

Las lacasas: enzimas versátiles con aplicación en múltiples industrias

Laccases: Versatile enzymes with several industrial applications

ARTÍCULO DE REVISIÓN

Julián E. Gianolini

Universidad Nacional de Quilmes, Argentina. Contacto: juliangianolini@gmail.com

Cintia W. Rivero

Universidad Nacional de Quilmes, Argentina. Contacto: cwrivero@gmail.com

Recibido: abril de 2025

Aceptado: mayo de 2025

Resumen

El creciente interés por la sostenibilidad ambiental y la expansión global de las economías basadas en recursos biológicos han impulsado el desarrollo de la industria biotecnológica. En este contexto, las enzimas juegan un papel fundamental como recursos clave, siendo herramientas fundamentales en el campo de la biocatálisis. Entre ellas, las lacasas se destacan como catalizadores versátiles y sostenibles. Estas enzimas multicobre, pertenecientes al grupo de las polifenol oxidasas, son capaces de oxidar una amplia variedad de sustratos al utilizar oxígeno molecular como único co-sustrato y solo generar agua como sub-producto. Debido a sus características, las lacasas se posicionan como catalizadores prometedores en sectores de la industria textil, papelera, alimentaria, cosmética, farmacéutica y en procesos de biorremediación. Esta revisión describe la importancia de las enzimas en biocatálisis, se centra en la descripción de las lacasas y explora sus principales aplicaciones biotecnológicas.

Palabras clave: Biocatálisis; biorremediación; inmovilización; oxidorreductasas.

Abstract

The increasing environmental awareness in society and the global expansion of bio-based economies have driven the growth of the biotechnological industry. Enzymes play a key role in biotechnology and are fundamental tools in the field of biocatalysis. In this context, laccases have emerged as versatile and sustainable catalysts. These multicopper enzymes, belonging to the group of polyphenol oxidases, are able to oxidize a wide variety of substrates by using molecular oxygen as co-substrate and generating water as the only byproduct.

Consequently, laccases are positioned as promising catalysts in various sectors, including textiles, paper, food, cosmetics, pharmaceuticals, and bioremediation processes. This review summarizes the importance of enzymes in biocatalysis, focusing on the main characteristics of laccases and their application in diverse industrial fields.

Keywords: Biocatalysis; bioremediation; immobilization; oxidorreductases.

1- El uso de enzimas en biocatálisis

Las enzimas son proteínas que actúan como catalizadores naturales y son ubicuas en plantas, animales y microorganismos. Al ser biodegradables, derivadas de recursos renovables y activas en condiciones de reacción suaves, tanto en soluciones acuosas como no acuosas, permiten elevados rendimientos y gran selectividad. Además, debido a que no generan productos secundarios y requieren concentraciones bajas de sustrato, junto con una baja demanda energética, los procesos que catalizan son más eficientes y amigables con el medioambiente que los que se basan en la síntesis orgánica tradicional (Sheldon & van Pelt, 2013).

Durante el siglo XX, la mejora en nuevas técnicas de extracción, purificación y caracterización de enzimas llevó a la producción de muchas de ellas con un elevado nivel de pureza tanto para investigación como para aplicaciones biotecnológicas. Posteriormente, los avances biotecnológicos, en especial la ingeniería genética y de proteínas, revolucionaron la enzimología y la biocatálisis. En el siglo XXI, la biología celular y molecular junto con la bioinformática se convirtieron en disciplinas clave en el desarrollo de biocatalizadores con propiedades óptimas para aplicaciones industriales (Heckmann & Paradisi, 2020). Históricamente, la utilización de enzimas estuvo estrechamente vinculada a una gran variedad de procesos de la industria alimentaria, en especial en la elaboración de queso, cerveza, y vino. Hoy en día, el uso de enzimas se amplió a otras áreas de manufactura de alimentos (panificación, productos lácteos, conversión de almidón, procesamiento de bebidas) y se consolidó para suplantar ciertos procesos químicos, impulsada por el advenimiento de la química verde, en la industria textil, papelera, farmacéutica, cosmética y química (Tabla 1). Asimismo, se han empleado en la elaboración de detergentes, biocombustibles y biosensores, y más recientemente, comenzaron a ser aplicadas con éxito en tratamiento de efluentes y purificación de aguas (Heckmann & Paradisi, 2020; Vogel & May, 2019).

Tabla 1. Ejemplos de enzimas utilizadas en la industria.

Industria	Tipo de enzima	Aplicación	Empresa productora
Detergentes	Proteasa	Remoción de manchas	Novozymes / Creative Enzymes
	Lipasa	Remoción de manchas	Novozymes / Creative Enzymes
	Celulasa	Terminación	Novozymes / Creative Enzymes
Alimentos	Proteasa	Remoción de alérgenos, saborizante	Novozymes / Creative Enzymes
	Lipasa	Saborizante de quesos	Novozymes / Creative Enzymes
	Lactasa	Remoción de lactosa	Novozymes / Creative Enzymes
	Pectinasa	Despectinización de productos frutales	Novozymes / Creative Enzymes
Panificación	Amilasa	Acondicionamiento de masa	Novozymes / Creative Enzymes
	Glucosa oxidasa	Endurecimiento de la masa	Novozymes / Creative Enzymes
	Lipasa	Emulsionante	Novozymes / Creative Enzymes
Bebidas	Pectinasa	Estabilización de jugos y vinos	Novozymes / Creative Enzymes
	β -glucanasa	Reducción de viscosidad	Novozymes / Creative Enzymes
	Amilasa	Reducción de viscosidad, dulcificación	Novozymes / Creative Enzymes
	β -galactosidasa	Hidrólisis de lactosa	Novozymes
	Celulasa	Tratamiento de jugos y cervezas	Novozymes / Creative Enzymes
Textil	Celulasa	Terminación de prendas	Novozymes / Creative Enzymes
	Catalasa	Preparado de telas	Novozymes / Creative Enzymes
	Pectinasa	Remoción de ceras	Novozymes / Creative Enzymes
	Amilasa	Encogimiento de prendas	Novozymes / Creative Enzymes
	Lacasa	Decoloración	Creative Enzymes
Papelera	Lipasa	Remoción de contaminantes	Novozymes / Creative Enzymes
	Esterasa	Control de contaminantes	Novozymes
	Celulasa	Refinamiento y modificación de fibras	Novozymes / Creative Enzymes
	Amilasa	Modificación de calidad del papel	Novozymes
Aceites	Lipasa	Esterificación	Novozymes / Creative Enzymes
Cueros	Proteasa	Ablandamiento	Novozymes / Creative Enzymes
	Lipasa	Remoción de grasas	Novozymes / Creative Enzymes
Farmacéutica	Cetorreductasas	Síntesis de drogas	Amano Enzyme / Creative Enzymes
	Acilasa		Amano Enzyme / Creative Enzymes
	Lipasa		Amano Enzyme / Creative Enzymes
	Nitrilasa		Amano Enzyme / Creative Enzymes
	Esterasa		Amano Enzyme / Creative Enzymes
	Lacasa		Novozymes / Creative Enzymes
	Transaminasa		Amano Enzyme / Creative Enzymes
Cuidado personal	Peroxidasa	Antimicrobiano	Novozymes / Creative Enzymes
	Glucosa oxidasa	Antimicrobiano, blanqueamiento	Creative Enzymes

1.1- La importancia de la inmovilización en biocatálisis

Debido a las múltiples ventajas como catalizadores, el mercado de las enzimas se encuentra en continua expansión, ya en 2005 la producción de enzimas representó 2,6

billones de dólares, de los cuales el 75 % se destinó a uso industrial, y se estimó para las décadas siguientes un crecimiento anual mayor al 9 % (Elnashar, 2010). Para el 2021, el monto alcanzó los 8,9 billones de dólares y se espera alcanzar los 13,2 billones de dólares para fines del 2025, con una tasa anual de crecimiento compuesto (CAGR) de 14 % (Maghraby *et al.*, 2023). Se estima que el 56 % de las enzimas recombinantes comercialmente disponibles son bacterianas, producidas mayoritariamente por *Escherichia coli* (24 %) seguido por los géneros *Streptomyces* y *Bacillus*, siendo este último el huésped preferido por pertenecer al grupo de organismos GRASS (generalmente reconocidos como seguros) y por ser productor de proteínas de origen Gram-positivo (Vojnovic *et al.*, 2024).

No obstante, la aplicación industrial de estas enzimas está limitada por los altos costos asociados a su aislamiento y purificación, su incapacidad de ser reutilizadas y la pérdida de estabilidad bajo condiciones de reacción exigentes. Para superar estas restricciones, se han desarrollado diversas estrategias destinadas a optimizar su uso en procesos biotecnológicos, con el propósito principal de reducir los costos de producción e implementación. Entre estas estrategias, se han destacado los métodos de inmovilización (Maghraby *et al.*, 2023; Lapponi *et al.*, 2022).

Las enzimas inmovilizadas pueden separarse fácilmente de la fase líquida, lo que minimiza o evita la contaminación del producto (un aspecto crítico en la industria farmacéutica y alimentaria), pueden recuperarse y reutilizarse, lo que además, da lugar a una rápida detención de la reacción (Lapponi *et al.*, 2022; Sheldon & van Pelt, 2013). Por lo tanto, la inmovilización no solo permite la recuperación y reutilización de las enzimas, sino que también ayuda a mantener su estructura frente a diferentes condiciones, lo que puede preservar su actividad e incrementar su estabilidad. Con el procedimiento adecuado, las enzimas muestran mayor resistencia a temperaturas elevadas, variaciones de pH, solventes e inhibidores. Esto las vuelve particularmente atractivas para ser aplicadas en diversos campos de la industria al incrementar significativamente la productividad del proceso y amortizar los costos iniciales de producción (Lapponi *et al.*, 2022; Sajeevan *et al.*, 2024). Sin embargo, el proceso de inmovilización puede acarrear desventajas al exhibir problemas de transferencia de masa, cambios conformacionales y desnaturalización, y modificaciones en las propiedades de la enzima que devengan en su desactivación total (Guzik *et al.*, 2014). Además del tipo de inmovilización, es importante considerar la matriz o soporte empleado. Así pues, este debería poseer una estabilidad adecuada, una estructura porosa y una superficie elevada que maximice la eficiencia de inmovilización (Maghraby *et al.*, 2023).

