

MOŽNOSTI AEROBNÍHO MIKROBIÁLNÍHO ODBOURÁVÁNÍ TRICHLORETHENU

MAGDA SERGEJEVOVÁ^a a JAN RŮŽIČKA^b

^aÚstav fyzikální biologie, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zámek, 373 33 Nové Hradky, ^bÚstav technologie životního prostředí a chemie, Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, nám. TGM 275, 762 72 Zlín
e-mail: sergejevova@alga.cz, ruzickaj@ft.utb.cz

Došlo 7.11.02, přepracováno 18.6.03, přijato 10.7.03.

Klíčová slova: trichlorethen, biotransformace, bakterie, methan, fenol, fenol-2-monooxygenasa, degradace, konečné produkty, podzemní vody

Obsah

1. Úvod
2. Aerobní degradace trichlorethenu
3. Produkty biotransformace trichlorethenu
4. Aplikace bakteriálních kultur pro dekontaminaci podzemních vod

1. Úvod

Trichlorethen (TCE) patří spolu s tetrachlorethenem (PCE) k nejpoužívanějším chlorovaným uhlovodíkům. Používá se jako průmyslové rozpouštědlo, čisticí a odmašťovací prostředek a chemická surovina. Je považován za látku jednoznačně cizorodou, i když v přírodě je v nepatrných koncentracích vytvářen některými mořskými řasami^{1,2}. Primárním recipientem uvolňovaného TCE je atmosféra. Hlavními emisními zdroji jsou výpary z odmašťovacích operací, tvořící přibližně 90 % emisí. Ostatní zdroje zahrnují ztráty rozpouštědla z textilní výroby, dále přímo z jeho výroby, a úniky při nedbalém používání³. Poslední z nich se nejvíce podílí na znečištění řady lokalit půd, podzemních i některých pitných vod koncentracemi od několika desítek $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ až po stovky $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$.

TCE je značně inertní vůči chemickým a zvláště biologickým transformacím. Ve vyspělých státech celého světa i v ČR se kontaminace touto látkou vyskytují především v průmyslových zónách a vojenských objektech. Význačná je situace v USA, kde bylo v minulých letech zaznamenáno v různých oblastech znečištění 9–34 % zdrojů pitné vody trichlorethenem³.

K expozici člověka dochází dýcháním kontaminovaného vzduchu nebo požíváním pitné vody s obsahem TCE. Ten v organismu postihuje zejména centrální nervovou soustavu, dráždí oční i nosní sliznici a v extrémních případech může způsobit i smrt³. Výzkumy na zvířatech prokázaly poškození ledvin, jater, krve a výskyt tumorů i leukémie. Vztah mezi přítomností TCE v pitné vodě a zvýšeným výskytem

malformací u narozených dětí byl nalezen v několika epidemiologických studiích. Výzkumné práce naznačují, že vlastním činitelem některých poškození mohou být metabolity rozkladu TCE v organismu, zejména kyselina trichloroacetová⁴.

Snahy o dekontaminaci životního prostředí, zvláště půd a podzemních vod, však nejsou vyvolány jen vlastní toxicitou a persisterací TCE. Jak bylo zjištěno před několika lety, za anaerobních podmínek, které se mohou vyskytovat v podzemních vodách a spodních půdních vrstvách, dochází k mikrobiální dehalogenaci TCE na nížechlorované alkeny a poté na karcinogenní vinylchlorid⁵. Především tímto nežádoucím procesům je tedy významným úkolem remediačních technologií.

TCE a další zástupci chlorovaných ethenů jsou v současné době ze životního prostředí odstraňovány především fyzikálními postupy, kdy jsou z podzemních vod a z půdy vyubulány nebo vypuzeny proudem vzduchu a zachyceny na sorbentu. Tím se daří kontaminanty ze životního prostředí odstranit, zůstává ale problém, jak zacházet se získaným odpadem dále. Biologický rozklad proto může být velmi zajímavou alternativou odstranění TCE, samozřejmě se však neobejde bez detailních znalostí celého procesu.

