

УДК 577.152.193;199

УЧАСТИЕ ЛАККАЗЫ И ПЕРОКСИДАЗЫ ГРИБА *Lentinus (Panus) tigrinus* В БИОДЕГРАДАЦИИ ВЫСОКИХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ФЕНОЛА В ЖИДКИХ СРЕДАХ

© 2011 г. Д. А. Кадималиев, В. В. Ревин, Н. А. Атыкян, О. С. Надежина, А. А. Паршин

Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева, Саранск, 430005

e-mail: cadimded@yandex.ru

Поступила в редакцию 24.11.2009 г.

Исследована возможность использования гриба *Lentinus tigrinus* штамм ВКМ F-3616D для биодegradации высоких (до 5%) концентраций фенола в жидких средах, участие ферментов лакказы и пероксидазы в этом процессе. Показано, что гриб *L. tigrinus* способен эффективно разрушать фенол, при этом биомасса легко удалялась из жидкости. Снижение концентрации фенола сопровождалось повышением уровня секреции и активности лакказы на начальных, а пероксидазы на более поздних этапах биодegradации. Для эффективной биодegradации фенола необходима секреция этих ферментов в определенных соотношениях и последовательности. Предложен эффективный способ снижения концентрации фенола в сточных водах коптильных цехов мясоперерабатывающих комплексов с использованием гриба *L. tigrinus*.

С развитием промышленности и сельского хозяйства в биосферу поступает все большее количество различных ксенобиотиков, загрязняющих окружающую среду. В настоящее время нагрузка на естественные процессы самоочищения биосферы является избыточной. Параллельно с деструкцией идет постепенное накопление и преобразование еще более токсичных соединений.

Фенольные соединения относятся к числу наиболее распространенных поллютантов водных экосистем и представляют опасность для здоровья человека и животных. По встречаемости в биосфере и экологической опасности они занимают третье место после тяжелых металлов и нефтепродуктов и являются основными токсичными компонентами сточных вод ряда промышленных производств. В стоках пищевых предприятий, например коптильных цехов мясоперерабатывающих комплексов, содержание фенолов может достигать до 3%. Такие стоки, попадая на биологические очистные сооружения, приводят к угнетению и впоследствии гибели микроорганизмов активного ила и, как следствие, попадают в окружающую среду [1–3].

Перспективным в детоксикации фенольных соединений может быть использование грибов “белой гнили”. Эти грибы обладают мощным потенциалом деструкции ароматических соединений, в основе которого лежит их способность разлагать природный фенольный полимер – лигнин за счет экзоферментов литического комплекса [1, 4, 5].

В этом отношении перспективен лигнолитический гриб *Lentinus (Panus) tigrinus* штамм ВКМ F-3616D, обладающий высокой лигнолитической активностью [6–8] за счет способности производи-

вать нетипичную “желтую” лакказу (КФ 1.10.3.2) и секреторную пероксидазу растительного типа (КФ 1.11.1.7) [9–11]. Использование данного микроорганизма и его экзоферментов перспективно для разработки эффективных процессов утилизации широкого спектра токсичных фенольных соединений.

Цель работы – исследование возможности культивирования гриба *L. tigrinus* на средах с высокими концентрациями фенола и роли внеклеточного лигнолитического ферментного комплекса (ВЛФК) в процессе его биодegradации.

МЕТОДИКА

Гриб *Lentinus (Panus) tigrinus* (пилолистник тигровый) был выделен на кафедре биотехнологии Мордовского государственного университета им. Н.П. Огарева из сухих плодовых тел гриба, растущего на березовом валежнике в окрестностях г. Саранска, и депонирован во Всероссийской коллекции микроорганизмов как штамм ВКМ F-3616 D.

Гриб поддерживали на сусло-агаре. Кусочек заросшего грибом агара вносили в конические колбы Эрленмейера объемом 500 мл со 100 мл среды Чапека–Докса, содержащей дополнительно 15 г/л лигносульфоната, и выращивали инокулят в течение 4 сут на качалках (235 об/мин) при 26°C. В опытных вариантах культивирование осуществлялось на модифицированной среде Эггерта [12] с глюкозой (0.5%) и березовыми опилками (20 г/л). Для засева использовали 5% (об.) 4-суточного инокулята. Культуру гриба выращивали глубинным способом при перемешивании (235 об/мин, 26°C, колбы Эрлен-

мейера 500 мл, 100 мл среды) в течение 6 и 9 сут с добавлением фенола в концентрации 1 и 5%. Фенол добавляли на 3 (трофофаза) и 6 сут (идиофаза) роста культуры.