La mayoría de los métodos de inmovilización explotan las características de los aminoácidos de las proteínas mediante la formación de diferentes tipos de uniones e interacciones de los grupos funcionales pertenecientes a los residuos de las cadenas laterales (Mohamad *et al.*, 2015). Las enzimas pueden ser inmovilizadas por varias metodologías diferentes que se dividen en, principalmente, métodos físicos y químicos

(Figura 1). En los primeros, existen interacciones débiles entre el soporte y la enzima, entre ellas puentes de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas, fuerzas de Van der Waals, uniones por afinidad, enlaces iónicos y contención mecánica; y el soporte puede ser una resina sintética, un biopolímero o un polímero inorgánico (Trelles & Rivero, 2020, Lapponi *et al.*, 2022). En los métodos químicos, se producen uniones covalentes de diferente tipo (enzima-soporte o enzima-enzima), para formar agregados sólidos activos (Sajeevan *et al.*, 2024). A su vez, es relevante mencionar la posibilidad de combinar distintos tipos de interacción del soporte o matriz con una o más proteínas, con el objetivo de obtener un biocatalizador que responda a cada necesidad.

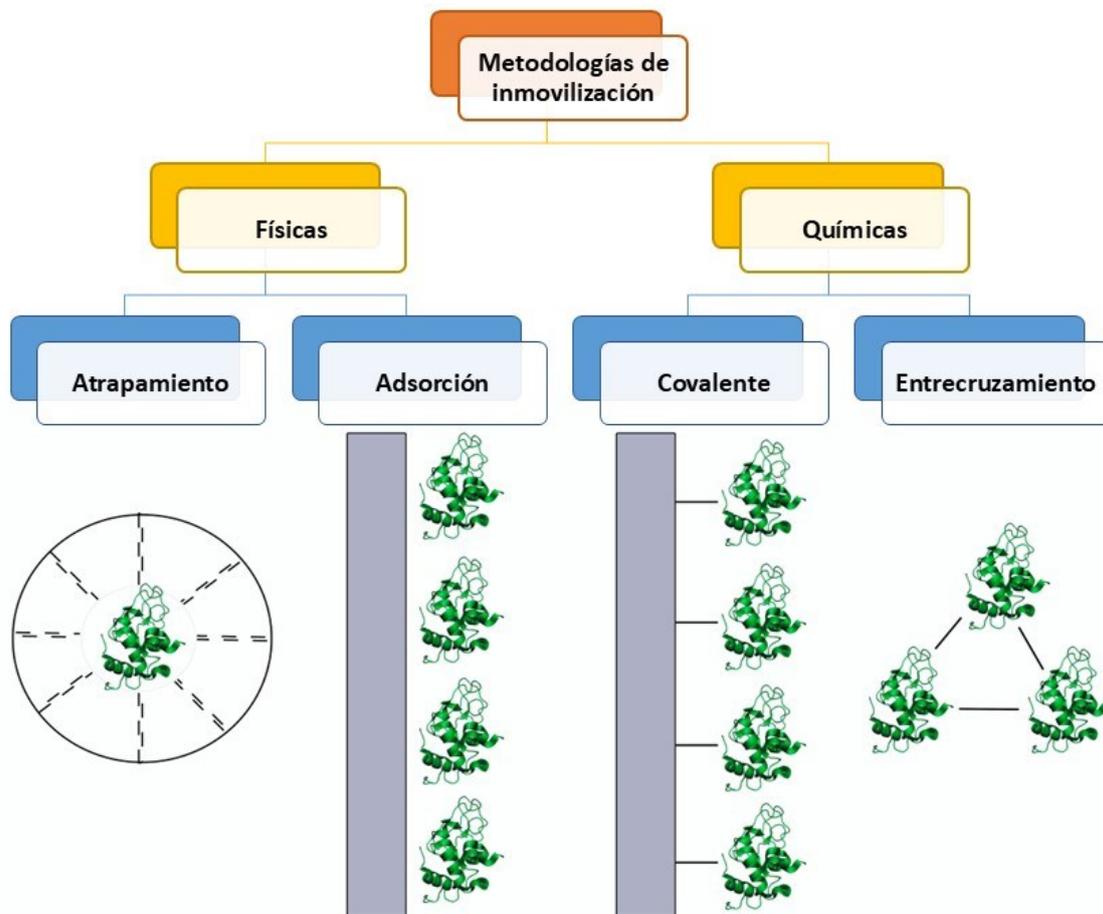


Figura 1. Esquema y representación gráfica de distintas metodologías de inmovilización.

2- Lacasas

2.1- Distribución

La primera lacasa fue identificada por Yoshida en 1883 en exudados de árboles de laca japoneses (*Rhus vernicifera*). De hecho, el nombre de esta enzima se debe a la capacidad de oxidar alquilcatecoles como el urushiol y el lacol, normalmente presentes en la savia de ese árbol (Du *et al.*, 1984). Posteriormente, se reportaron lacasas en una amplia variedad de vegetales: arroz, algodón, mango, durazno, maíz, tabaco, pino y césped

(Dijkstra & Walker, 1991; Morozova *et al.*, 2007). Estas enzimas se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza y están involucradas en procesos de síntesis y de degradación. En plantas, su función está relacionada con el proceso de lignificación, en el mecanismo de sanado de heridas y respuesta a patógenos, además de estar involucradas en el metabolismo del hierro (Hoopes & Dean, 2004).

Las lacasas fúngicas, principalmente de Ascomycetes, Deuteromycetes y Basidiomycetes, han sido tradicionalmente elegidas por su elevado potencial redox – generalmente superiores a 700 mV – y porque se secretan al medio, lo que facilita su detección y recuperación. Estas enzimas extracelulares participan en procesos fisiológicos diversos, como morfogénesis, detoxificación, interacción hongo-planta, defensa frente a estrés y degradación de lignina. En contraste, las lacasas bacterianas fueron identificadas más tardíamente: la primera descrita fue la de *Azospirillum lipoferum* en 1993 (Givaudan *et al.*, 1993), y en 2003 se cristalizó una de *Bacillus subtilis* (Enguita *et al.*, 2003). En bacterias, las lacasas desempeñan funciones en morfogénesis, síntesis de pigmentos en esporas, protección frente a radiación UV y homeostasis de metales como hierro y cobre (Giardina *et al.*, 2010; Akram *et al.*, 2022).

2.2- Descripción general

La familia multicobre está caracterizada por enzimas que contienen átomos de cobre en el centro catalítico, e integra los grupos de ascorbato oxidasas, ceruloplasminas, manganeso oxidasas y polifenol oxidasas, entre otros. Las lacasas (bencendiol: oxígeno óxidoreductasas, EC 1.10.3.2) forman parte de las polifenol oxidasas (Enguita *et al.*, 2003). A diferencia de muchas enzimas que catalizan reacciones sustrato-específicas, las lacasas no necesitan la adición de peróxidos o cofactores como NAD(P)H para oxidar el sustrato, utilizan únicamente oxígeno molecular como co-sustrato y generan agua como producto secundario (Akram *et al.*, 2022; Santhanam *et al.*, 2011). Estas enzimas catalizan la oxidación de una amplia variedad de moléculas, como fenoles, polifenoles, fenoles sustituidos, diaminas, hidroxindoles, aminas aromáticas y bencenoles, y también son capaces de oxidar compuestos xenobióticos como metoxifenoles y anilinas (Piscitelli *et al.*, 2010). Además, tienen la capacidad de oxidar compuestos inorgánicos como trioduro de potasio, $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$, $[\text{Os}(\text{CN})_6]^{4-}$ y $[\text{W}(\text{CN})_8]^{4-}$ (Morozova *et al.*, 2007). Esta variabilidad de sustratos deja en evidencia la baja especificidad de la enzima y su potencial en la industria biotecnológica en diversos campos, que incluye el tratamiento y detoxificación de efluentes, la bio-nanotecnología, la química fina y el tratamiento de textiles y papel (Niladevi & Prema, 2008; Pawlik *et al.*, 2016).

2.3- Lacasas bacterianas frente a las fúngicas

Entre las lacasas, aquellas provenientes de hongos han sido tradicionalmente elegidas no solo por su mayor potencial redox sino también por ser extracelulares, lo que en un principio facilitó su detección y recuperación. En contraparte, la mayoría de las lacasas bacterianas identificadas al momento son de origen intracelular, entre las cuales destacan *Marinomonas mediterránea*, *Sinorhizobium meliloti* y *Bacillus subtilis*.

Sobre su estabilidad, las lacasas de origen fúngico operan solo en un rango de 30 a 50 °C y en condiciones levemente ácidas, y son susceptibles a condiciones inhibitorias que suelen encontrarse en procesos escalados de industrias (Kudanga, 2024). En contraste, las lacasas bacterianas exhiben mayor actividad y estabilidad a temperaturas elevadas, mayor rango operacional de pH (incluido condiciones básicas) y pueden tolerar altas concentraciones salinas e iones metálicos (Akram *et al.*, 2022).

Los hongos suelen producir varias isoenzimas con diferentes propiedades, con pesos moleculares variables (entre 60 y 110 kDa) y estructuradas como dímeros o trímeros. Además, poseen diferentes grados de glicosilación, que representan hasta un 45 % de su peso molecular (Pawlik *et al.*, 2016). Estas características dificultan notablemente su expresión heteróloga (Kudanga, 2024). Por otro lado, no se han reportado, al momento, bacterias que generen isoenzimas de lacasas. En bacterias, las lacasas suelen organizarse ya sea como monómeros, trímeros o tetrámeros no glicosilados con pesos moleculares que varían entre 28 y 180 kDa (Santhanam *et al.*, 2011).

Si bien los hongos son capaces de producir títulos elevados de lacasa extracelular, los sistemas de producción poseen varias desventajas. Los fermentadores de estado sólido (sistemas de bandejas, tambores rotatorios o lecho empacado) requieren elevado mantenimiento y superficie de terreno libre, lo que limita su aplicación en escala. Además, las configuraciones agitadas pueden dañar la biomasa y reducir la viabilidad (Niladevi & Prema, 2008; Pannu & Kapoor, 2014). Por último, las cinéticas de producción de las lacasas fúngicas son considerablemente más lentas que las bacterianas y generan una elevada cantidad de biomasa (Kudanga, 2024).

La demanda de lacasas en el sector industrial requiere de sistemas eficientes de producción de las mismas, por lo que resulta de especial interés la búsqueda de otros tipos de productores. Por un lado, la viabilidad de la producción heteróloga de lacasas fúngicas se ve comprometida por la dificultad de obtener formas activas, no solo por la repetitividad de los patrones y niveles de glicosilación sino también por el uso de codones y la presencia de intrones. Por otra parte, la producción de lacasas de origen bacteriano en biorreactores tiene un importante potencial en la industria biotecnológica, ya que existen múltiples herramientas para la ingeniería de proteínas, clonado y sobre-expresión, lo cual puede compensar los conflictos que genera una enzima intracelular en procesos *downstream*. Asimismo, los parámetros de fermentación de cultivos bacterianos para la producción en escala industrial de enzimas se controlan fácilmente (Kudanga, 2024; Luo *et al.*, 2018).