2. Aerobní degradace trichlorethenu

Mikrobiální aerobní rozklad TCE probíhá téměř výlučně kometabolickým způsobem, tedy po kontaktu vhodných mikrobiálních buněk s určitým specifickým substrátem, který v nich indukuje tvorbu příslušných katabolických enzymů. Ty potom – díky své širší substrátové specifitě – atakují více méně náhodně i nepřírozený substrát a transformují jej. Například fenol-2-monooxygenasa má tak širokou substrátovou specifitu, že kromě fenolu atakuje i resorcinol, kresol, chlorfenoly a aminofenoly, orcinol (5-methylresorcinol), pyrogallol a některé další látky⁶.

V případě TCE byl proces aerobní mikrobiální biotransformace poprvé popsán v osmdesátých letech dvacátého století^{7,8}, což odstartovalo intenzivní výzkum biologického i inženýrského charakteru. Bylo prokázáno, že schopnost degradace TCE má několik bakteriálních skupin – především methanotrofní bakterie vyžadující jako substrát metan^{9,10}, dále řada bakterií rostoucích na aromatických uhlovodících (fenolu, toluenu, kresolu, *o*-xylynu, isopropylbenzenu)^{11–15}, některé rody využívající propan, propen^{16,17} či dokonce dimethylsulfid^{17,18}, a také nitrifikační bakterie oxidující amoniak na dusitan¹⁹.

Společnou vlastností uvedených potřebných substrátů je skutečnost, že jejich bakteriální přeměna je v prvním stupni katalyzována oxygenasami. Tento typ enzymů vnáší jeden nebo dva atomy kyslíku do molekuly substrátu za účasti NADH nebo NADPH. Otázka, zda jsou to právě oxygenasy, které katalyzují i přeměnu TCE, byla zodpovězena poměrně záhy několika pracemi. Bylo prokázáno, že mutanti postrádající toluen-2-monooxygenasu, resp. toluen-dioxyge-

