny s protektivním účinkem přítomny, stávají se pro sloučeninu II vhodnějším substrátem a umožní dokončení katalytického cyklu LiP (cit.<sup>16</sup>).

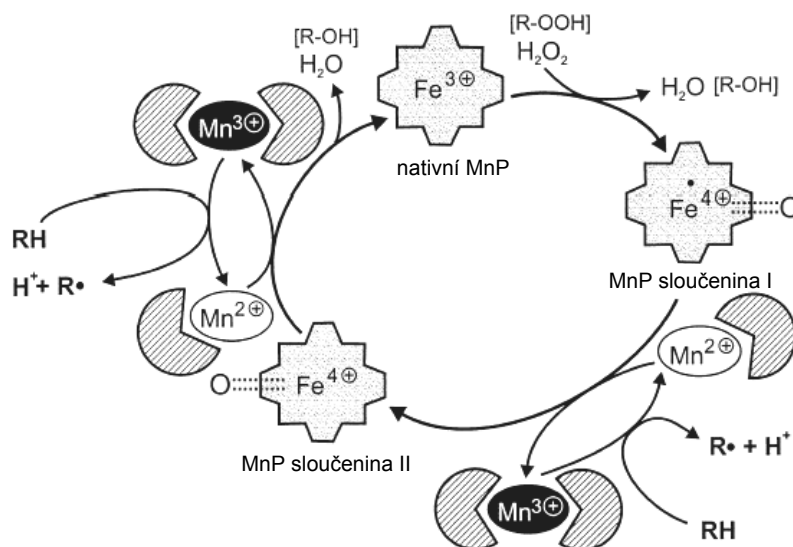
#### 3.2. Mangan-dependentní peroxidasa

Mn-dependentní peroxidasa (MnP) je také extracelulární hem-obsahující peroxidasa, která katalyzuje  $H_2O_2$ -dependentní oxidaci  $Mn^{2+}$  na vysoce reaktivní  $Mn^{3+}$ . Kation  $Mn^{3+}$  pak následně oxiduje fenolické části ligninu za vzniku volných radikálů. Vysoká reaktivita  $Mn^{3+}$  vyžaduje stabilizaci houbou produkovanými chelátory<sup>17</sup>. MnP je často produkována ve formě četných izoenzymů, jejichž molekulová hmotnost se pohybuje v rozmezí 45–55 kDa (cit.<sup>18</sup>). Izoenzymy MnP se liší zejména v izoelektrických bodech, které se nachází spíše v kyselé oblasti (pH 3–4, cit.<sup>19</sup>).

Katalytický cyklus MnP (obr. 2) je podobný jako u ostatních hemových peroxidas. Zahrnuje jak nativní formu enzymu obsahující kation  $Fe^{3+}$ , tak reaktivní meziprodukty (sloučenina I, sloučenina II)<sup>20</sup>. Na rozdíl od jiných peroxidas preferuje MnP jako substrát  $Mn^{2+}$ . Kation  $Mn^{2+}$  vystupuje jako donor jednoho elektronu a je oxidován na  $Mn^{3+}$ . Reaktivní  $Mn^{3+}$  je stabilizován karboxylovými kyselinami (šřavelová, malonová, mléčná). Vzniklé cheláty mohou následně katalyzovat jedno-elektronovou oxidaci



Obr. 1. Katalytický cyklus ligninperoxidasy (LiP) dřevokazných hub

Obr. 2. Katalytický cyklus mangan-dependentní peroxidasy (MnP) (cit.<sup>20</sup>)

různých substrátů<sup>20</sup>.

### 3.3. Lakasa

Lakasa (Lac) je *N*-glykosylovaná fenoloxidas. Bývá produkována mnoha houbami bílé hniloby<sup>13</sup>. Patří do skupiny oxidas obsahujících měď, které katalyzují čtyřelektronovou redukci kyslíku na vodu. Lac ligninolytických hub obsahuje ve své molekule čtyři atomy mědi (všechny v oxidačním stavu 2+), které jsou rozmístěny mezi třemi odlišnými vazebnými místy. Tyto ionty mědi hrají důležitou roli v katalytickém mechanismu enzymu<sup>21</sup>.