2.4- Sitio catalítico

Análisis filogenéticos demostraron que los dominios de unión a cobre de las lacasas son altamente conservados, incluso aunque el resto de la proteína tenga un porcentaje elevado de variabilidad (Valderrama *et al.*, 2003). Inicialmente, alineamientos entre genes de plantas y hongos mostraron una firma única que caracteriza a las lacasas como un subgrupo de enzimas multicobre. Esta firma comprende cuatro segmentos que oscilan entre 8 y 24 residuos dispersos en la secuencia de la proteína, que codifican 12 aminoácidos esenciales ligandos de este metal en los que están involucradas secuencias con histidinas (Kumar *et al.*, 2003). Posteriormente, estudios de secuencias bacterianas describieron los mismos motivos conservados de unión a cobre (Pawlik *et al.*, 2016; Gupta *et al.*, 2019; Basheer *et al.*, 2017). Hoy en día, la secuencia consenso que involucra al cuarto segmento o dominio, H-C-H-x(3)-H-x(3)-[AG]-[LM] recuperada desde la plataforma PROSITE (Sigrist *et al.*, 2013), es ampliamente utilizada para la detección de esta enzima por métodos bioinformáticos (Kumar *et al.*, 2018).

Las lacasas utilizan como único cofactor cuatro átomos de cobre por monómero, distribuidos en tres sitios redox denominados T1, T2 y T3, clasificados de acuerdo a sus propiedades espectroscópicas y paramagnéticas (Davies & Ducros, 2002; Leontievsky *et al.*, 1997). El tipo I (T1) es un clúster mononuclear que aporta un característico color verde-azulado a las lacasas, producto de la interacción del cobre oxidado con una cisteína, y posee un máximo de absorción en 610 nm. Este es el sitio más expuesto al solvente, donde se une y oxida el sustrato. Su átomo de cobre puede ser removido tanto por agentes complejantes como quelantes, e incluso sustituido por otros metales, lo que puede afectar de forma considerable la actividad enzimática. Existen lacasas que de forma natural no tienen cobre sino hierro, zinc o manganeso en este sitio y no poseen color azul, por lo que se las denomina “*Yellow / White laccases*” (Kudanga, 2024; Santhanam *et al.*, 2011).

Por su parte, el tipo II (T2) consiste en un sitio mononuclear rodeado de una estructura tetragonal y posee absorción insignificante en el rango UV-Vis, pero es detectable por espectroscopía de resonancia paramagnética de electrones (EPR). Por otro lado, el tipo III (T3) forma un sitio binuclear compuesto por dos átomos de cobre unidos por un grupo hidroxilo, que en conjunto anulan sus propiedades ferromagnéticas y, consecuentemente, no aportan señal en EPR pero sí a 330 nm en su estado oxidado. Los sitios T2 y T3 forman un clúster trinuclear capaz de reducir una molécula de oxígeno y liberar agua como producto. Esta transferencia sucede en un único evento, ya que no se detectó liberación de peróxido de hidrógeno intermediario y, debido al tamaño del bolsillo de entrada al sitio T2, se estima que solo ingresa oxígeno molecular como co-sustrato (Gianfreda *et al.*, 1999).

A través de análisis por cristalografías, se determinó que el sitio T1 de las lacasas fúngicas y bacterianas está coordinado por dos histidinas, una cisteína y usualmente una metionina o leucina y que, además, está conectado al clúster trinuclear T2/T3 a través de

canales de agua formados por residuos polares (Enguita *et al.*, 2003; Hakulinen *et al.*, 2002). Por otra parte, el sitio T2/T3 forma un triángulo casi equilátero de 4 Å de lado (Garavaglia *et al.*, 2004), en el cual los dos átomos de cobre T3 están coordinados simétricamente con tres átomos de nitrógeno de las His que los rodean y forman un puente de oxhidrilo (Shraddha *et al.*, 2011). El cobre T2, mientras tanto, está coordinado por dos histidinas y posee un sitio libre capaz de asociarse a un oxhidrilo o agua. La figura 2 ilustra la disposición de los átomos del sitio activo de la lacasa CotA de *Bacillus subtilis*.

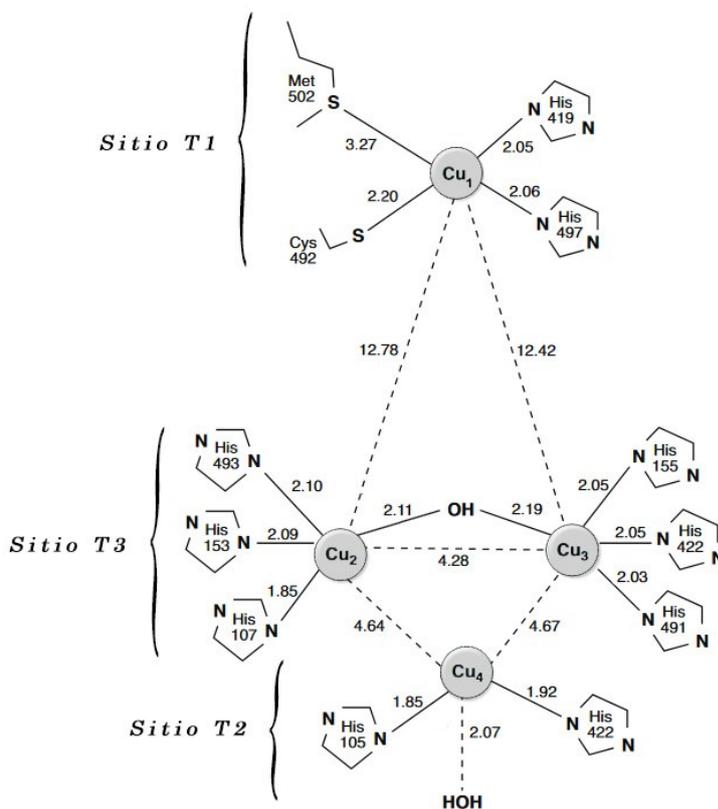


Figura 2. Descripción del sitio activo de la lacasa bacteriana CotA de *Bacillus subtilis*. Adaptación de Santhanam *et al.* (2011).

A pesar del elevado consenso en las secuencias del sitio de unión a cobre y los parámetros electro y paramagnéticos, el potencial redox (E_0) de las lacasas varía ampliamente (entre 400 y 790 mV) (Akram *et al.*, 2022), dependiendo de la identidad de los aminoácidos que rodean el sitio activo, especialmente en el sitio T1. Al ocurrir en este último la unión y oxidación del sustrato, su potencial establece cuán eficiente puede ser la catálisis y determina el tipo de molécula que puede aceptar como donador (Xu *et al.*, 1999). Sin embargo, si bien el potencial de oxidación del sustrato depende mayoritariamente de la diferencia redox entre el sustrato y el sitio T1, otros factores como el tamaño, forma y complejidad del sustrato también afectan la oxidación (Kudanga, 2024). A modo de ejemplo, se determinó que la incorporación de un aminoácido no polar (como fenilalanina o leucina)

en vez de metionina en la posición axial al sitio T1 incrementa significativamente el potencial de la lacasa (Kumar *et al.*, 2003). Si bien las lacasas fúngicas poseen mayor potencial redox que las bacterianas (E_0 alrededor de 800 mV vs. 500 mV), se ha demostrado que mediante mutagénesis dirigida no solo se puede incrementar el potencial de estas últimas (Prins *et al.*, 2015; Shao *et al.*, 2009), sino otras características como su solubilidad (Luo *et al.*, 2018), y estabilidad a pH alcalino y a temperaturas elevadas (T. Li *et al.*, 2021).

2.5- Mediadores redox

Indistintamente de su origen, la actividad catalítica de las lacasas no se restringe a un único sustrato, ya que actúan sobre un amplio rango de moléculas fenólicas y no fenólicas. Por este motivo, las lacasas pueden utilizarse en distintos procesos biotecnológicos tanto en escala de laboratorio como industrial. El uso de moléculas mediadoras para estas enzimas fue originalmente desarrollado para solucionar problemas de rendimiento en bioblanqueamiento de pulpa de madera, descrito por primera vez en 1990 (Bourbonnais & Paice, 1990). En la actualidad existen más de 100 compuestos mediadores, aunque los más utilizados son el ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina)-6-sulfónico (ABTS), 1-hidroxibenzotriazol (HBT), N-hidroxi-acetanilida (NHA), ácido violúrico (VLA), N-hidroxibiftalimida (HPT) y 2,2,6,6-tetrametilpiperidina-N-oxil (TEMPO) (Pannu & Kapoor, 2014). A partir del siglo XXI, la búsqueda de nuevos mediadores se orientó hacia compuestos naturales y derivados como el siringaldehído, acetosiringona, vainillina y ácido p-cumárico, debido al elevado costo de los de origen sintético (Camarero *et al.*, 2005).

Los mediadores son fácilmente oxidados por la lacasa en el sitio T1, y forman intermediarios catiónicos inestables con elevado potencial redox, capaces de oxidar moléculas más complejas por mecanismos no enzimáticos (Majcherczyk & Johannes, 2000). El uso de mediadores, por lo tanto, permite la oxidación de moléculas poliméricas al resolver problemas de impedimento estérico, y además incrementa el rango de sustratos de la enzima al posibilitar la toma de electrones de moléculas con un potencial redox mayor que el de la propia lacasa (Fabbrini *et al.*, 2002). No obstante, a pesar de los beneficios que aportan, pueden generar subproductos de reacción y pueden inactivar la enzima en concentraciones mayores a 1 mM (Kunamneni *et al.*, 2007; Riva, 2006). La figura 3 es una representación esquemática del ciclo catalítico del sistema lacasa-mediador.

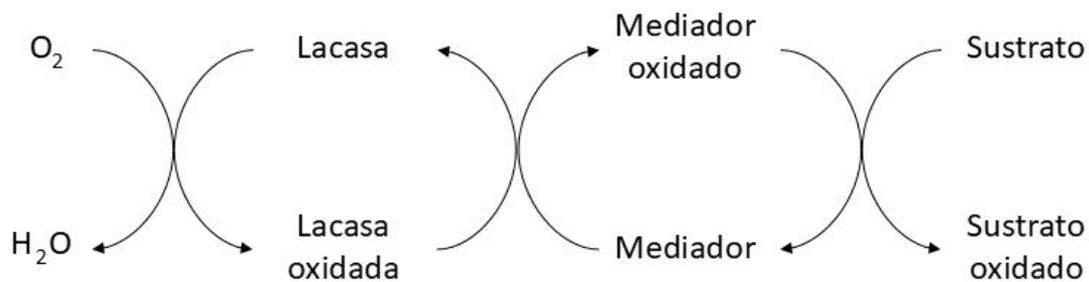


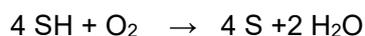
Figura 3. Ciclo catalítico del sistema oxidativo lacasa-mediador.