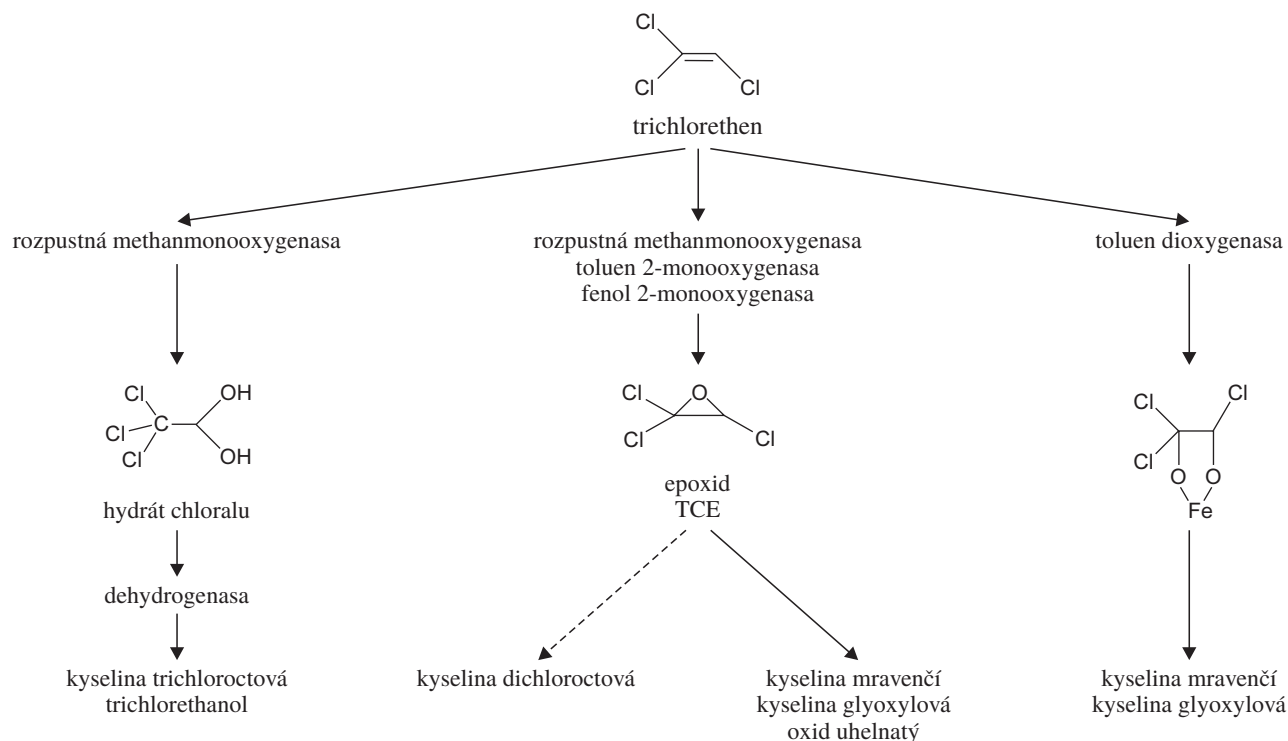
nasu či fenol-2-monooxygenasu, ztrácí i schopnost transformovat TCE (cit.^{12,20,21}). U směsných mikrobiálních kultur byly tyto závěry potvrzeny Shihem a spol., kteří zaznamenali ztrátu degrační aktivity bakterií poté, co jim místo fenolu začal být jako jediný substrát poskytován neinduktivní pyrokatechol (první meziprodukt rozkladu fenolu)²². Podle dosavadních výsledků se zdá, že katalýzy transformace TCE jsou schopny jen některé bakteriální mono- a dioxygenasy. U kvasinek či vláknitých plísní, rostoucích např. na fenolu, zatím tato schopnost zjištěna nebyla; naopak – u směsných inokul byl vždy při významnějším výskytu těchto organismů zaznamenán pokles degračních vlastností daných suspenzí^{22–25}.

Praktickou výhodou kometabolické transformace xenobiotik je možnost využití přirozených kultur bakterií. Poněkud nepříznivým aspektem je však možný vznik dead-end produktů a dále případná kompetitivní inhibice přeměny polutantu primárním substrátem. Enzymové systémy atakují přednostně přirozené substráty, a proto, jsou-li tyto látky přítomny ve vyšších koncentracích, může dojít ke zpomalení nebo úplnému zastavení biodegradace cizorodých látek. V případě degradace TCE bakteriemi degradujícími fenol bylo několikrát experimentálně ověřeno, že transformace TCE je při současné přítomnosti fenolu možná jen při dodržení poměrně úzkého rozmezí 5–10 mg fenolu na 1 mg TCE (cit.^{26,27}). Jiní autoři však zjistili, že v jejich pokusech za přítomnosti fenolu k odbourávání TCE nedocházelo vůbec²⁸ a že tedy kompetitivní inhibice požadovaný proces zcela zamezila. Zdánlivě by bylo tedy řešením úplné odstranění primárního substrátu z degrační směsi po uskutečněné enzymové indukci, avšak v takovém případě se vlivem regulačních mechanismů bakteriálních

buněk zastaví tvorba příslušných enzymů a po určité době se degrační schopnost bakterií ztratí.