В экспериментах по изучению возможности практического использования гриба *L. tigrinus* для биодegradации высоких концентраций фенола и его производных выращивание культуры гриба *L. tigrinus* проводили на стоках коптильного цеха мясоперерабатывающего комплекса (смывы, образующие в результате мойки коптильных камер и конденсат коптильного дыма). В ферментер ("ОКА-М1", Россия) объемом 1 л помещали 0.5 л стоков без разбавления после доведения pH до 6.0.

Активность лакказы определяли по окислению пирокатехина [13] с коэффициентом поглощения $740 \text{ мкМ}^{-1} \text{ см}^{-1}$, а пероксидазы — по окислению о-дианизидина [14], $30000 \text{ мкМ}^{-1} \text{ см}^{-1}$. Начальную скорость реакции измеряли на спектрофотометре СФ-46 ("ЛОМО", Россия). За единицу активности принимали количество фермента, катализирующее окисление 1 мкмоль субстрата в течение 1 мин в оптимальных условиях. Удельную активность рассчитывали как ед./мг белка.

Содержание белка определяли по методу Бредфорд [15], количество биомассы — гравиметрически. Содержание фенола контролировали с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии на хроматографе Милихром 4 (Россия) [16] и на фотоэлектроколориметре КФК-2 (Россия) по реакции с 4-аминоантипирином [17].

Для определения содержания фенолов на хроматографе Милихром 4 использовали метод абсолютной градуировки. Градуировку и проведение определений производили в идентичных условиях в автоматическом режиме работы хроматографа. Перед началом градуировки и анализа промывали колонку, пропуская 1000 мкл элюента при скорости 100 мкл/мин до установления постоянного значения оптической плотности при длине волны 280 нм.

Для выполнения градуировки и измерений в автоматическом режиме в соответствии с "Программой регистрации и обработки информации" устанавливались следующие параметры: объем ступени — 1500 мкл, объем элюента в режиме "регенерация" — 100 мкл, в режиме "буфер" — 6 мкл, расход элюента — 100 мкл/мин, скорость набора — 999 мкл/мин, длина волны — 280 нм, масштаб регистрации — 0.5 е.о.п., время измерения — 0.4 с; идентификацию пиков на хроматограммах проводили по времени удерживания компонентов.

Для определения содержания фенолов на КФК-2 (Россия) по реакции с 4-аминоантипирином в перегонную колбу на 500 мл наливали культуральную жидкость в таком количестве (мл), чтобы предел обнаружения совпадал с чувствительностью метода. К пробе добавляли воды до 90 мл, 1 мл 10%-ного рас-

твора CuSO_4 и 1 мл концентрированной H_2SO_4 , и помещали в перегонный аппарат. Кончик холодильника Либиха погружали в 10 мл 0.05 н. раствора NaOH , pH отгона должен быть не более 9.0, и отгоняли около 90 мл.

Перегонную жидкость выливали в мерную колбу на 100 мл с притертой пробкой. В колбу добавляли 1 мл 10%-ного CuSO_4 , 1 мл конц. H_2SO_4 , 2.5 мл буферного раствора, pH 10.0, 1 мл 2%-ного 4-аминоантипирина и 3.5 мл 20%-ного персульфата аммония, доводили объем до 100 мл водой и через 5 мин измеряли оптическую плотность при длине волны 540 нм в кюветах на 5 см. Содержание фенолов рассчитывали по калибровочному графику, для построения которого в 6 мерных колб на 100 мл вносили 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 мл 0.01 мг/мл рабочего стандартного раствора фенола, далее вносили реактивы, как описано выше. Для контрольной пробы брали 75 мл воды, 1 мл 10%-ного CuSO_4 , 1 мл конц. H_2SO_4 , 2.5 мл 2%-ного 4-аминоантипирина и 3.5 мл 20%-ного персульфата аммония, доводили водой объем до 100 мл. К дистиллированной H_2O прибавляли 0.1 н. NaOH до $\geq \text{pH}$ 10.0 и KMnO_4 до краснофиолетовой окраски и перегоняли.