2.6- Mecanismo de reacción

Uno de los primeros autores en proponer el mecanismo de oxidación de un sustrato catalizado por la lacasa, con la reducción de una molécula de oxígeno y formación de agua, fue Torres *et al.* (2003). Posteriormente, esta propuesta fue completada por otras investigaciones.

- 1- Tras unirse al sitio T1, el sustrato (S) es oxidado mediante la transferencia de un electrón al centro Cu^{+2} , el cual se reduce a Cu^{+1} . Esta abstracción electrónica genera un radical libre catiónico inestable a partir de la molécula del sustrato. La evolución posterior de este radical es diversa: puede experimentar una oxidación enzimática adicional mediada por la lacasa o por oxidasas alternativas, o puede participar en transformaciones no enzimáticas al hidratarse, desprotonarse o polimerizarse (Guzik *et al.*, 2014).
- 2- La lacasa actúa como una batería, ya que se precisan cuatro electrones para reducir el oxígeno y se obtiene uno a la vez durante la oxidación, por lo que se requieren cuatro oxidaciones consecutivas de sustrato. Estos electrones se acumulan en los átomos de cobre del sitio activo.
- 3- Cada electrón extraído de las cuatro oxidaciones es transferido, a través de los residuos de cisteína e histidina, desde el sitio T1 al clúster trinuclear T2/T3, donde se encuentra unida una molécula de oxígeno. Luego, el oxígeno se reduce y se forman dos moléculas de agua que se liberan del sitio catalítico.

La reacción global es la siguiente:



Luego, se detalló la forma de interacción del oxígeno molecular con el sitio activo de la lacasa (Singh *et al.*, 2011). Primero, el oxígeno, que se encuentra interactuando con el clúster T2/T3 completamente reducido, recibe dos electrones desde el sitio T1 y forma un

intermediario peróxido que contiene el anión dioxiógeno. Mientras uno de los átomos de oxígeno permanece unido a los iones de cobre T2 y T3, el otro lo hace sólo con el cobre T3. Luego, el intermediario peróxido recibe otros dos electrones, momento en el que se cliva la unión O-O, se libera agua y se genera un intermediario nativo completamente oxidado, donde un oxígeno (como oxhidrilo) interactúa con los átomos de cobre del sitio T3 y otro lo hace con el cobre T2 (Desai & Nityanand, 2011). La figura 4 ilustra el mecanismo de reacción propuesto para las lacasas.

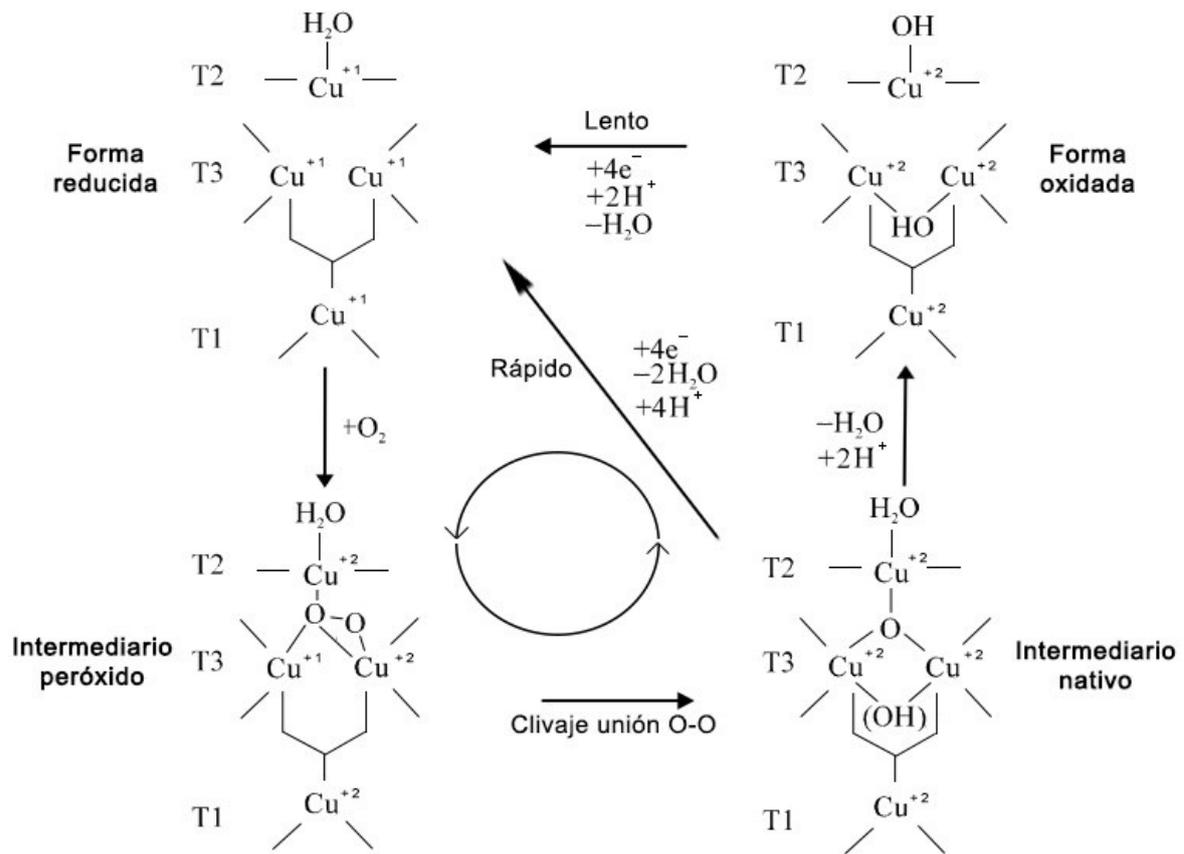


Figura 4. Mecanismo de reacción propuesto para las lacasas. Adaptación de Desai & Nityanand (2011).

2.7- Aplicaciones de lacasas en la industria

De acuerdo a la plataforma LENS (<https://www.lens.org/>), desde el 2000 hasta la actualidad se registran 30517 eventos de patentes que involucran lacasas, con una tendencia creciente hasta el 2019 (Figura 5). A partir de ese momento, el recuento total disminuyó. No obstante, dicho comportamiento también se observa con proteasas, lipasas y amilasas, por lo que podría representar un efecto post-pandemia. De hecho, la demanda global de enzimas cayó drásticamente debido a perturbaciones en las cadenas de suministro

(Maghraby *et al.*, 2023). De acuerdo a Zerva y colaboradores (2019), la mitad de las patentes de lacasas registradas en el período 2008-2018 corresponde al sector industrial, y aún existe una brecha entre las publicaciones científicas y la cantidad de patentes, lo cual sugiere un interés elevado en I+D que puede traducirse en un aumento de patentamientos en los próximos años.

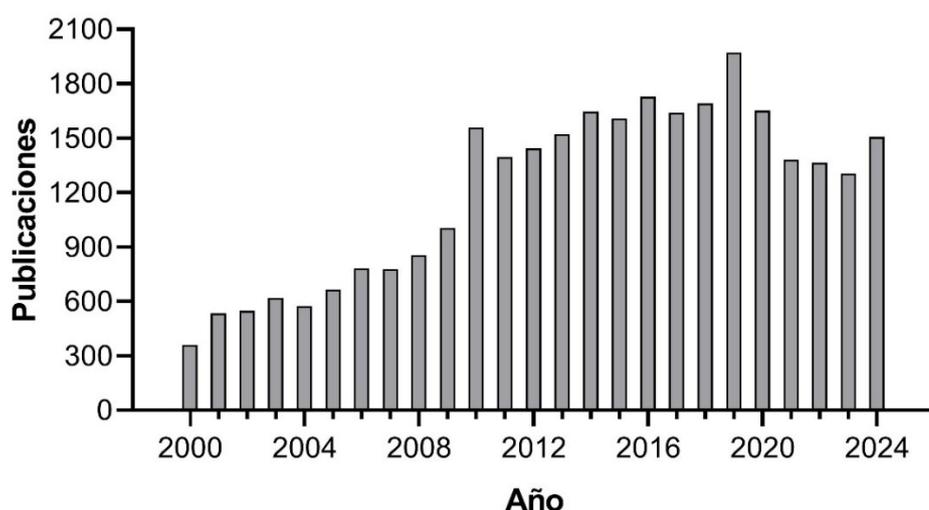


Figura 5. Publicaciones de patentes que poseen el término “lacasa” en sus metadatos.

Existen numerosos sectores en proceso de investigación sobre metodologías enzimáticas para el desarrollo de nuevas tecnologías vinculadas a la química verde, particularmente debido a las desventajas asociadas a los procesos físico-químicos tradicionales, el aumento de la conciencia ambiental y las restricciones regulatorias. Asimismo, las lacasas son capaces de oxidar una amplia variedad de compuestos fenólicos y no fenólicos, sintéticos y naturales, desde subunidades lignocelulósicas hasta compuestos elevadamente recalcitrantes. En este contexto, estas enzimas son usadas en forma libre e inmovilizada en una amplia variedad de aplicaciones biotecnológicas, que incluyen las industrias papelera, textil, cosmética, farmacéutica y alimenticia, biorremediación de suelos y aguas, degradación de disruptores endócrinos y microplásticos, química sintética, biosensores y aplicaciones analíticas (Deska *et al.*, 2019; Othman *et al.*, 2022) (Figura 6). En particular, las enzimas inmovilizadas han adquirido una creciente relevancia comercial debido a sus ventajas operativas, como la reutilización del biocatalizador, la mejora de la estabilidad y la posibilidad de integración en procesos continuos, lo que las convierte en herramientas clave para una biocatálisis más eficiente y económicamente viable. Como reflejo de esta tendencia, numerosas empresas líderes en biotecnología, como Novozymes, Amano Enzyme Inc. y DuPont, ya ofrecen enzimas comercializadas directamente en forma inmovilizada, evidenciando su consolidación en el mercado global.