3. Produkty biotransformace trichlorethenu

Není divu, že se krátce po objevu možnosti bakteriální transformace TCE objevily i snahy o její praktické využití pro dekontaminaci znečištěných lokalit. Z pohledu bioremediačních technologií je dnes největší význam přikládán methanotrofním bakteriím a bakteriím využívajícím fenol nebo toluen. Při výběru kultury pro bioremediace se přihlíží k řadě faktorů, zejména k hodnotám její transformační kapacity, k charakteru primárního substrátu, afinitě příslušného enzymu k TCE a nejvíce ke vznikajícím produktům a jejich toxicitě. Výhody využití methanotrofních bakterií spočívají především v aplikaci netoxického methanu jako substrátu a ve vyšší počáteční rychlosti degradace²⁹, zatímco ve prospěch druhů využívajících toluen nebo fenol hovoří rychlejší růst, vyšší transformační kapacity a o něco větší odolnost vůči toxickým metabolitům i snadná vazba na případný nosič³⁰. Nejvýznamnější faktor, ovlivňující výběr degračního organismu, však spočívá ve vznikajících konečných produktech degradace (obr. 1). Ty jsou závislé především na typu oxygenasy, může je však ovlivnit i ostatní enzymová výbava bakterií. Velmi příznivá je situace při transformaci katalyzované toluendioxygenasou. Ta vnáší do molekuly substrátu dva atomy kyslíku a vzniklý labilní meziprodukt poskytuje jako konečné produkty kyselinu mravenčí a glyoxylovou, přičemž organicky vázaný chlor přechází na chloridy³¹. Základním krokem biotransformace



Obr. 1. Možné degrační cesty TCE při působení různých typů oxygenas. Chlor vázaný v molekule TCE je transformován na chloridy (<http://www.labmed.umn.edu/>, the University of Minnesota Biocatalysis/Biodegradation database)

TCE při katalýze monoxygenasami je přeměna na epoxid TCE (cit.³²⁻³⁴). Tento meziprodukt je značně nestabilní (poločas rozpadu okolo 10 s) a podléhá spontánní víceetapově hydrolyze na konečné produkty. Těmi jsou rovněž kyseliny mravenčí a glyoxylová, dále chloridy a určité množství oxidu uhelnatého, jak bylo popsáno u bakterie *Burkholderia cepacia* vybavené toluen-2-monoxygenasou³³. U některých bakterií, zejména methanotrofních, je však TCE transformován nejen na epoxid TCE, ale i na chloral (2,2,2-trichloroacetaldehyd) a dále na konečné produkty: kyseliny dichloroctovou, trichloroctovou a trichlorethanol^{32,35}, což jsou látky, jejichž toxicita je vyšší nebo srovnatelná s původním TCE. Teprve nedávno byla objasněna i dráha biotransformace TCE za účasti fenol-2-monoxygenasy. Bylo zjištěno, že daná degradační cesta je prakticky shodná s dráhou u toluen-2-monoxygenasy, tj. výhradně přes epoxid TCE, se vznikem kyseliny mravenčí, glyoxylové a oxidu uhelnatého³⁴. Ishida a Nakamura³⁴ prokázali, že při aplikaci bakterií *Ralstonia* sp. KN1-10A s fenol-2-monoxygenasovou aktivitou dochází ke kvantitativnímu uvolňování organicky vázaného chloru ve formě chloridů a tím k eliminaci těch nejproblémovějších částí molekuly TCE.

Na základě těchto výsledků by se mohlo zdát, že favority pro bioremediační postupy jsou bakteriální druhy rostoucí na fenolu nebo toluenu, jiné výsledky však ukazují, že situace není tak jednoznačná – např. Sun a Wood zjistili²⁹, že methanotrofní bakterie *Methylosinus trichosporium* OB3b dokáže převést organicky vázaný chlor z TCE kvantitativně na chloridy (změřená míra mineralizace 102 %), zatímco u druhů rostoucích na aromátech byla schopnost mineralizace o něco nižší – u *Pseudomonas mendocina* KR1 85 %, u *Burkholderia cepacia* GR 62 % a u *Pseudomonas putida* F1 jen 51 %. Je tedy zřejmé, že míra mineralizace chloru a spektrum konečných produktů jsou různé u různých kultur a výsledky získané u některé z nich nelze zobecňovat. Vysvětlením rozdílných výsledků by mohl být spontánní vznik kyseliny dichloroctové z epoxidu TCE (cit.³⁶), která může být dále dechlorována a převáděna na kyselinu glyoxylovou. Reakce však není katalyzována oxygenasami, ale jinými mikrobiálními enzymy a průběh je tedy závislý na enzymové výbavě použitého mikroorganismu.