Все результаты, полученные не менее чем в 5 параллельных опытах, статистически обрабатывали с использованием ЭВМ и программы Microsoft Excel 2000. Линейную аппроксимацию данных проводили с использованием пакета статистической обработки результатов приложения Microsoft Excel 2000.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Рост культуры гриба *L. tigrinus* в условиях глубинного культивирования в контрольной среде и на средах с высокими концентрациями фенола в основном наблюдался в виде pellets различного размера, быстро оседающих после прекращения перемешивания. Это особенно важно для последующей разработки биотехнологического процесса очистки жидких токсичных стоков, главным условием которого является быстрое окисление поллютантов и эффективное отделение биомассы активного ила в процессе осветления сточной воды.

В ходе исследования было выявлено, что добавление фенола в среду для культивирования после 3 сут роста в концентрации до 5% не только не вызвало угнетения роста культуры гриба *L. tigrinus*, но и стимулировало метаболические процессы, что нашло отражение в значительном приросте биомассы по сравнению с контрольным вариантом (рис. 1). Вероятно, накопление биомассы при добавлении фенола связано со способностью гриба *L. tigrinus* (так же, как и других грибов белой гнили) использовать ароматические соединения в качестве дополнительного источника углерода и энергии при кометаболлизме легко утилизируемых субстратов (глюкоза,

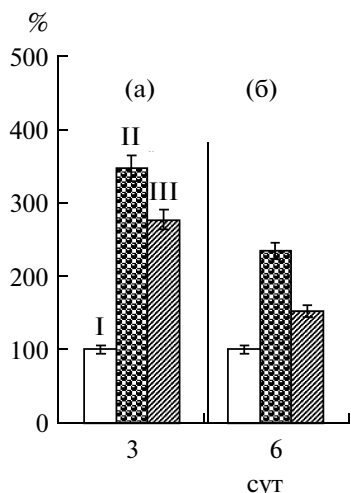


Рис. 1. Влияние фенола на накопление биомассы (%) на 9 сут культивирования гриба *L. tigrinus* при его добавлении на 3 (а) и 6 (б) сут: I – контроль; II – 1%, III – 5% фенола.

ксилоза, целлюлоза и др., в нашем эксперименте – 0.5% глюкозы) [18].

Наряду с активными ростовыми процессами наблюдалось и снижение концентрации растворенного фенола в питательной среде, при этом интенсивность процесса зависела от начальной концентрации и времени его внесения. При добавлении фенола в трофофазу уже к 6 сут убыль растворенного фенола составила 50 и 56% от исходного количества в вариантах с 1- и 5%-ной концентрацией соответственно. Дальнейшее культивирование выявило более интенсивную убыль фенола в варианте с 1% по сравнению с 5% – 62 и 58% к исходному содержанию соответственно (рис. 2).

Внесение фенола в среду, когда процесс роста завершен (идиофаза), и в среде накоплено значительное количество окислительных ферментов, приводило к усилению процессов деградации, в результате чего к концу культивирования его убыль достигала 70%. Интегрирование кривых убыли фенола позволило судить о близких скоростях его деградации и(или) преобразования в диапазоне 1–5%, при этом с возрастанием концентрации требовалось более позднее введение в среду – на стадии активного синтеза ВЛФК, когда основные ростовые процессы завершены.

Для установления роли ферментов в деградации фенола исследовали также динамику синтеза и секреции отдельных ферментов ВЛФК гриба в присутствии субстрата.

Проведенные исследования показали, что фенол в концентрации 1%, добавленный в трофофазу, не увеличивал активность лигнолитических ферментов. Повышение концентрации фенола до 5% оказывало стимулирующее воздействие на синтез ферментов, в

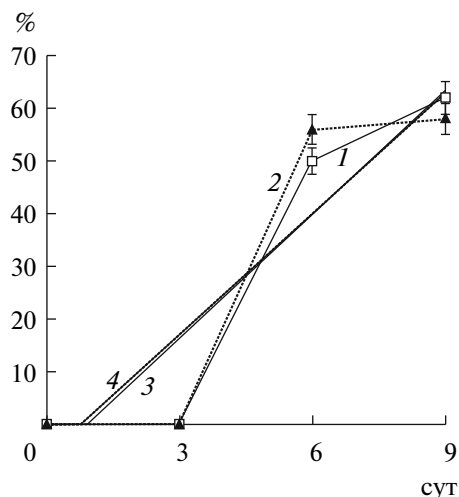


Рис. 2. Убыль фенола (% к исходному содержанию) в культуре гриба *L. tigrinus* при его добавлении на 3 сут: 1 – 1%, 2 – 5% фенола, 3 – $y_1 = 23.6x - 31$; 4 – $y_2 = 23x - 29$.