Lac představuje velmi nespecifický enzym s molekulovou hmotností v rozmezí 60–70 kDa (cit.<sup>21</sup>). Oxiduje mnoho odlišných sloučenin, jako jsou fenoly, polyfenoly, aromatické aminy a nefenolické organické substráty za vzniku reaktivních radikálů, které podléhají další již neenzymatické depolymerizaci, repolymerizaci nebo demethylaci. Kromě účasti Lac při degradaci ligninu zastává tento enzym u hub i další fyziologicky významné funkce. Podílí se např. na sporulaci, detoxifikaci či tvorbě buněčného pigmentu<sup>22</sup>.

Lac je taktéž mnohými houbami produkována ve formě různých izoenzymů. Jedná se o intracelulární i extracelulární enzymy, které jsou vylučovány do kultivačního média. Studie některých druhů hub naznačují přítomnost Lac vázané v jejich buněčné stěně<sup>23</sup>.

### 3.4. Versatilní peroxidasa

Versatilní peroxidasa (VP) byla jako ligninolytický enzym poprvé popsána u houby *Pleurotus eryngii*<sup>24</sup>. Později byla přítomnost VP prokázána také u dalších druhů

hub *Pleurotus* a *Bjerkandera*<sup>25,26</sup>. VP je schopna katalyzovat jak redoxní reakce typické pro LiP, tj. oxidaci nefenolických aromatických substrátů za vzniku aromatických radikálů, tak reakce typické pro MnP, tj. oxidaci Mn<sup>2+</sup> na Mn<sup>3+</sup>. Katalytické vlastnosti VP vedly k označení tohoto enzymu jako LiP-MnP hybrid<sup>27</sup>. Hybridní vlastnosti VP byly potvrzeny analýzou trojrozměrného modelu enzymu, na kterém byly nalezeny jak struktury přítomné u MnP, tak u LiP. VP z *P. eryngii* má vyšší afinitu k H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a Mn<sup>2+</sup>, než je tomu u peroxidasy houby *P. chrysosporium*<sup>27</sup>. Navíc také dobře oxiduje substituované fenoly, jež zmíněné peroxidasy neoxidují.

Produkce VP v širším spektru ligninolytických hub nebyla zatím detailněji studována. Dosud chybí též detailnější informace o biodegradčním potenciálu tohoto enzymu.

## 4. Regulace exprese genů kódujících ligninolytické enzymy

Regulace genů kódujících ligninolytické enzymy byla studována na úrovni transkripce (mRNA) především u modelového organismu dřevokazných hub *P. chrysosporium*<sup>28,29</sup>. Ligninolytické houby mají ve svém genomu několik blízkce příbuzných, avšak odlišně regulovaných *mnp* a *lip* genů. Genom *P. chrysosporium* obsahuje minimálně deset *lip* genů označovaných jako *lipA* až *lipJ* (cit.<sup>28</sup>) a tři *mnp* geny označované jako *mnp1* až *mnp3* (cit.<sup>29</sup>). V důsledku velkého počtu homologních genů *lip*, *mnp* a *lac* přítomných v genomu ligninolytických hub je hodnocení exprese pomocí klasických metod jako je Northern

blot analýza a RT-PCR komplikované<sup>30</sup>.

Obecně lze říct, že exprese ligninolytických genů u hub bílé hniloby je spouštěna jako odpověď na stres vyvolaný vyčerpáním nebo naopak zvýšením koncentrace živin. Je potřeba zmínit, že lignin není pro houby bílé hniloby substrátem primárního metabolismu, nýbrž je degradován během sekundárního metabolismu pravděpodobně proto, aby byl jeho rozložením umožněn přístup k polysacharidům uloženým v lignino-polysacharidovém komplexu<sup>31</sup>. Sám lignin neslouží jako zdroj uhlíku ani energie.