Poněkud jiná situace je však v případě aplikace směsných mikrobiálních kultur – Chang a Alvarez-Cohen dokázali, že při transformaci TCE je produkce konečných produktů u mikrobiální směsi rostoucí na methanu obdobná jako u směsných kultur kultivovaných na fenolu, propanu nebo toluenu³⁷. Při studiích s TCE značeným ¹⁴C zjistili, že TCE je všemi směsnými kulturami transformován z 65–70 % na CO₂, z 25–30 % na netěkavé, ve vodě rozpustné sloučeniny a jen 1–5 % přechází na těkavé sloučeniny. I produkce chloridů byla ve všech případech srovnatelná a přesahovala 95 % teoretického množství.

Samostatnou kapitolou je otázka toxicity vznikajících metabolitů. Nebezpečím pro degradující bakterie může být několik metabolitů včetně epoxidu TCE, neboť bylo zjištěno, že např. toluen-2-monoxygenasa je v pokusech *in vitro* významně inaktivována kovalentní modifikací v průběhu přeměny TCE (cit.³³). Další autoři prokázali, že poškození buněk *Burkholderia cepacia* má charakter oxidačního stresu³⁸. Na druhé straně však existují práce popisující průběh biotransformace TCE bez zjevného poškození klíčového enzymu^{26,39}, a tak

i zde tedy existuje značná závislost na použité degradační kultuře a podmínkách vlastního biologického procesu.

4. Aplikace bakteriálních kultur pro dekontaminaci podzemních vod

Prakticky lze biologickou degradaci TCE provádět jak pomocí směsných, tak i čistých kultur bakterií, včetně využití geneticky upravených kmenů. Jednotlivé skupiny mají své výhody i zápory. Výhodou směsných kultur, např. adaptovaného aktivovaného kalu nebo sedimentu, je především zastoupení velkého spektra bakteriálních druhů v získané směsi. Případný vznik nežádoucích metabolitů a jejich toxické účinky jsou málo pravděpodobné vzhledem k bohatému enzymovému vybavení takové kultury. Nedochozí zde však k selekci kmenů s vysokou účinností biotransformace TCE a degradační schopnost takového konsorcia může při dlouhodobější kultivaci značně kolísat²³⁻²⁵. Případný pokles degradační aktivity směsné kultury bývá způsoben úbytkem degradačních bakterií, které mohou být ve srovnání s dalšími přítomnými druhy více citlivé k toxickým účinkům TCE a meziproduktů jeho rozkladu⁴⁰. Tuto nevýhodu lze odstranit aplikací čistých nebo definovaných kultur se známými vlastnostmi. Dnes je již dostatek odborných prací dokládajících, že úspěšná biotransformace TCE může být uskutečněna jediným, dobře prostudovaným bakteriálním kmenem^{26,28,29,41}. Tato cesta může být dnes ještě umocněna aplikací geneticky upravených organismů (GMO), např. se stálou (konstitutivní) produkcí oxygenasy. To umožňuje při kultivaci degradační kultury vyloučení primárního substrátu, a tím i odstranění problému kompetitivní inhibice při vlastní degradaci polutantu. Zajímavým příkladem může být schopnost kmene *Ralstonia eutropha* AEK301/pYK3021 degradovat TCE i při jeho velmi vysokých vstupních koncentracích 100–200 mg.l⁻¹ (cit.⁴²). Genetické úpravy však nabízí i další možnosti vylepšení vlastností degradačních kultur – je možné umístit geny, kódující potřebné oxygenasy, pod kontrolu regulačních jednotek spouštěných při nedostatku živin (tzv. starvation promotorů), což vede ke zvýšení degradační aktivity pomalu rostoucích buněk a k nízké produkci biomasy. Matin a spol. tak zkonstruovali *Escherichia coli* AMS187, která degradovala TCE při cca 100× nižší produkci biomasy ve srovnání s přirozenými bakteriemi, byl reakční rychlost byla poměrně nízká⁴³. Do budoucna lze uvažovat i o řízené konstrukci degradačních enzymů s vysokou afinitou k polutantu. K tomu by měly přispět i znalosti o aminokyselinových sekvencích oxygenas bakteriálních kmenů s vysokou rychlostí degradace TCE, jak je prezentovali např. Futamata a spol. při sledování vztahu mezi primární strukturou α -podjednotek fenol-2-monoxygenasy a degradační aktivitou různých bakteriálních kmenů²⁸.