первую очередь, регистрировалось увеличение лакказной активности. На 6 сут роста она в 1.5 раза превышала контрольное значение, рис. 3.

Известно, что лакказы катализируют восстановление O_2 до H_2O и одноэлектронное окисление органических субстратов, преимущественно фенольных соединений в соответствующие феноксирадикалы [19, 20]. Эти радикалы (они не стабильны), в свою очередь, вступают в реакцию полимеризации с образованием высокомолекулярных продуктов, что ведет к удалению низкомолекулярных (как правило, более токсичных) соединений из среды. В связи с этим и наблюдаемое нами на первом этапе преобладание лакказы в ВЛФК, вероятно, связано с ее ролью в снижении фенольного барьера для гриба путем образования полимерных продуктов. На возможность такого механизма указывают и данные литературы. Так, например, показано, что очищенная лакказа из гриба *Coriolus zonatus* при окислении феруловой и синапиновой кислот образует димеры. [21]. Другой механизм повышения уровня синтеза лакказы может быть связан со стимулированием окисления фенолом или его производными. В работе [22] показано использование 2,4-диметилфенола в качестве ароматического индуктора и внесение его в среду вместе с 2 мМ $CuSO_4$ на 4 сут культивирования увеличивало выход лакказы в 10 раз.

Максимум пероксидазной активности (в 3 раза выше, чем в контроле) наблюдался позднее, на 9 сут роста, что, вероятно, было связано с началом активного окисления образовавшихся на первом этапе олигофенолов и фенола путем инициирования свободнорадикальных процессов с участием пероксида водорода и пероксидных радикалов (рис. 3б). В результате последовательно образуются хиноны, затем гидроксихиноны, после чего происходит раз-

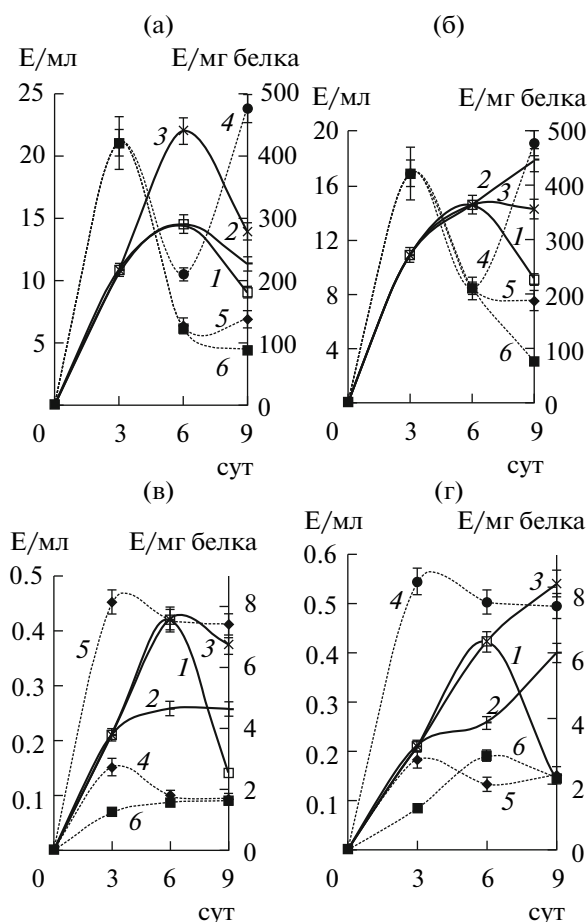


Рис. 3. Изменение лакказной (а, в) и пероксидазной (б, г) активности гриба *L. tigrinus* при добавлении фенола на 3 (а, б) и 6 (в, г) сут: активность: 1 – контроль, 2 – 1%, 3 – 5% фенола; удельная активность: 4 – контроль, 5 – 1%, 6 – 5% фенола.

рыв ароматического кольца с образованием соответствующих кислот (например, из пирокатехина образуется муконовая кислота [23]), которая затем вовлекается в окисление до CO_2 через цикл трикарбоновых кислот. Таким образом, образовавшийся на первом этапе под действием лакказы полимерный продукт на втором этапе под действием пероксидазы и феноксирадикалов (соответственно, ферментативный и неферментативный пути окисления [24]) окисляется до продуктов, вступающих в один из циклов метаболизма с образованием источников дополнительной энергии.