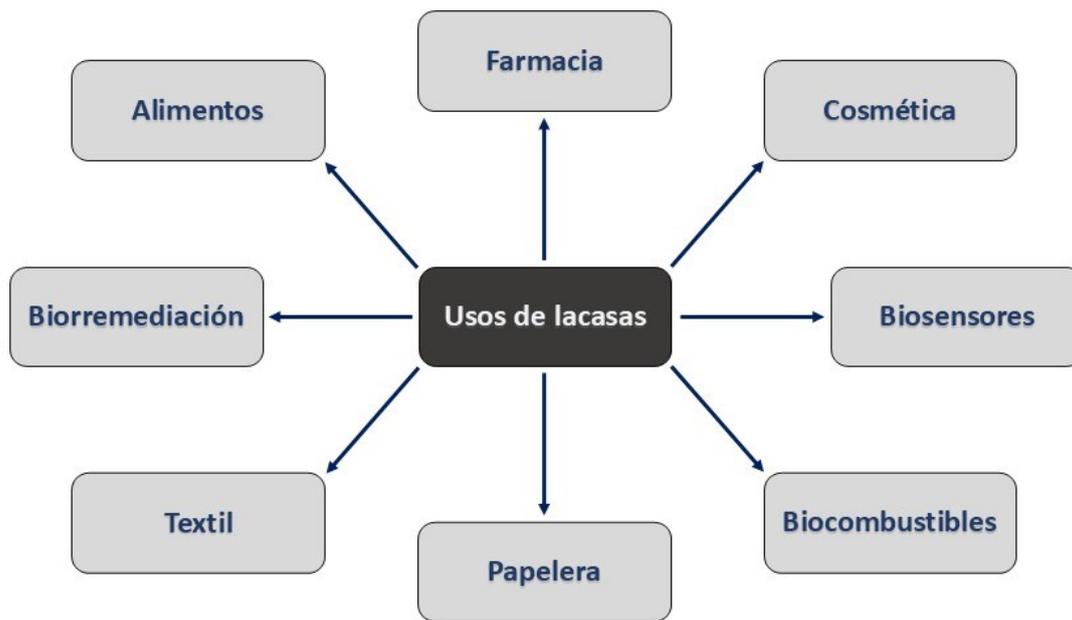


Figura 6. Aplicaciones de lacasas de diferentes industrias.

2.7.1- Industria textil

El primer producto comercial con lacasas aplicado en la industria textil fue DeniLite®, lanzado por Novozymes en 1996, una propuesta sustentable para reemplazar agentes blanqueadores como el hipoclorito de sodio y peróxido de hidrógeno. A partir de ese momento, aparecieron productos similares con el objetivo principal de oxidar el Índigo Carmín presente en las telas y los efluentes que poseían este colorante (Zerva *et al.*, 2019). En los últimos años, las investigaciones se centraron también en procesos de tinción de lana y nylon a través de polimerización de compuestos fenólicos (Prajapati *et al.*, 2018). Además de lo ya mencionado, se pueden usar en la eliminación de olores generados en el proceso de lavado y en la sustitución del cloro en el tratamiento de anti-encogimiento (Ciullini *et al.*, 2008; Kunamneni *et al.*, 2007). En todos los casos, el objetivo es disminuir el uso del agua, energía y productos químicos. En cuanto a patentes asociadas, encontramos pretratamientos de algodón en condiciones suaves (CN109722908A, CN108642854A), uso de lacasas para la síntesis de precursores de colorantes (CN108978270A, CN103952927A) y tratamiento antibacterial (CN108893982A, CN105951436A), entre otras.

2.7.2- Industria papelera

La primera etapa de la elaboración del papel consiste en convertir a la materia prima fibrosa, proveniente de la madera, en pulpa mediante la remoción del material no celulósico

(en especial la lignina, un polímero polifenólico irregular). Tradicionalmente, esto se realiza mediante abrasión mecánica, a través de un proceso ácido (sales de sulfito) o alcalino (Kraft). Mientras que el primero requiere elevadas cantidades de energía eléctrica y da como resultado un papel que se torna amarillo con el tiempo, el segundo utiliza grandes cantidades de agua con menos rendimiento de pulpa y origina fibras más resistentes (Zerva *et al.*, 2019). En este contexto, las lacasas portan un rol promisorio e importante en la búsqueda de minimizar el uso del agua y disminuir el impacto ambiental de los procesos (Kunamneni *et al.*, 2007; Singh & Arya, 2019). Pueden ser utilizadas en numerosos pasos de la industria textil al reemplazar procesos de oxidación, desde la deslignificación y elaboración de la pulpa y posterior blanqueamiento, hasta la degradación de las tintas presentes en el papel reciclado, modificación enzimática del papel, tratamiento de los efluentes e incluso revaloración de la lignina en productos comerciales como vainillina o siringaldehído. Por estas razones, la mayor cantidad de patentes registradas desde el 2010 que involucran a esta enzima corresponden a la categoría de remoción y modificación de lignina, bajo el concepto de biorrefinerías integradas (Mate & Alcalde, 2017; Zerva *et al.*, 2019). Entre ellas, destacan el uso de mediadores y lacasas modificadas para la mejora de procesos (CN109098025A, CN108823177A), mejoras del papel a través de menor pérdida de pulpa, blanqueamiento y reusabilidad (CN105133409A, CN105178084A) y tratamiento de efluentes clorados (CN106045004A).

2.7.3- Industria alimentaria

Existen numerosas aplicaciones de lacasas en alimentos. Entre ellas, destacan aquellas aplicadas a la producción de bebidas, donde mejoran la calidad del producto al reemplazar el uso de carbón activado en la remoción de fenoles (Mayolo-Deloisa *et al.*, 2020). Para ello, se generan complejos fenólicos a través de la oxidación enzimática, que luego son retirados de la bebida mediante el uso de membranas (Zerva *et al.*, 2019). La estabilización de vinos es una de las principales aplicaciones, ya que se mejora el sabor al remover derivados de lignina generados durante el proceso de maderización. Asimismo, en el tratamiento de cervezas, jugos de uva y manzana, puede ser empleada para solucionar la aparición de turbidez debido a la formación de polímeros fenólicos (WO2014009849A2, Kafeel *et al.*, 2021). En la industria panificadora, el uso de lacasas como aditivos puede mejorar las características del pan al fortalecer las estructuras de la masa y mejorar su aceptabilidad (sabor, estabilidad, frescura, suavidad, textura), incluso si se utilizan harinas de baja calidad, lo cual abarata costos (Kafeel *et al.*, 2021; Minussi *et al.*, 2002; WO2019201725A1). Por otra parte, las lacasas se usan en gelificación de pectina de remolacha (Lin 2023), y oxidación de fenoles presentes en efluentes de la industria alimenticia (CN102718368A, Ejembi *et al.*, 2022; Madhavi & Lele, 2009).

2.7.4- Industria cosmética y farmacéutica

Debido a su habilidad para oxidar una amplia variedad de compuestos orgánicos, las lacasas se encuentran en un campo emergente en la síntesis de antibióticos, drogas anticancerígenas, anestésicos, antiinflamatorios y sedantes, a través de la catálisis de acoplamiento oxidativo (Mate & Alcalde, 2017; Zerva *et al.*, 2019). Además, se ha demostrado que una lacasa bacteriana, por sí misma, posee efectos antifúngicos y antibacterianos (Verma *et al.*, 2018). En la industria cosmética, la enzima puede reemplazar al peróxido de hidrógeno en la oxidación de melanina y puede usarse también para la tinción del cabello (Panwar *et al.*, 2022; Shin *et al.*, 2019). Existen patentes para un método de síntesis de un sustituto de ácido hialurónico (CN104745662A), y se utilizan en desodorantes para uso personal y vertidos industriales (EP1569611A1), y en jabones y detergentes (WO2020002187A1). En particular, la industria dedicada a detergentes representa una fracción importante dentro del mercado de enzimas. Si bien las más utilizadas involucran proteasas, amilasas, celulasas y lipasas, el uso de lacasas es cada vez más frecuente (CN104263544A, US20180127687A1, CN112088209A, DK202330021A1).

2.7.5- Biorremediación

Las lacasas son capaces de oxidar hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAHs) derivados del uso y almacenamiento de combustibles fósiles, así como también bifenilos policlorados (PCBs). Estas dos grandes familias se encuentran entre los compuestos xenobióticos más peligrosos y pueden estar distribuidos en ambientes terrestres y acuáticos (US20240002829A1) (Šrédlová *et al.*, 2021). Un sistema lacasa-mediador puede oxidar tanto PAHs de bajo peso molecular como los más recalcitrantes a quinonas, lo que reduce su peligrosidad debido a que estas son menos mutagénicas y carcinogénicas que sus predecesoras (Torres *et al.*, 2003). Entre PAHs degradados, encontramos benzopireno, naftaleno y antraceno (Deng *et al.*, 2022). Además, se pueden tratar fenoles y derivados (S. Li *et al.*, 2022; Xia *et al.*, 2021), pesticidas (Jin *et al.*, 2016; Srinivasan *et al.*, 2020), colorantes (Britos *et al.*, 2016; Britos *et al.*, 2018; Gianolini *et al.*, 2020; Muthu & Khadir, 2021), poliuretanos (Y. Zhang *et al.*, 2023), y contaminantes emergentes como pueden ser antibióticos, analgésicos, parabenos, hormonas, y derivados plásticos como bisfenoles y biftalatos (Barrios-Estrada *et al.*, 2018).

2.7.6- Otras aplicaciones

Se estudió el uso de lacasas como biosensores para la detección de compuestos fenólicos, aminas aromáticas, dopamina, insulina, epinefrina, tartrazina, residuos

farmacéuticos y oxígeno (Campaña *et al.*, 2019; Kadam *et al.*, 2022). Además, se han empleado como catalizadores en celdas de biocombustibles (Betancor *et al.*, 2013, Ottoni *et al.*, 2023), en el reemplazo del formaldehído para el entrecruzamiento de materiales lignocelulósicos para la producción de fibrofácil (Mate & Alcalde, 2017) y su tinción (Colella *et al.*, 2021). También pueden aplicarse en la síntesis orgánica de compuestos bioactivos (Cardullo *et al.*, 2022), así como en la síntesis de acrilamida (Mita *et al.*, 2003). Además, se utilizan en la producción de bioetanol por eliminar compuestos fenólicos inhibidores de las levaduras fermentadoras (Ibarra *et al.*, 2023), y en la degradación de la lignina en compuestos fermentables (Avanthi & Banerjee, 2016).