I přes řadu úspěšných pokusů o konstrukci GMO odstraňujících TCE (cit.^{34,42,44,45}) je však zatím jejich praktická aplikace otevřená – je otázkou, zda náklady na jejich vývoj a také doba potřebná k legislativnímu schvalovacímu procesu budou adekvátní míře intenzifikace procesu, nehledě na postoj části veřejnosti k využívání GMO. Lze si ovšem představit stav, kdy by většina znečištěných lokalit (s nízkými až středními koncentracemi TCE) byla dekontaminována pomocí přirozených kultur a jen místa s velmi vysokým až extrémním zatížením by byla prostorem pro aplikaci schválených GMO.

Závěrem lze uvést několik příkladů terénních pokusů o dekontaminace prostředí za pomoci různých kultur mikroorganismů. Významná je série studií z testovacího místa Moffett Field v Kalifornii, kde byly prováděny pilotní experimenty degradací TCE a později i dalších chlorovaných uhlovodíků za využití přirozené mikroflóry. Ve zkouškách s TCE bylo prokázáno, že injekcí fenolu do kontaminovaných podzemních vod spolu s kyslíkem je možné dosáhnout výrazného úbytku TCE. Při kontaminaci do 500 $\mu\text{g.l}^{-1}$ bylo po 30 hodinách od injekce fenolu (12,5 mg.l^{-1}) a kyslíku (35 mg.l^{-1}) dosaženo poklesu TCE o 87–89 %, při kontaminaci 1000 $\mu\text{g.l}^{-1}$ byl za stejných podmínek pokles TCE kolem 77 %, avšak po zvýšení dávky fenolu na 25 mg.l^{-1} bylo odstraněno 90 % TCE (cit.⁴⁶). Později byla prokázána i úspěšná degradace TCE při aplikaci toluenu (9 mg.l^{-1}) a také úbytek 1,2-dichloroethenů (DCE), (Z) i (E) (cit.⁴⁷). Obdobný proces, založený na injektáži methanu, kyslíku a minerálních živin, byl vyzkoušen v Japonsku, kde šlo o pokus dekontaminace podzemních vod v bezprostředním okolí domu. Při koncentraci TCE 220 $\mu\text{g.l}^{-1}$ bylo sice po týdenním procesu odstraněno jen 10–20 % polutantu, autoři však hodnotí postup jako bezpečný způsob dekontaminace prostředí v zástavbě⁴⁸. Zcela jiného charakteru byla terénní zkouška bioremediace podzemních vod, kontaminovaných směsí chlorovaných uhlovodíků, a to za použití GMO *Burkholderia cepacia* ENV435 s konstitutivní produkcí toluen-2-monooxygenasy. Několik set litrů kultury tohoto mikroorganismu bylo injikováno spolu s kyslíkem do podzemní vrstvy. Vzhledem k rozdílnému transportu bakterií byly v několika měřených vrtech zaznamenány mírné rozdíly v úbytku chlorovaných ethenů, avšak v nejprůkaznějším případě došlo k poklesu těkavých organických látek z hodnoty cca 2200 $\mu\text{g.l}^{-1}$ na 250 $\mu\text{g.l}^{-1}$ a místně dokonce pod 50 $\mu\text{g.l}^{-1}$ (cit.⁴⁹).