U *P. chrysosporium* je exprese *mnp* genů aktivována vyčerpáním dostupného dusíku<sup>32</sup>. Exprese *mnp* v houbových kulturách je na úrovni transkripce regulována také  $H_2O_2$ ,  $Mn^{2+}$ , tepelným šokem a přítomností některých látek, např. ethanolu nebo 2,4-dichlorofenolu<sup>33</sup>. Regulace  $Mn^{2+}$  je na regulaci dusíkem nezávislá<sup>34</sup>.

Expres *lip* je rovněž ovlivněna koncentrací Mn. Bylo prokázáno úplné zastavení produkce LiP, pokud byla v médiu vysoká hladina Mn (cit.<sup>35</sup>), přičemž v médiu bez Mn je LiP *P. chrysosporium* syntetizována i při nižších hladinách kyslíku, který je pro tvorbu LiP jinak nezbytný<sup>36</sup>.

Expres *lac* genů u hub bílé hniloby není tak striktně závislá na hladině dostupných živin. U mnoha basidiomycetních hub se Lac tvoří konstitutivně<sup>37</sup>. Nízká konstitutivní exprese Lac může být zvýšena induktory<sup>38</sup>. Jako induktory aktivity Lac mohou sloužit aromatické sloučeniny, např. 2,5-xylydin nebo veratrylalkohol. Aktivitu Lac zvyšuje i přidávek  $Cu^{2+}$  působící regulačně na úrovni transkripce<sup>39</sup>.

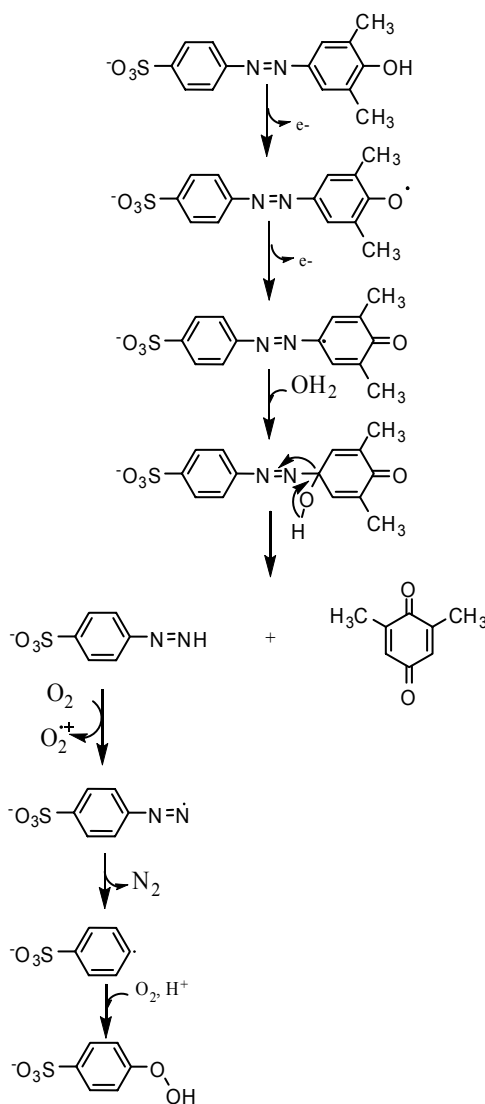
Již v dřívější době se prokázalo, že regulace produkce ligninolytických enzymů je značně komplikovaná a u některých druhů hub, např. *Bjerkandera* sp., se výrazně liší od poznatků získaných s *P. chrysosporium*<sup>40</sup>. Studium těchto regulačních mechanismů je významné z hlediska možného zvýšení biodegradční kapacity jednotlivých hub bílé hniloby.