3- Producción de lacasas bacterianas recombinantes: avances recientes y desafíos industriales

Actualmente, la optimización del sitio de unión a ribosoma (RBS), de los péptidos señal unidos a la proteína, del promotor para la transcripción y la edición del genoma del huésped son estrategias clave implementadas para incrementar la producción de enzimas bacterianas. Entre ellas, la tecnología CRISPR-Cas9 ha permitido realizar modificaciones genómicas precisas para aumentar la expresión de proteínas de interés y, al mismo tiempo, insertar genes heterólogos directamente en el genoma del huésped, evitando el uso de plásmidos y reduciendo significativamente los riesgos asociados a la transferencia horizontal de genes (Vojnovic *et al.*, 2024). Estas herramientas han mejorado notablemente la eficiencia del diseño de sistemas de expresión, aunque su aplicación a nivel industrial requiere una cuidadosa selección del huésped, optimización de las condiciones de cultivo y escalabilidad del proceso. Aun así, uno de los principales cuellos de botella sigue siendo el elevado costo asociado a la producción de enzimas recombinantes, que incluye gastos en medios de cultivo, purificación, control de calidad y validación funcional. A esto se suman los requisitos regulatorios estrictos para estas enzimas, especialmente en sectores como el alimentario o farmacéutico, donde se exige demostrar la ausencia de endotoxinas, elementos móviles y contaminantes, además de garantizar trazabilidad completa. Estas exigencias pueden aumentar significativamente el tiempo y los costos de aprobación, lo que representa una clara desventaja frente a alternativas químicas o enzimas fúngicas, que suelen tener una trayectoria más consolidada (Jayakrishnan *et al.*, 2024).

En paralelo, la evolución dirigida se ha afianzado como una estrategia fundamental para generar biocatalizadores específicos y eficientes. Este enfoque, en constante desarrollo, ha incorporado recientemente innovaciones en el diseño de bibliotecas genéticas, en los métodos de cribado de alto y ultra-alto rendimiento, así como en plataformas de evolución continua *in vivo* (Aza & Camarero, 2023). Sin embargo, el desarrollo de una enzima completamente optimizada para procesos industriales sigue

requiriendo equipos altamente especializados, tecnologías estandarizadas y una coordinación efectiva de todas las etapas del proceso, desde la ingeniería genética hasta la validación funcional a gran escala. La integración de herramientas bioinformáticas y el aprendizaje automático promete acelerar la ingeniería enzimática, aunque su aplicación práctica aún se ve limitada por la necesidad de grandes volúmenes de datos experimentales y por la complejidad del procesamiento de estos datos. Además, se reconoce cada vez más que la dinámica estructural de las enzimas – más allá del modelo clásico de llave y cerradura – desempeña un papel crucial en su función catalítica, ofreciendo nuevas perspectivas para el diseño racional de lacasas bacterianas con propiedades mejoradas (Heckmann & Paradisi, 2020).

En este contexto, la producción de lacasas bacterianas recombinantes representa una frontera biotecnológica en expansión, impulsada por la convergencia entre la ingeniería genética, el modelado computacional, la evolución dirigida y la mutagénesis específica. A pesar de su notable versatilidad catalítica, mayor velocidad de producción y adaptabilidad a la expresión heteróloga, las lacasas bacterianas aún se enfrentan a ciertas limitaciones que explican su escasa presencia en el mercado. Entre ellas, se destacan la baja disponibilidad de variantes bien caracterizadas y la falta de antecedentes regulatorios robustos (Akram *et al.*, 2022; Kudanga, 2024). En contraste, las lacasas fúngicas han sido extensamente utilizadas, se secretan de forma natural al medio, y cuentan con protocolos estandarizados y marcos normativos ya establecidos, lo que ha favorecido su adopción industrial (Aza & Camarero, 2023; Mayolo-Deloisa *et al.*, 2020). A ello se suma que varias de estas enzimas fúngicas ya han sido exitosamente adaptadas a sistemas recombinantes, lo que reduce la brecha tecnológica entre ambas alternativas. En este escenario, las lacasas bacterianas solo podrán posicionarse como una alternativa real si logran ofrecer ventajas funcionales diferenciales, como mayor estabilidad estructural, resistencia a condiciones extremas o capacidad de oxidar sustratos recalcitrantes. A medida que se superen las barreras técnicas y regulatorias, los avances en ingeniería genética y expresión heteróloga permitirán el desarrollo de biocatalizadores optimizados para aplicaciones industriales más sostenibles, eficientes y seguros.

4- Conclusión y perspectivas

Las lacasas son enzimas ubicuas en la naturaleza y poseen una notable versatilidad, lo que permite su aplicación en diversas industrias, como la textil, papelera, alimentaria, farmacéutica y en biorremediación. Su capacidad para actuar sobre una amplia variedad de sustratos las hace especialmente atractivas en el tratamiento de efluentes y la degradación de contaminantes, desde colorantes hasta productos farmacéuticos y de cuidado personal. Sin embargo, esta misma característica representa una limitación en aplicaciones que

requieren elevada selectividad, como la biocatálisis para la síntesis de compuestos específicos o el desarrollo de biosensores.

En comparación con otras oxidasas y metodologías físico-químicas, el uso de lacasas permite procesos más sostenibles, ya que su mecanismo de acción no requiere cofactores adicionales y reduce el uso de productos químicos agresivos. Si bien el creciente interés en lacasas bacterianas abre nuevas oportunidades para su producción y aplicación industrial, y el número de publicaciones científicas sobre estas enzimas ha aumentado significativamente en los últimos años, el número de patentes registradas sigue siendo limitado en relación con su potencial descrito en la literatura. Esto sugiere que, a pesar del gran interés académico, aún existen desafíos en su transferencia al sector industrial.

A pesar de las ventajas que presentan, la producción a escala industrial de lacasas bacterianas recombinantes aún enfrenta desafíos técnicos y económicos significativos. La necesidad de sistemas de expresión eficientes, procesos de purificación costeables y el cumplimiento de regulaciones estrictas constituyen barreras que limitan su adopción frente a las lacasas fúngicas, que cuentan con una trayectoria consolidada y formas recombinantes ya aprobadas y disponibles comercialmente. No obstante, el impulso global hacia tecnologías más limpias y sostenibles brinda un contexto favorable para su desarrollo. En este sentido, los recientes avances en edición génica, evolución dirigida y modelado estructural proporcionan herramientas clave para optimizar la producción y funcionalidad de estas enzimas, abriendo nuevas posibilidades para su implementación industrial.

En este escenario, la velocidad de producción de lacasas bacterianas, junto con su compatibilidad con sistemas de expresión heteróloga, las convierte en una alternativa atractiva para procesos industriales que requieren tiempos cortos de reacción o producción continua. Asimismo, la utilización de medios de cultivo económicos y la inmovilización en soportes adecuados representan estrategias prometedoras para reducir costos, aumentar la estabilidad operativa y facilitar la reutilización en procesos a escala. Si se logran superar las barreras de costo, escalabilidad y validación regulatoria, las lacasas bacterianas podrían consolidarse como una nueva generación de biocatalizadores industriales, competitivos en sostenibilidad, versatilidad y eficiencia frente a las alternativas tradicionales.

Referencias bibliográficas

- Akram, F., Ashraf, S., Haq, I. ul, Shah, F. I., & Aqeel, A. (2022). Eminent Industrial and Biotechnological Applications of Laccases from Bacterial Source: a Current Overview. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 194(5), 2336–2356. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12010-021-03781-9>
- Avanthi, A., & Banerjee, R. (2016). A strategic laccase mediated lignin degradation of lignocellulosic feedstocks for ethanol production. *Industrial Crops and Products*, 92, 174–

185. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.08.009>

Aza, P., & Camarero, S. (2023). Fungal Laccases: Fundamentals, Engineering and Classification Update. *Biomolecules*, 13(1716). DOI: <https://doi.org/10.3390/biom13121716>

Barrios-Estrada, C., de Jesús Rostro-Alanis, M., Muñoz-Gutiérrez, B. D., Iqbal, H. M. N., Kannan, S., & Parra-Saldívar, R. (2018). Emergent contaminants: Endocrine disruptors and their laccase-assisted degradation – A review. *Science of the Total Environment*, 612, 1516–1531. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.09.013>

Basheer, S., Rashid, N., Ashraf, R., Akram, M. S., Siddiqui, M. A., Imanaka, T., & Akhtar, M. (2017). Identification of a novel copper-activated and halide-tolerant laccase in *Geobacillus thermopakistaniensis*. *Extremophiles*, 21(3). DOI: <https://doi.org/10.1007/s00792-017-0925-3>

Betancor, L., Johnson, G.R. & Luckarift, H.R. (2013). Stabilized Laccases as Heterogeneous Bioelectrocatalysts. *ChemCatChem*, 5, 46-60. DOI: <https://doi.org/10.1002/cctc.201200611>

Bourbonnais, R., & Paice, M. G. (1990). Oxidation of non-phenolic substrates: An expanded role for laccase in lignin biodegradation. *FEBS Letters*, 267(1), 99–102. DOI: [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(90\)80298-W](https://doi.org/10.1016/0014-5793(90)80298-W)

Britos, C. N., Gianolini, J. E., Portillo, H., & Trelles, J. A. (2018). Biodegradation of industrial dyes by a solvent, metal and surfactant-stable extracellular bacterial laccase. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 14, 221–227. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.03.015>

Britos, C. N., & Trelles, J. A. (2016). Development of strong enzymatic biocatalysts for dye decolorization. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 7, 228–233. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2016.06.009>

Camarero, S., Ibarra, D., Martínez, M. J., & Martínez, A. T. (2005). Lignin-Derived Compounds as Efficient Laccase Mediators for decolorization of recalcitrant dye.pdf. *Appl. Environ. Microbiol.*, 71(4), 1775–1784. DOI: <https://doi.org/10.1128/AEM.71.4.1775-1784.2005>

Campaña, A. L., Florez, S. L., Noguera, M. J., Fuentes, O. P., Puentes, P. R., Cruz, J. C., & Osma, J. F. (2019). Enzyme-based Electrochemical Biosensors for Microfluidic Platforms to Detect Pharmaceutical Residues in Wastewater. *Biosensors*, 9(41).

Cardullo, N., Muccilli, V., & Tringali, C. (2022). Laccase-mediated synthesis of bioactive natural products and their analogues. *RSC Chemical Biology*, 3, 614-647.

Ciullini, I., Tilli, S., Scozzafava, A., & Briganti, F. (2008). Fungal laccase, cellobiose dehydrogenase, and chemical mediators: Combined actions for the decolorization of different classes of textile dyes. *Bioresource Technology*, 99(15), 7003–7010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.01.019>

Colella, A., De Chiaro, A., & Lettera, V. (2021). In Situ Wood Fiber Dyeing Through Laccase Catalysis for Fiberboard Production. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9. DOI:

<https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.778971>

Davies, G. J., & Ducros, V. (2002). Laccase. In A. Messerschmidt, R. Huber, T. Poulos, & K. Wieghardt (Eds.). *Handbook of metalloproteins*. John Wiley & Sons.