Z uvedených údajů je zřejmé, že bakteriální aerobní degradace trichlorethenu je reálnou alternativou fyzikálně-chemických postupů dekontaminace znečištěných lokalit od chlorovaných ethenů, s dobrými vyhlídkami na úplnou mineralizaci uvedeného polutantu, vyžadující však dokonalou znalost procesu a důkladné ověření použité mikrobiální kultury.

LITERATURA

1. Abrahamsson K., Ekdahl A., Collén J., Pedersén M.: *Limnol. Oceanogr.* 40, 1321 (1995).
2. Dimmer C. H., McCulloch A., Simmonds P. G., Nickless G., Bassford M. R., Smythe-Wright S.: *Atmos. Environ.* 35, 1171 (2001).
3. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR): *Public Health Statement, Trichloroethylene, 1989*. <http://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/phs8824.html>, staženo říjen 2000.
4. Johnson P. D., Dawson B. V., Goldberg S. J.: *Environ. Health Perspect.* 106, 995 (1998).
5. Vogel T. M., Criddle C. S., McCarty P. L.: *Environ. Sci. Technol.* 21, 722 (1987).
6. Krug M., Straube G.: *J. Basic Microbiol.* 26, 271 (1986).
7. Wilson J. T., Wilson B. H.: *Appl. Environ. Microbiol.* 49, 242 (1985).
8. Haber C. L.: *Science* 221, 1147 (1983).
9. Fogel M. M., Taddeo A. R., Fogel S.: *Appl. Environ. Microbiol.* 51, 720 (1986).
10. Uchiyama H., Nakajima T., Yagi O., Tabuchi T.: *Agric. Biol. Chem.* 53, 1019 (1989).
11. Nelson J. K., Montgomery S. O., Mahaffey W. R., Pritchard P. H.: *Appl. Environ. Microbiol.* 53, 949 (1987).
12. Nelson J. K., Montgomery S. O., Pritchard P. H.: *Appl. Environ. Microbiol.* 54, 604 (1988).
13. Chauhan S., Barbieri P., Wood T. K.: *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 3023 (1998).
14. Krumme M. L., Timmis K. N., Dwyer D. F.: *Appl. Environ. Microbiol.* 59, 2746 (1993).
15. Dabrock B., Riedel J., Bertram J., Gottschalk G.: *Arch. Microbiol.* 158, 9 (1992).
16. Malachowsky K. J., Phelps T. J., Teboli A. B., Minnikin D. E., White D. C.: *Appl. Environ. Microbiol.* 60, 542 (1994).
17. Ensign S. A., Hyman M. R., Arp D. J.: *Appl. Environ. Microbiol.* 58, 3038 (1992).
18. Takami W., Horinouchi M., Nojiri H., Yamane H., Omori T.: *Biotechnol. Lett.* 21, 259 (1999).
19. Arciero D., Vannelli T., Logan M., Hooper A. B.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 159, 640 (1989).
20. Shields M. S., Montgomery S. O., Cuskey S. M., Chapman P. J., Pritchard P. H.: *Appl. Environ. Microbiol.* 57, 1935 (1991).
21. Wackett L. P., Gibson D. T.: *Appl. Environ. Microbiol.* 54, 1703 (1988).
22. Shih C., Davey M. E., Zhou J., Tiedje J. M., Criddle C. S.: *Appl. Environ. Microbiol.* 62, 2953 (1996).
23. Skočovská P.: *Diplomová práce*. VUT, Brno 1998.
24. Jasenská P.: *Diplomová práce*. VUT, Brno 1999.
25. Sergejevová M.: *Doktorská disertační práce*. Univerzita T. Bati, Zlín 2003.
26. Folsom B. R., Chapman P. J., Pritchard P. H.: *Appl. Environ. Microbiol.* 56, 1279 (1990).
27. Shurtliff M. M., Parkin G. F., Weathers L. J., Gibson D. T.: *J. Environ. Eng.* 122, 581 (1996).
28. Futamata H., Harayama S., Watanabe K.: *Appl. Environ. Microbiol.* 67, 4671 (2001).
29. Sun A. K., Wood T. K.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 45, 248 (1996).
30. Speitel G. E., Segar Jr. R. L.: *Water Sci. Technol.* 31, 215 (1995).
31. Li S., Wackett L. P.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 29, 443 (1992).
32. Nakajima T., Uchiyama H., Yagi O., Nakahara T.: *Bio-sci., Biotechnol., Biochem.* 56, 486 (1992).
33. Newman L. M., Wackett L. P.: *J. Bacteriol.* 179, 90 (1997).
34. Ishida H., Nakamura K.: *J. Biosci. Bioeng.* 89, 438 (2000).
35. Saeki S., Mukai S., Iwasaki K., Yagi O.: *Biocatal. Bio-transform.* 17, 347 (1999).
36. Henschler D., Hoos W. R., Fetz H., Dallmeier E., Metzler M.: *Biochem. Pharmacol.* 28, 543 (1979).
37. Chang H. L., Alvarez-Cohen L.: *Biotechnol. Bioeng.* 45, 440 (1995).
38. Yeager C. M., Bottomley P. J., Arp D. J.: *Appl. Environ. Microbiol.* 67, 2107 (2001).
39. Bielefeldt A. R., Stensel H. D., Strand S. E.: *J. Environ. Eng.* 121, 791 (1995).
40. Mars A. E., Prins G. T., Wietjes P., Koning W., Janssen D. B.: *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 208 (1998).