## 5. Uplatnění ligninolytických enzymů v degradaci organopolutantů

Schopnost hub bílé hniloby transformovat a/nebo mineralizovat široké spektrum organopolutantů byla popsána v řadě studií<sup>5</sup>. Biodegradčních procesů se ve většině případů přímo účastní ligninolytické enzymy<sup>41</sup>.

U některých druhů dřevokazných hub bylo zjištěno, že mohou rozkládat nebezpečné aromatické nitrosloučeníny<sup>42</sup>. Např. *P. chrysosporium* byla schopna mineralizovat 2,4,6-trinitrotoluen<sup>43</sup>. Studie s purifikovanou MnP prokázala, že za degradaci této explozivní aromatické sloučeniny byly odpovědné ligninolytické enzymy<sup>44</sup>.

Ligninolytické enzymy hub bílé hniloby se přímo uplatňují také při biodegradaci polychlorovaných bifenyly (PCB)<sup>43,45</sup>. Dec a Bollag<sup>46</sup> uvádí zapojení Lac houby *Trametes versicolor* v dehalogenaci PCB. V současné době však dosud není přesná role ligninolytických enzymů při



Obr. 3. Navržený mechanismus degradace 4-(4'-sulfofenylazo)-2,6-dimethylfenolu pomocí *P. chrysosporium* LiP (cit.<sup>52</sup>)

odstraňování PCB známa.

Ligninolytické enzymy hrají důležitou roli i při degradaci a mineralizaci polycyklických aromatických uhlovodíků (PAU), které svou toxicitou a perzistencí v životním prostředí představují vážný ekologický problém<sup>47</sup>. Purifikovaná MnP houby *P. chrysosporium* efektivně oxidovala dvanáct různých PAU tvořených 3–6 aromatickými kruhy<sup>48</sup>. Lac *T. versicolor* byla rovněž schopna oxidovat *in vitro* PAU, jako acenaftalen, acenaftylen, anthracen a fluoren<sup>49</sup>.

Houby bílé hniloby jsou také často studovanými mikroorganismy z hlediska jejich schopnosti účinně degradovat syntetická barviva<sup>50,51</sup>. Mechanismus dekolorizace syntetických barviv houbami bílé hniloby není zatím uspokojivě objasněn. V současné době je studováno uplatnění jednotlivých ligninolytických enzymů v dekolorizaci a degradaci syntetických barviv *in vitro*.

LiP *P. chrysosporium* oxiduje různá sulfonovaná azo barviva za vzniku benzochinonů a sulfofenyl hydroperoxidů<sup>52</sup>. Degradací mechanismus zahrnuje dvě enzymově katalyzované jedno-elektronové oxidace fenolického kruhu azo barviva (obr. 3). Vznik karboniového iontu je následován několika neenzymovými reakcemi, které vedou k rozpadu molekuly barviva.

MnP produkovaná houbou *Phanerochaete sordida* dokázala v přítomnosti surfaktantu Tween 80 dekolorizovat *in vitro* barvivo Reactive Red 120 (cit.<sup>53</sup>). Rovněž MnP izolovaná z *P. chrysosporium* vykazuje schopnost dekolorizovat vybraná syntetická barviva *in vitro*<sup>54</sup>. Moreira a spol.<sup>55</sup> uvádí, že zvýšení koncentrace Mn v kultivačním médiu vedlo k indukci aktivity MnP u hub *P. sordida* a *P. chrysosporium*. Vyšší aktivita MnP pozitivně korelovala s dekolorizační kapacitou studovaných hub.