Deng, J., Wang, H., Zhan, H., Wu, C., Huang, Y., Yang, B., Mosa, A., & Ling, W. (2022). Catalyzed degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by recoverable magnetic chitosan immobilized laccase from *Trametes versicolor*. *Chemosphere*, *301*, 134753. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2022.134753>

Desai, S. S., & Nityanand, C. (2011). Microbial laccases and their applications: A review. *Asian Journal of Biotechnology*, *3*(2), 98–124. DOI: <https://doi.org/10.3923/ajbkr.2011.98.124>

Deska, M., & Kończak, B. (2019). Immobilized fungal laccase as “green catalyst” for the decolourization process – State of the art. *Process Biochemistry*, *84*(May), 112–123. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2019.05.024>

Dijkstra, L., & Walker, J. R. L. (1991). Enzymic browning in apricots (*Prunus armeniaca*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *54*(2), 229–234. DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740540208>

Du, Y., Oshima, R., & Kumanotani, J. (1984). Reversed-phase liquid chromatographic separation and identification of constituents of uroshiol in the sap of the lac tree, *Rhus vernicifera*. *Journal of Chromatography A*, *284*(C), 463–473. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)87848-1](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)87848-1)

Ejembi, F. O., Çağıl, Ö., Ameh, L., Ameh, E. G., Ajifken, J., Asoh, L., & Soya, D. D. (2022). Biodegradation and treatment of Olive Mill Wastewater with fungi (Laccase). *International Journal of Advances in Engineering and Management (IJAEM)*, *4*(12).

Elnashar, M. M. M. (2010). Review Article: Immobilized Molecules Using Biomaterials and Nanobiotechnology. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, *1*, 61–77. DOI: <https://doi.org/10.4236/jbmb.2010.11008>

Enguita, F. J., Martins, L. O., Henriques, A. O., & Carrondo, M. A. (2003). Crystal structure of a bacterial endospore coat component: A laccase with enhanced thermostability properties. *Journal of Biological Chemistry*, *278*(21), 19416–19425.

Fabbrini, M., Galli, C., & Gentili, P. (2002). Comparing the catalytic efficiency of some mediators of laccase. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, *16*(5–6), 231–240. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1381-1177\(01\)00067-4](https://doi.org/10.1016/S1381-1177(01)00067-4)

Garavaglia, S., Cambria, M. T., Miglio, M., Ragusa, S., Iacobazzi, V., Palmieri, F., D'Ambrosio, C., Scaloni, A., & Rizzi, M. (2004). The structure of *Rigidoporus lignosus* laccase containing a full complement of copper ions, reveals an asymmetrical arrangement for the T3 copper pair. *Journal of Molecular Biology*, *342*(5), 1519–1531. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2004.07.100>

Gianfreda, L., Xu, F., & Bollag, J. M. (1999). Laccases: A useful group of oxidoreductive

- enzymes. *Bioremediation Journal*, 3(1), 1–26. DOI: <https://doi.org/10.1080/10889869991219163>
- Gianolini, J. E., Britos, C. N., Mulreedy, C. B., & Trelles, J. A. (2020). Hyperstabilization of a thermophile bacterial laccase and its application for industrial dyes degradation. *3 Biotech*, 10(6), 1–7. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13205-020-02277-3>
- Giardina, P., Faraco, V., Pezzella, C., Piscitelli, A., Vanhulle, S., & Sannia, G. (2010). Laccases: A never-ending story. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 67(3), 369–385. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00018-009-0169-1>
- Givaudan, A., Effosse, A., Faure, D., Potier, P., Bouillant, M.-L., & Bally, R. (1993). Polyphenol oxidase in *Azospirillum lipoferum* isolated from rice rhizosphere: Evidence for laccase activity in non-motile strains of *Azospirillum lipoferum*. In *FEMS Microbiology Letters* (Vol. 108). DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1993.tb06100.x>
- Gupta, V., Balda, S., Gupta, N., Capalash, N., & Sharma, P. (2019). Functional substitution of domain 3 (T1 copper center) of a novel laccase with Cu ions. *International Journal of Biological Macromolecules*, 123, 1052–1061. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.11.174>
- Guzik, U., Hupert-Kocurek, K., & Wojcieszynska, D. (2014). Immobilization as a strategy for improving enzyme properties- Application to oxidoreductases. *Molecules*, 19(7), 8995–9018. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules19078995>
- Hakulinen, N., Kiiskinen, L. L., Kruus, K., Saloheimo, M., Paanen, A., Koivula, A., & Rouvinen, J. (2002). Crystal structure of a laccase from *Melanocarpus albomyces* with an intact trinuclear copper site. *Nature Structural Biology*, 9(8), 601–605. DOI: <https://doi.org/10.1038/nsb823>
- Heckmann, C. M., & Paradisi, F. (2020). Looking Back: A Short History of the Discovery of Enzymes and How They Became Powerful Chemical Tools. *ChemCatChem*, 12(24), 6082–6102. DOI: <https://doi.org/10.1002/cctc.202001107>
- Hoopes, J. T., & Dean, J. F. D. (2004). Ferroxidase activity in a laccase-like multicopper oxidase from *Liriodendron tulipifera*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 42(1), 27–33. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2003.10.011>
- Ibarra, D., Eugenio, M. E., Alvira, P., Ballesteros, I., Ballesteros, M., & Negro, M. J. (2023). Effect of Laccase Detoxification on Bioethanol Production from Liquid Fraction of Steam-Pretreated Olive Tree Pruning. *Fermentation*, 9(214).
- Jayakrishnan, A., Wan Rosli, W. R., Tahir, A. R. M., Razak, F. S. A., Kee, P. E., Ng, H. S., Chew, Y.-L., Lee, S. K., Ramasamy, M., Tan, C. S., & et al. (2024). Evolving paradigms of recombinant protein production in pharmaceutical industry: A rigorous review. *Sci*, 6(1), 9. DOI: <https://doi.org/10.3390/sci6010009>
- Jin, X., Yu, X., Zhu, G., Zheng, Z., Feng, F., & Zhang, Z. (2016). Conditions Optimizing and Application of Laccase-Mediator System (LMS) for the Laccase-catalyzed Pesticide

Degradation. *Scientific Reports*, 6(35787).

Kadam, A. A., Saratale, G. D., Ghodake, G. S., Saratale, R. G., Shahzad, A., Magotra, V. K., Kumar, M., Palem, R. R., & Sung, J. S. (2022). Recent Advances in the Development of Laccase-Based Biosensors via Nano-Immobilization Techniques. *Biosensors*, 10(58).

Kafeel, M., Ansari, A., Lastochkina, O., Iqbal, M., Ansari, A. A., Fatma, T., Rodriguez-Couto, S., & Owens, G. (2021). Laccase-The Wonder Enzyme for a Variety of Industries. *Acta Scientific MICROBIOLOGY*, 4(12), 2581–3226.

Kudanga, T. (2024). Bacterial laccases: a general introduction. In D. Yadav & T. Kudanga (Eds.), *Bacterial laccases. Engineering, Immobilization, Heterologous Production, and Industrial Applications* (pp. 1–9). Academic Press. DOI: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/C2021-0-00202-9>

Kumar, M., Mishra, A., Singh, S. S., Srivastava, S., & Thakur, I. S. (2018). Expression and characterization of novel laccase gene from *Pandoraea* sp. ISTKB and its application. *International Journal of Biological Macromolecules*, 115, 308–316. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.04.079>

Kumar, S. V. S., Phale, P. S., Durani, S., & Wangikar, P. P. (2003). Combined sequence and structure analysis of the fungal laccase family. *Biotechnology and Bioengineering*, 83(4), 386–394. DOI: <https://doi.org/10.1002/bit.10681>

Kunamneni, A., Ballesteros, A., Plou, F. J., & Alcalde, M. (2007). Fungal laccase – a versatile enzyme for biotechnological applications. *Applied Microbiology*, 233–245.

Laponi, M. J., Méndez, M. B., Trelles, J. A., & Rivero, C. W. (2022). Cell immobilization strategies for biotransformations. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, 33, 100565. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2021.100565>

Leontievsky, A., Myasoedova, N., Pozdnyakova, N., & Golovleva, L. (1997). “Yellow” laccase of *Panus tigrinus* oxidizes non-phenolic substrates without electron-transfer mediators. *FEBS Letters*, 413, 446–448. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(97\)00953-8](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(97)00953-8)

Li, S., Qi, B., Luo, J., & Wan, Y. (2022). Degradation of phenolic inhibitors by laccase immobilized on tannic acid/polyethylenimine modified magnetic nanoparticles. *Results in Engineering*, 15. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rineng.2022.100585>

Li, T., Wang, H., Li, J., Jiang, L., Kang, H., Guo, Z., Wang, C., Yang, W., Liu, F., Lu, F., & Liu, Y. (2021). Enzymatic characterization, molecular dynamics simulation, and application of a novel *Bacillus licheniformis* laccase. *International Journal of Biological Macromolecules*, 167, 1393–1405. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.11.093>

Lin, J.-W., Jiang, G.-L., Liang, C.-X., Li, Y.-M., Chen, X.-Y., Zhang, X.-T., & Tang, Z.-S. (2023). Laccase-Induced Gelation of Sugar Beet Pectin–Curcumin Nanocomplexes Enhanced by Genipin Crosslinking. *Foods*, 12(14), 2771. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods12142771>

Luo, Q., Chen, Y., Xia, J., Wang, K. Q., Cai, Y. J., Liao, X. R., & Guan, Z. B. (2018). Functional

expression enhancement of *Bacillus pumilus* CotA-laccase mutant WLF through site-directed mutagenesis. *Enzyme and Microbial Technology*, 109(July 2017), 11–19. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2017.07.013>

Madhavi, V., & Lele, S. S. (2009). Laccase: Properties and applications. *BioResources*, 4(4), 1694–1717. DOI: <https://doi.org/10.15376/biores.4.4.1694-1717>

Maghraby, Y. R., El-Shabasy, R. M., Ibrahim, A. H., Mohamed, H., & Azzazy, E.-S. (2023). *Enzyme Immobilization Technologies and Industrial Applications*. 8, 5184–5196. DOI: <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c07560>

Majcherczyk, A., & Johannes, C. (2000). Radical mediated indirect oxidation of a PEG-coupled polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) model compound by fungal laccase. *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects*, 1474(2), 157–162. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0304-4165\(00\)00012-X](https://doi.org/10.1016/S0304-4165(00)00012-X)

Mate, D. M., & Alcalde, M. (2017). Laccase: a multi-purpose biocatalyst at the forefront of biotechnology. *Microbial Biotechnology*, 10(6), 1457–1467. DOI: <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12422>

Mayolo-Deloisa, K., González-González, M., & Rito-Palomares, M. (2020). Laccases in Food Industry: Bioprocessing, Potential Industrial and Biotechnological Applications. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8(March), 1–8. DOI: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00222>

Minussi, R. C., Pastore, G. M., & Durán, N. (2002). Potential applications of laccase in the food industry. *Trends in Food Science and Technology*, 13(6–7), 205–216. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(02\)00155-3](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(02)00155-3)

Mita, N., Tawaki, S. Ichiro, Hiroshi, U., & Kobayashi, S. (2003). Laccase-catalyzed oxidative polymerization of phenols. *Macromolecular Bioscience*, 3(5), 253–257. DOI: <https://doi.org/10.1002/mabi.200390032>

Mohamad, N. R., Marzuki, N. H. C., Buang, N. A., Huyop, F., & Wahab, R. A. (2015). An overview of technologies for immobilization of enzymes and surface analysis techniques for immobilized enzymes. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 29(2), 205–220. DOI: <https://doi.org/10.1080/13102818.2015.1008192>

Morozova, O. V, Shumakovich, G. P., Gorbacheva, M. A., Shleev, S. V, & Yaropolov, A. I. (2007). “Blue” Laccases. *Biochemistry*, 72(10), 1136–1150.