41. Oldenhuis R. L., Vink J. M., Janssen D. B., Witholt B.: *Appl. Environ. Microbiol.* 55, 2819 (1989).
42. Ayoubi P. J., Harker A. R.: *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 4353 (1998).
43. Matin A., Little C. D., Fraley C. D., Keyhan M.: *Appl. Environ. Microbiol.* 61, 3323 (1995).
44. Sun A. K., Wood T. K.: *Biotechnol. Bioeng.* 55, 674 (1997).
45. Takami W., Nojiri H., Yamane H., Omori T.: *Biotechnol. Lett.* 22, 211 (2001).
46. Hopkins G. D., Munakata J., Semprini L., McCarty P. L.: *Environ. Sci. Technol.* 27, 2542 (1993).
47. Hopkins G. D., McCarty P. L.: *Environ. Sci. Technol.* 29, 1628 (1995).
48. Eguchi M., Kitagawa M., Suzuki Y., Nakamura M., Kawai T., Okamura K., Sasaki S., Miyake Y.: *Water Res.* 35, 2145 (2001).
49. Steffan R. J., Sperry K. L., Walsh M. T., Vainberg S., Condee C. W.: *Environ. Sci. Technol.* 33, 2771 (1999).

M. Sergejevová^a and J. Růžička^b (^a*Department of Physical Biology, University of South Bohemia, České Budějovice, Nové Hradý,* ^b*Department of Environmental Technology and Chemistry, Tomáš Bata University, Zlín*): **Potentials of Aerobic Microbial Degradation of Trichloroethene**

The article reviews contemporary basic knowledge of microbial degradation of trichloroethene. It gives a number of literature data on key enzymes, appropriate microorganisms, degradation products and also suggests unclarified problems of the process. Perspectives of microbiological decontamination of underground waters by possibly complete mineralization of the pollutant are discussed. The key role is attributed to the choice of an appropriate microorganism.