Účast v dekolorizaci syntetických barviv byla prokázána i u četných lakas hub bílé hniloby. Ukázalo se, že Lac produkovaná houbou *T. versicolor* umí degradovat i strukturně odlišná syntetická barviva, jako jsou azo, anthrachinonová a indigo barviva<sup>56</sup>. Mechanismus degradace syntetických barviv pomocí Lac *T. versicolor* se liší v závislosti na struktuře použitého barviva. Anthrachinonové barvivo Acid Green 27 je přímo oxidováno Lac, zatímco oxidace azo barviva Acid Violet 7 a indigo barviva Indigo Carmine je realizována pouze za účasti redoxních mediátorů<sup>53</sup>. Přídavek redoxních mediátorů, např. 2,2-azino-di-(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonové kyseliny) nebo 1-hydroxybenzotriazololu, může takto dále rozšířit již tak široké spektrum lakasami oxidovaných substrátů<sup>57,58</sup>.

Dekolorizační studie s Lac z *Trametes hirsuta* demonstrovaly schopnost Lac dekolorizovat triarylmethanová, azo i anthrachinonová barviva a současně snížení biologické toxicity těchto látek<sup>59</sup>.

## 6. Využití ligninolytických enzymů v biotechnologických aplikacích

Jak již bylo uvedeno, ligninolytické enzymy hub bílé hniloby degradují široké spektrum obtížně rozložitelných organopolutantů. Jejich vysoká degradační schopnost nabízí možnost uplatnění ligninolytických enzymů v bioremediaci organopolutantů. Širšímu použití v praxi však dosud brání několik faktorů.

Množství enzymů produkovaných kulturami dřevokazných hub za neindukčních podmínek není pro průmyslové využití dostačující. Zvýšení jejich produkce často vyžaduje přídavek toxických a/nebo drahých induktorů<sup>60</sup>. Řešením tohoto problému může být heterologní exprese v geneticky modifikovaných askomycetních organismech. Tato strategie byla aplikována na produkci lakasy v kvasince *Saccharomyces cerevisiae*<sup>61,62</sup>. Katalytické vlastnosti heterologně exprimovaných enzymů však mohou být díky rozdílům v glykosylaci natolik odlišné, že jsou tyto rekombinantní enzymy pro aplikaci v bioremediacích následně nevhodné<sup>63</sup>. Další možností je exprese ligninolytických enzymů u basidiomycetních hub

s použitím vysoce účinných promotorů předřazených genům ligninolytických enzymů<sup>64</sup>.

Dosavadní povzbudivé výsledky z laboratorních studií s ligninolytickými enzymy vedly ke konstrukci mnoha různých typů bioreaktorů pro kultivaci ligninolytických hub. Bioreaktory zajišťují stabilní prostředí pro kontinuální degradaci organopolutantů a umožňují snadnou regulaci průběhu biodegradačního procesu. Imobilizované mycelium *Bjerkandery adusta* bylo použito pro dekolorizaci diazo barviva Reactive Black 5 v tankovém reaktoru<sup>65</sup>. Měření aktivit ligninolytických enzymů v průběhu dekolorizačního procesu ukázalo, že za dekolorizaci barviva byly pravděpodobně zodpovědné aktivity LiP a MnP. Dekolorizace Basic Blue 22 pomocí *P. sordida* byla studována v rotačním biologickém kontaktoru<sup>66</sup>. Nejvyšší dekolorizační účinnosti (80 %) bylo dosaženo za použití plastických disků jako pevného nosiče pro růst houbového mycelia.

Další typ reaktorů pro remediaci organopolutantů představují membránové reaktory s imobilizovanými purifikovanými ligninolytickými enzymy<sup>67</sup>. Abadulla a spol.<sup>59</sup> ukázali, že imobilizace enzymu zvyšuje jeho stabilitu a toleranci vůči enzymovým inhibitorům a různým průmyslovým aditivům.

I když je vzhledem k rozdílným použitým kultivačním podmínkám velmi složité porovnávat jednotlivé dosažené výsledky, aplikace bioreaktorů pro bioremediace obtížně rozložitelných látek se jeví jako velmi slibné řešení ekologického problému kontaminace životního prostředí průmyslovými organopolutanty. Využití degradačních aktivit ligninolytických enzymů pro bioremediaci organopolutantů vede nejen k odstranění těchto látek ze životního prostředí, ale účinně též snižuje jejich biologickou toxicitu. Vzhledem k široké substrátové specifičnosti představují ligninolytické enzymy hub bílé hniloby slibné bioremediační agens.