Muthu, S., & Khadir, A. (2021). Dye Biodegradation, Mechanisms and Techniques. Recent Advances. In S. Senthilkannan Muthu & A. Khadir (Eds.), *Sustainable Textiles: Production, Processing, Manufacturing & Chemistry*. Springer Nature. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-981-16-5932-4>

Niladevi, K. N., & Prema, P. (2008). Immobilization of laccase from *Streptomyces psammoticus* and its application in phenol removal using packed bed reactor. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24(7), 1215–1222. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11274->

007-9598-x

Othman, A. M., Rodriguez-Couto, S., & Mechichi, T. (2022). Editorial: Microbial Laccases: Recent Advances and Biotechnological Applications. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 10(May), 1–2. DOI: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.922223>

Otoni, C., do Valle Trotta, C., Martins, G., Matos, J., Maiorano, A. E., Brito, A. G., Peixoto, L. (2023). In Situ *Trametes versicolor* Laccase Biocathode Performance Assessment in Dual-Chamber Microbial Fuel Cells. *Bioenerg. Res.* 16, 2616–2624. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12155-023-10594-7>

Pannu, J. S., & Kapoor, R. K. (2014). Microbial Laccases: a mini-review on their production, purification and applications. *International Journal of Pharmaceutical Archive*, 3(12), 528–536.

Panwar, V., Dey, B., Sheikh, J. N., & Dutta, T. (2022). Thermostable bacterial laccase for sustainable dyeing using plant phenols. *RSC Advances*, 12(28), 18168–18180. DOI: <https://doi.org/10.1039/d2ra02137d>

Pawlik, A., Wójcik, M., Rułka, K., Motyl-Gorzal, K., Osińska-Jaroszuk, M., Wielbo, J., Marek-Kozaczuk, M., Skorupska, A., Rogalski, J., & Janusz, G. (2016). Purification and characterization of laccase from *Sinorhizobium meliloti* and analysis of the lacc gene. *International Journal of Biological Macromolecules*, 92, 138–147. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.07.012>

Piscitelli, A., Pezzella, C., Giardina, P., Faraco, V., & Giovanni, S. (2010). Heterologous laccase production and its role in industrial applications. *Bioengineered Bugs*, 1(4), 252–262. DOI: <https://doi.org/10.4161/bbug.1.4.11438>

Prajapati, C. D., Smith, E., Kane, F., & Shen, J. (2018). Laccase-catalysed coloration of wool and nylon. *Coloration Technology*, 134, 423–439. DOI: <https://doi.org/10.1111/cote.12350>

Prins, A., Kleinsmidt, L., Khan, N., Kirby, B., Kudanga, T., Vollmer, J., Pleiss, J., Burton, S., & Le Roes-Hill, M. (2015). The effect of mutations near the T1 copper site on the biochemical characteristics of the small laccase from *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Enzyme and Microbial Technology*, 68, 23–32. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2014.10.003>

Riva, S. (2006). Laccases: blue enzymes for green chemistry. *Trends in Biotechnology*, 24(5), 219–226. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2006.03.006>

Sajeevan, S., Michel, H., Jose, J., & Bhat, S. G. (2024). Immobilization for enhancement of laccase reusability. In D. Yadav & T. Kudanga (Eds.), *Bacterial laccases. Engineering, Immobilization, Heterologous Production, and Industrial Applications* (pp. 125–140). Academic Press.

Santhanam, N., Vivanco, J. M., Decker, S. R., & Reardon, K. F. (2011). Expression of industrially relevant laccases: Prokaryotic style. *Trends in Biotechnology*, 29(10), 480–489. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2011.04.005>

Shao, X., Gao, Y., Jiang, M., & Li, L. (2009). Deletion and site-directed mutagenesis of

laccase from *Shigella dysenteriae* results in enhanced enzymatic activity and thermostability. *Enzyme and Microbial Technology*, 44(5), 274–280. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2008.12.013>

Sheldon, R. A., & van Pelt, S. (2013). Enzyme immobilisation in biocatalysis: why, what and how. *Chem. Soc. Rev.*, 42(15), 6223–6235. DOI: <https://doi.org/10.1039/C3CS60075K>

Shin, S. K., Hyeon, J. E., Joo, Y. C., Jeong, D. W., You, S. K., & Han, S. O. (2019). Effective melanin degradation by a synergistic laccase-peroxidase enzyme complex for skin whitening and other practical applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 129, 181–186. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.02.027>

Shraddha, Shekher, R., Sehgal, S., Kamthania, M., & Kumar, A. (2011). Laccase: Microbial Sources, Production, Purification, and Potential Biotechnological Applications. *Enzyme Research*, 2011, 1–11. DOI: <https://doi.org/10.4061/2011/217861>

Sigrist, C. J. A., de Castro, E., Cerutti, L., Cucho, B., Hulo, N., Bridge, A., Bougueleret, L., & Xenarios, I. (2013). New and continuing developments at PROSITE. *Nucleic Acids Research*, 41. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gks1067>

Singh, G., & Arya, S. K. (2019). Utility of laccase in pulp and paper industry: A progressive step towards the green technology. In *International Journal of Biological Macromolecules* (Vol. 134). Elsevier B.V. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.05.168>

Singh, G., Bhalla, A., Kaur, P., Capalash, N., & Sharma, P. (2011). Laccase from prokaryotes: A new source for an old enzyme. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 10(4), 309–326. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11157-011-9257-4>

Šrédlová, K., Šírová, K., Stella, T., & Cajthaml, T. (2021). Degradation products of polychlorinated biphenyls and their in vitro transformation by ligninolytic fungi. *Toxics*, 9(4). DOI: <https://doi.org/10.3390/toxics9040081>

Srinivasan, P., Selvankumar, T., Paray, B. A., Rehman, M. U., Kamala-Kannan, S., Govarthanan, M., Kim, W., & Selvam, K. (2020). Chlorpyrifos degradation efficiency of *Bacillus* sp. laccase immobilized on iron magnetic nanoparticles. *3 Biotech*, 10(8). DOI: <https://doi.org/10.1007/s13205-020-02363-6>

Torres, E., Bustos-Jaimes, I., & Le Borgne, S. (2003). Potential use of oxidative enzymes for the detoxification of organic pollutants. In *Applied Catalysis B: Environmental* (Vol. 46, Issue 1, pp. 1–15). Elsevier. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0926-3373\(03\)00228-5](https://doi.org/10.1016/S0926-3373(03)00228-5)

Trelles, J. A., & Rivero, C. W. (2020). Whole Cell Entrapment Techniques. In J. Guisan, J. Bolivar, F. López-Gallego, & J. Rocha-Martín (Eds.), *Immobilization of Enzymes and Cells. Methods in Molecular Biology* (pp. 385–394). Humana Press. DOI: https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0215-7_25

Valderrama, B., Oliver, P., Medrano-Soto, A., & Vazquez-Duhalt, R. (2003). Evolutionary and structural diversity of fungal laccases. *Antonie van Leeuwenhoek*, 84(4), 289–299. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1026070122451>

- Verma, A., Shirkot, P., Dhiman, K., Sharma, R., & Chauhan, A. (2018). First Evidence of a Potential Antimicrobial Activity of Bacterial Laccase Against Various Plant Pathogens. *National Academy Science Letters*, 42(1), 5–8. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40009-018-0695-1>
- Vogel, A., & May, O. (2019). Industrial Enzyme Applications. In Resources and Applications of Biotechnology. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. <https://doi.org/10.1002/9783527813780>
- Vojnovic, S., Aleksic, I., Ilic-Tomic, T., Stevanovic, M., & Nikodinovic-Runic, J. (2024). *Bacillus* and *Streptomyces* spp. as hosts for production of industrially relevant enzymes. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 108(1). <https://doi.org/10.1007/s00253-023-12900-x>
- Xia, T. T., Feng, M., Liu, C. L., Liu, C. Z., & Guo, C. (2021). Efficient phenol degradation by laccase immobilized on functional magnetic nanoparticles in fixed bed reactor under high-gradient magnetic field. *Engineering in Life Sciences*, 21(6), 374–381. DOI: <https://doi.org/10.1002/elsc.202100009>
- Xu, F., Palmer, A. E., Yaver, D. S., Berka, R. M., Gambetta, G. A., Brown, S. H., & Solomon, E. I. (1999). Targeted mutations in a *Trametes villosa* laccase: Axial perturbations of the T1 copper. *Journal of Biological Chemistry*, 274(18), 12372–12375. DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.274.18.12372>
- Zerva, A., Simić, S., Topakas, E., & Nikodinovic-Runic, J. (2019). Applications of microbial laccases: Patent review of the past decade (2009–2019). *Catalysts*, 9(12), 1–25. DOI: <https://doi.org/10.3390/catal9121023>
- Zhang, Y., Plesner, T. J., Ouyang, Y., Zheng, Y. C., Bouhier, E., Berentzen, E. I., Zhang, M., Zhou, P., Zimmermann, W., Andersen, G. R., Eser, B. E., & Guo, Z. (2023). Computer-aided discovery of a novel thermophilic laccase for low-density polyethylene degradation. *Journal of Hazardous Materials*, 458. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.131986>