Изучение удельной активности ферментов лакказы и пероксидазы не выявило увеличения их доли в сумме внеклеточных белков. До 6 сут роста удельная активность была такой же, как в контрольном варианте, а потом резко снижалась. В этот же период отмечено выделение большого количества белка, вероятно, в результате лизиса биомассы, так и усиления секреторных процессов – выделения ферментов (не только ВЛФК, но и др.) в среду.

Внесение фенола в идиофазу (фаза синтеза вторичных метаболитов, в том числе и лигнолитических ферментов) в концентрации 1 и 5% приводило к увеличению общей лакказной активности на 97 и 57% соответственно по сравнению с контролем. В среде с концентрацией фенола 1% лакказная активность была на 25% выше, чем при добавлении 5% фенола, т.е. увеличение концентрации фенола и более позднее его внесение все же ингибировало синтез лакказы, что обусловлено угнетением роста культуры гриба (рис. 1). Удельная лакказная активность в этом варианте была в 2.4 раза выше, но ниже, чем в контроле (рис. 3). Однако пероксидазная активность значительно увеличивалась на 9 сут роста, почти в 1.5 и 4 раза по сравнению со средой с 1% фенола и контролем соответственно. Наблюдаемое явление можно объяснить тем, что при добавлении фенола в трофофазу (стадия первичного метаболизма, когда уровень ВЛФК очень низок) происходит детоксикация за счет лакказы (для окисления используется кислород), а пероксидаза присоединяется позже, когда в среде накапливаются радикалы, образующиеся при окислении ароматических соединений и пероксида водорода. Добавление фенола в идиофазу интенсифицировало его деградацию, т.к. на этом этапе уже накоплены ферменты ВЛФК, а кроме того фенол дополнительно индуцировал их синтез и, в первую очередь пероксидазы. Уровень удельной пероксидазной активности был приблизительно такой же, как и при добавлении фенола в трофофазу (рис. 3).

Таким образом, в присутствии фенола в среде наблюдалось не только изменение лакказной и пероксидазной активности гриба, но и их соотношение, а также время выхода в среду. Причем характер изменений зависит как от концентрации фенола, так и от фазы роста культуры в момент его внесения в среду. С учетом изменения активности ферментов мы предположили, что лакказа играет в этом процессе ведущую роль, вызывая на первом этапе полимеризацию избыточного фенола, тем самым существенно снижая фенольный барьер, а уже на втором этапе инициирует окисление олигофенолов по обычному свободнорадикальному механизму. При этом пероксидаза, наряду с окислением фенола участвует в деградации образующихся под действием лакказы олигофенолов, а также является дополнительным ферментом, инициирующим запуск их радикального окисления.

Имеются сообщения о практическом применении грибов белой гнили и (или) их ферментов для биodeградации фенольных соединений в различных объектах, например в сточных водах ЦБК [19], в гидролизатах растительного сырья [20], в стоках и почве, содержащих галогенированные производные фенола, например пестициды [18], для биodeградации гидролизного лигнина [25] и др.

Показатели качества стоков коптильного цеха мясокомбината, обработанных грибом *L. tigrinus*

Показатель	Смыв			Конденсат		
	до засева	3 сут	6 сут	до засева	3 сут	6 сут
Биомасса, г/л	—	30.0 ± 1.5	35.0 ± 1.7	—	25.0 ± 1.2	28.0 ± 1.4
Содержание фенола, мг/мл	30.0 ± 1.5	18.0 ± 0.9	1.2 ± 0.1	3.0 ± 0.1	2.1 ± 0.1	0.3 ± 0.1
Убыль фенола, %	—	40.0 ± 2.0	96.0 ± 4.5	—	30.0 ± 1.5	90.0 ± 4.5

В настоящее время для утилизации фенольных соединений используют следующие методы — экстракцию растворителями, адсорбцию на активированном угле, электрохимическое окисление. Несмотря на большое число существующих физико-химических методов деструкции фенолов, практически все они имеют ряд ограничений в своем применении. Для них характерны такие недостатки, как высокая стоимость, низкая эффективность, образование побочных, а иногда даже более токсичных продуктов. Микробиологические способы очистки воды от фенолов имеют преимущества перед физико-химическими методами. Микробиологическая очистка экономична, не требует больших капитальных и эксплуатационных затрат, локальные очистные установки занимают незначительные площади, просты и надежны в обслуживании. В связи с этим использование микроорганизмов и выделяемых ими ферментов раскрывает перспективы более эффективной утилизации широкого спектра фенольных соединений [26, 27].