## LITERATURA

1. Fernando T., Aust S. D., v knize: *Biological Degradation and Bioremediation of Toxic Chemicals* (Chandry G. R., ed.), str. 386–402. Chapman & Hall, London 1994.
2. Yeh R. Y. L., Thomas A.: *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 63, 55 (1995).
3. Robinson T., McMullan G., Marchant R., Nigam P.: *Bioresour. Technol.* 77, 247 (2001).
4. Head I. M.: *Microbiology* 144, 599 (1998).
5. Pointing S. B.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 57, 20 (2001).
6. Leonowicz A., Matuszewska A., Luterek J., Ziegenhagen D., Wojtas-Wasilewska M., Cho N. S., Hofrichter M., Rogalski J.: *Fungal Genet. Biol.* 27, 175 (1999).
7. Reddy C. A.: *Curr. Opin. Biotechnol.* 6, 320 (1995).
8. Hatakka A., v knize: *Biopolymers* (Steinbüchel A., ed.), kap. 5. WILEY-VCH, Weinheim 2001.

9. Tuor U., Winterhalter K., Fiechter A.: *J. Biotechnol.* **41**, 1 (1995).
10. Ruiz-Duenas F. J., Camarero S., Perez-Boada M., Martinez M. J., Martinez A. T.: *Biochem. Soc. Trans.* **29**, 116 (2001).
11. Heinfling A., Martinez M. J., Martinez A. T., Bergbauer M., Szewzyk U.: *Appl. Environ. Microbiol.* **64**, 2788 (1998).
12. Leonowicz A., Cho N. S., Luterek J., Wilkolazka A., Wojtas-Wasilewska M., Matuszewska A., Hofrichter M., Wesenberg D., Rogalski J.: *J. Basic Microbiol.* **41**, 185 (2001).
13. Hatakka A.: *FEMS Microbiol. Rev.* **13**, 125 (1994).
14. Martinez A. T.: *Enzyme Microb. Technol.* **30**, 425 (2002).
15. Wariishi H., Gold M. H.: *FEBS Lett.* **243**, 165 (1989).
16. Collins P. J., Field J. A., Teunissen P., Dobson A. D. W.: *Appl. Environ. Microbiol.* **63**, 2543 (1997).
17. Mäkelä M., Galkin S., Hatakka A., Lundell T.: *Enzyme Microb. Technol.* **30**, 542 (2002).
18. de la Rubidia T., Linares A., Peres J., Munoz-Dorado J., Romea J., Martinez J.: *Res. Microbiol.* **153**, 547 (2002).
19. Ha H. C., Honda Y., Watanabe T., Kuwahara M.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **55**, 704 (2001).
20. Hofrichter M.: *Enzyme Microb. Technol.* **30**, 454 (2002).
21. Baldrian P.: *FEMS Microbiol. Rev.* **30**, 215 (2006).
22. Thurston C. F.: *Microbiology-Uk* **140**, 19 (1994).
23. Zhu X. D., Gibbons J., Garcia-Rivera J., Casadevall A., Williamson P. R.: *Infect. Immun.* **69**, 5589 (2001).
24. Martinez M. J., Ruiz-Duenas F. J., Guillen F., Martinez A. T.: *Eur. J. Biochem.* **237**, 424 (1996).
25. Sarkar S., Martinez A. T., Martinez M. J.: *Biochim. Biophys. Acta* **1339**, 23 (1997).
26. Moreira P. R., Duez C., Dehareng D., Antunes A., Almeida-Vara E., Frere J. M., Malcata F. X., Duarte J. C.: *J. Biotechnol.* **118**, 339 (2005).
27. Moreira P. R., Bouillenne F., Almeida-Vara E., Malcata F. X., Frere J. M., Duarte J. C.: *Enzyme Microb. Technol.* **38**, 28 (2006).
28. Gaskell J., Stewart P., Kersten P. J., Covert S. F., Reiser J., Culen D.: *Bio-technology* **12**, 1372 (1994).
29. Alic M., Akileswaran L., Gold M. H.: *Biochim. Biophys. Acta* **1338**, 1 (1997).
30. Aro N., Pakula T., Penttilä M.: *FEMS Microbiol. Rev.* **29**, 719 (2005).
31. Jeffries T. W.: *Biodegradation* **1**, 163 (1990).
32. Li D., Alic M., Gold M. H.: *Appl. Environ. Microbiol.* **60**, 3447 (1994).
33. Sheel T., Hofer M., Ludwig S., Holker U.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **54**, 686 (2000).
34. Hamman O. B., de la Rubia T., Martinez J.: *FEMS Microbiol. Lett.* **177**, 137 (1999).
35. Reddy C. A., D'Souza T. M.: *FEMS Microbiol. Rev.* **13**, 137 (1994).
36. Rothschild N., Levkowitz A., Hadar Y., Dosoretz C. G.: *Appl. Environ. Microbiol.* **65**, 483 (1999).
37. Collins P., Dobson A. W.: *Appl. Environ. Microbiol.* **63**, 3444 (1997).
38. Eggert C., Temp U., Dean J. F. D., Eriksson K. E. L.: *FEBS Lett.* **391**, 144 (1996).
39. Galhaup C., Haltrich D.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **56**, 225 (2001).
40. Mester T., Pena M., Field J. A.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **44**, 778 (1996).
41. Rabinovich M. L., Bolobova A. V., Vasilchenko L. G.: *Appl. Biochem. Microbiol.* **40**, 1 (2004).
42. Donnelly K. C., Chen J. C., Huebner H. J., Brown K. W., Autenrieth R. L., Bonner J. S.: *Environ. Toxicol. Chem.* **16**, 1105 (1997).
43. Paszynski A., Crawford R. L.: *Biotechnol. Prog.* **11**, 368 (1995).
44. Scheibner K., Hofrichter M.: *J. Basic Microbiol.* **38**, 51 (1998).
45. Novotný C., Vyas B. R. M., Erbanová P., Kubátová A., Šašek V.: *Folia Microbiol.* **42**, 136 (1997).
46. Dec J., Bollag J. M.: *Environ. Sci. Technol.* **29**, 657 (1995).
47. Andersson B. E., Henrysson T.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **46**, 647 (1996).
48. Bogan B. W., Lamar R. T.: *Appl. Environ. Microbiol.* **61**, 2631 (1995).
49. Johanes C., Majcherczyk A.: *Appl. Environ. Microbiol.* **66**, 524 (2000).
50. McMullan G., Meehan C., Conneely A., Kirby N., Robinson T., Nigam P., Banat I. M., Marchant R., Smyth W. F.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **56**, 81 (2001).
51. Wesenberg D., Kyriakides I., Agathos S. N.: *Biotechnol. Adv.* **22**, 161 (2003).
52. Chivukula M., Spadaro J. T., Renganathan V.: *Biochemistry* **34**, 7765 (1995).
53. Harazono K., Watanabe Y., Nakamura K.: *J. Biosci. Bioeng.* **95**, 455 (2003).
54. Moldes D., Couto S. R., Cameselle C., Sanroman M. A.: *Chemosphere* **51**, 295 (2003).
55. Moreira M. T., Mielgo I., Feijoo G., Lema J. M.: *Biotechnol. Lett.* **22**, 1499 (2000).
56. Wong Y. X., Yu J.: *Water Res.* **33**, 3512 (1999).
57. Claus H., Faber G., König H.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **59**, 672 (2002).
58. Hou H. M., Zhou J. T., Wang J., Du C. H., Yan B.: *Process Biochem.* **39**, 1415 (2004).
59. Abadulla E., Tzanov T., Costa S., Robra K. H., Cavaco-Paulo A., Gubitza G. M.: *Appl. Environ. Microbiol.* **66**, 3357 (2000).
60. Soden D. M., Dobson A. D. W.: *Microbiology* **147**, 1755 (2001).
61. Necochea R., Valderrama B., Diaz-Saladoval S., Folch-Mallol J. L., Vazquez-Duhalt R., Iturriaga G.: *FEMS Microbiol. Lett.* **244**, 235 (2005).
62. Valkonen M., Penttilä M., Saloheimo M.: *Mol. Gen. Genet.* **272**, 443 (2004).
63. Larrondo L. F., Avila M., Salas L., Cullen D., Vicuna R.: *Microbiology* **149**, 1177 (2003).