Несмотря на преимущества микробиологических методов деструкции фенолов, они имеют существенный недостаток. Известно, что в биологических установках присутствует активный ил — мультикомпонентный микробный комплекс, однако он обладает низкой деструктивной активностью в отношении многих токсичных веществ, в том числе соединений фенольного ряда. Более того, ранее изученные микроорганизмы способны к биодegradации фенольных соединений в концентрациях значительно более низких по сравнению с теми, которые содержатся в промышленных сточных водах — от 0.05 до 0.5 г/л [28] и даже 2 г/л [29]. Такие стоки, попадая на биологические очистные сооружения, приводят к гибели микроорганизмов активного ила [3].

Перспективным является использование гриба *L. tigrinus*, способного (как нами было показано выше) расти и развиваться на жидких средах, содержащих до 5% фенолов. Дополнительная обработка стоков культурой гриба *L. tigrinus* позволит обеспечить эффективную очистку воды от фенолов. В связи с этим для проверки возможного использования процесса детоксикации в производственных целях мы исследовали биодegradацию фенола в стоках коптильных цехов мясоперерабатывающих предприятий при помощи отмытой биомассы *L. tigrinus*, отобранной в период максимальной активности.

Культура гриба *L. tigrinus* активно росла на стоках коптильного цеха мясокомбината, о чем свидетельствовали увеличение содержания биомассы, наблюдаемое при росте как на смывах, так и на конденсате (таблица). Вероятно, это можно объяснить тем, что смывы, кроме фенола, содержали питательные вещества, благоприятно влияющие на рост гриба.

Данные по утилизации фенола в смыве и конденсате указывают на высокую эффективность практического применения культуры гриба *L. tigrinus*, при выращивании которой в ферментере на установке “ОКА-М1” к 6 сут роста наблюдалась почти полная утилизация фенола. Его убыль при исходной концентрации 0.3% (в конденсате) составила около 90%, а при 3% (в смывах) более 90%.

Таким образом, гриб белой гнили *L. tigrinus* обладал высоким деструктивным потенциалом по отношению к фенолу, в том числе содержащемуся в стоках коптильных цехов мясокомбинатов, и может быть использован в практических целях для очистки промышленных сточных вод.

Работа выполнена при поддержке программы “Развитие научного потенциала высшей школы 2006–2008” РНП.2.1.17708.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Рабинович М.Л., Болобова А.В., Васильченко Л.Г. // Прикл. биохимия и микробиология. 2004. Т. 40. № 1. С. 5–23.
2. Каретникова Е.А. // Прикл. биохимия и микробиология. 2006. Т. 42. № 1. С. 55–58.
3. Смирнов В.Н., Рябкина М.В., Винаров А.Ю. // Биотехнология. 2002. № 3. С. 67–79.
4. Горбатова О.Н., Королева О.В., Ландесман Е.О., Степанова Е.В., Жердев А.В. // Прикл. биохимия и микробиология. 2006. Т. 42. № 4. С. 468–474.
5. Leontievsky A.A., Myasoedova N.M., Baskunov B.P., Evans C.S., Golovleva L.A. // Biodegradation. 2000. V. 11. № 5. P. 331–340.
6. Головлева Л.А., Леонтьевский А.А. // Микробиология. 1998. Т. 67. № 5. С. 581–587.
7. Ревин В.В., Кадималиев Д.А., Шутова В.В., Самуилов В.Д. // Прикл. биохимия и микробиология. 2002. Т. 38. № 5. С. 450–454.
8. Кадималиев Д.А., Ревин В.В., Атыкян Н.А., Самуилов В.Д. // Прикл. биохимия и микробиология. 2003. Т. 39. № 5. С. 555–560.