64. Kajita S., Sugawara S., Miyazaki Y., Nakamura M., Katayama Y., Shishido K., Imura Y.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 66, 194 (2004).
65. Mohorcic M., Friedrich J., Pavko A.: *Acta Chimica Slovenia* 51, 619 (2004).
66. Yang G., Liu Y., Kong Q. G.: *Process Biochem.* 39, 1401 (2004).
67. Lopez C., Mielgo I., Moreira M. T., Feijoo G., Lema J. M.: *J. Biotechnol.* 99, 249 (2002).

**M. Šušla and K. Svobodová** (*Laboratory of Experimental Mycology, Institute of Microbiology, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague*): **Ligninolytic Enzymes as Useful Tools for Biodegradation of Recalcitrant Organopollutants**

Basidiomycetes fungi are known to degrade various organopollutants, including polyaromatic hydrocarbons, pesticides, several polychlorinated compounds, and synthetic dyes. Their biodegradation capacity is often correlated with the production of nonspecific oxidative ligninolytic enzymes such as lignin peroxidase, Mn-dependent peroxidase, and laccase. The review summarizes the most important characteristics of ligninolytic enzymes from the viewpoint of their application in bioremediation processes. The focus is on the involvement of ligninolytic enzymes in synthetic dye decolorization, showing a proposed pathway of lignin peroxidase oxidation of azo dyes. It was concluded that bioreactors with the fungi or pure ligninolytic enzymes could become a promising bioremediation technology applicable to industrial waste water treatment.

## 16. Konference APROCHEM 2007

16. – 18. duben 2007 Milovy – Sněžné n.M. Hotel Devět Skal

Chemické technologie • Ropa • Petrochemie • Polymery

Udržitelný rozvoj průmyslu • Výzkum • Školství • Prostředí • Bezpečnost • Legislativa

## 2. Symposium ODPADOVÉ FÓRUM 2007

18. – 20. duben 2007 Milovy – Sněžné n.M. Hotel Devět Skal

Výsledky výzkumu a vývoje pro odpadové hospodářství

Nebezpečné, chemické, biodegradabilní a inertní odpady • Termické využití • Recyklace

Sanace zátěží • Systémové otázky • Odpadní vody • Odpadní plyny • Čištění exhalací

Doprovodná technická výstavka + Firemní prezentace + Nabídka možností inzerce.

Odborné příspěvky prosíme nejpozději 15.1.2007. Plná znění elektronicky do 15.3.2007.

Texty příspěvků pro účastníky na CD ROM i v tištěné podobě. Informace účastníkům a autorům na [www.aprochem.cz](http://www.aprochem.cz), v 1. cirkuláři v říjnu 2006 a ve 2. cirkuláři v únoru 2007.

Připravuje: PCHE – PetroCHemEng ve spolupráci s ČSPCH, ČSCHL, ČSCH, VŠCHT Praha, SCHP ČR, ÚCHP AV ČR a CEMC. Kontakty: Ing. Jaromír Škarka, CSc., Na Dračkách 13, 162 00 Praha 6, T/F: 233 336 138, T/F: 220 518 698, M: 607 671 866, E: [pche@csvts.cz](mailto:pche@csvts.cz)