9. *Pozdnyakova N.N., Leontievsky A.A., Golovleva L.A.* // FEBS Lett. 1994. V. 350. № 2–3. P. 192–194.
10. *Ревин В.В., Кадималиев Д.А., Атыкян Н.А., Ситкин Б.В., Самуилов В.Д.* // Биохимия. 2000. Т. 65. № 11. С. 1546–1550.
11. *Кадималиев Д.А., Ревин В.В., Атыкян Н.А., Самуилов В.Д.* // Биохимия. 2005. Т. 70. № 6. С. 850–854.
12. *Eggert C., Temp U., Eriksson L.K-E.* // Appl. Environ. Microbiol. 1996. V. 62. № 4. P. 1151–1158.
13. *Синицын А.П., Черноглазов В.П., Гусаков А.В.* // Методы изучения и свойства целлюлолитических ферментов. Итоги науки и техники. Биотехнология. М.: ВИНТИ, 1990. Т. 25. С. 80–93.
14. *Ugarova N.N., Rozhkova G.D., Berezin I.V.* // Biochim. Biophys. Acta. 1979. V. 570. № 4. P. 31–43.
15. *Bradford M.M.* // Anal. Biochem. 1976. V. 72. P. 248–254.
16. *Сычев С.Н., Сычев Н.С., Гаврилина В.А.* Высокоэффективная жидкостная хроматография на микроколонных хроматографах серии “Милихром”: Монография. Орел: Орел ГТУ, 2002. 134 с.
17. *Новиков Ю.В., Ласточкина К.О., Болдина З.Н.* Методы исследования качества воды водоемов. М.: Медицина, 1990. 400 с.
18. *Gold M.H., Alic M.* // Microbiological Reviews. 1993. V. 57. № 3. P. 605–622.
19. *Jonsson L.J., Palmqvist E., Nilvebrant N.-O., Hahn-Hagerdal B.* // Appl. Microbiol. Biotechnol. 1998. V. 49. P. 691–697.
20. *Larsson S., Reimann A., Nilvebrant N.-O., Jonsson L.J.* // Appl. Biochem. Biotechnol. 1999. V. 77. № 1–3. P. 91–103.
21. *Смирнов С.А., Королева О.В., Гаврилова В.П., Белова А.Б., Клячко Н.Л.* // Биохимия. 2001. Т. 66. № 7. С. 952–958.
22. *Черных А.М., Леонтьевский А.А., Головлева Л.А.* // Прикл. биохимия и микробиология. 2005. Т. 41. № 5. С. 578–581
23. *Leatham G.F., Crawford R.L., Kirk T.K.* // Appl. Environ. Microbiol. 1983. V. 46. № 1. P. 191–197.
24. *Cullen D., Kersten P.J.* // The Mycota. III. Biochemistry and Molecular Biology / Bramble R., Marzluf G.A. (eds.). Berlin: Springer-Vetlag, 1996. P. 297–314.
25. *Мясоедова Н.М., Леонтьевский А.А., Головлева Л.А.* // Прикл. биохимия и микробиология. 1995. Т. 31. № 5. С. 505–509.
26. *Самсонова А.С., Алещенкова З.М., Ли Е., Лим Б.-Р., Хван С.В., Семочкина Н.Ф., Пинчук Л.С., Макаревич А.В., Кравицов А.Г.* // Биотехнология. 2003. № 4. С. 83–87.
27. *Братковская И., Виджюнайте Р., Кулис Ю.* // Биохимия. 2004. Т. 69. № 9. С. 1213–1222.
28. *Jiang H.-L., Tay J.-H., Maszenan A.M., Tay S.T.-L.* // Appl. Environ. Microbiol. 2004. V. 70. № 11. P. 6767–6775.
29. Патент РФ. № 2201446. 2003.

The Role of Laccase and Peroxidase of *Lentinus (Panus) tigrinus* Fungus in Biodegradation of High Phenol Concentrations in Liquid Medium

D. A. Kadimaliev, V. V. Revin, N. A. Atykyan, O. S. Nadezhina, and A. A. Parshin

Ogarev Mordovian State University, Saransk, 430005 Russia

e-mail: cadimded@yandex.ru.

Received November 24, 2009

Abstract—The possibility of the usage of *Lentinus tigrinus* fungus strain VKM F-3616D for biodegradation of high (up to 5%) phenol concentrations in liquid medium and the involvement of laccase and peroxidase in this process have been studied. *L. tigrinus* fungus was demonstrated to effectively degrade phenol with easy biomass separation from the liquid. Decrease in phenol concentration was accompanied by increased secretion level and laccase activity at the preliminary stages of biodegradation, while that of peroxidase was at the latest stages of biodegradation. These enzyme secretions in distinct ratios and consequences are necessary for effective phenol biodegradation. An effective approach for phenol concentration decrease in the waste water of smoking shops in meat-processing factories using *L. tigrinus* fungus was described.