

聚对苯二甲酸乙二醇酯生物降解的研究进展

金玉凤¹, 邱佳容^{1,2*}, 张良清^{1,2*}, 朱梦磊¹

1 福州大学先进制造学院, 福建 晋江 362251

2 晋江市福大科教园区发展中心, 福建 晋江 362251

金玉凤, 邱佳容, 张良清, 朱梦磊. 聚对苯二甲酸乙二醇酯生物降解的研究进展[J]. 生物工程学报, 2023, 39(11): 4445-4462.

JIN Yufeng, QIU Jiarong, ZHANG Liangqing, ZHU Menglei. Biodegradation of polyethylene terephthalate: a review[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(11): 4445-4462.

摘要: 塑料广泛存在于人类的日常生活中, 在给人们生活带来便利的同时, 大量塑料废物也给环境带来很大压力。聚对苯二甲酸乙二醇酯(polyethylene terephthalate, PET)是一种以石油为原料的高分子热塑性材料, 因其具有耐用、透明度高、重量轻等特性, 已成为世界上使用最广泛的塑料之一。由于PET具有结构复杂以及难降解的特性, 可在自然界中长期存在, 不仅对全球生态环境造成严重的污染, 而且已经威胁到人类健康。如何对PET废弃物进行降解已成为全球的难题之一, 相较于物理法和化学法, 生物降解法是目前处理PET废弃物最为绿色环保的方法。本文分别介绍了微生物和生物酶对PET生物降解的研究现状、PET的生物降解途径、PET生物降解机制以及PET降解酶的分子改造等方面的研究, 并对如何实现PET的高效降解、寻找和改造可降解高结晶度PET的微生物或酶进行展望, 为PET的生物降解微生物或酶的有效开发应用提供理论依据。

关键词: 聚对苯二甲酸乙二醇酯(PET); 生物降解; 降解途径; 降解机制; 分子改造

资助项目: 国家自然科学基金(42207148); 福建省自然科学基金(2022J01573); 福建省中青年教育科研项目(JAT210042); 泉州市科技计划项目(2022N030); 自然资源部海洋生物遗传资源重点实验室开放课题(HY202201, HY202202)
This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (42207148), the Natural Science Foundation of Fujian Province (2022J01573), the Fujian Young and Middle-aged Teachers Education and Scientific Research Projects (JAT210042), the Science and Technology Plan Project of Quanzhou City (2022N030), and the Open Project of the Key Laboratory of the Ministry of Natural Resources Marine Biological Genetic Resources (HY202201, HY202202).

*Corresponding authors. E-mail: QIU Jiarong, qjr@fzu.edu.cn; ZHANG Liangqing, lqzhang@fzu.edu.cn

Received: 2023-03-22; Accepted: 2023-06-07; Published online: 2023-06-13

Biodegradation of polyethylene terephthalate: a review

JIN Yufeng¹, QIU Jiarong^{1,2*}, ZHANG Liangqing^{1,2*}, ZHU Menglei¹

1 School of Advanced Manufacturing, Fuzhou University, Jinjiang 362251, Fujian, China

2 Development Center of Science and Education Park of Fuzhou University, Jinjiang 362251, Fujian, China

Abstract: Plastics are widely used in human daily life, which bring great convenience. Nevertheless, the disposal of a large amount of plastic wastes also brings great pressure to the environment. Polyethylene terephthalate (PET) is a polymer thermoplastic material produced from petroleum. It has become one of the most commonly used plastics in the world due to its durability, high transparency, light weight and other characteristics. PET can exist in nature for a long time due to its complex structure and the difficulty in degradation, which causes serious pollution to the global ecological environment, and threatens human health. The degradation of PET wastes has since become one of the global challenges. Compared with physical and chemical methods, biodegradation is the greenest way for treating PET wastes. This review summarizes the recent advances on PET biodegradation including microbial and enzymatic degradation of PET, biodegradation pathway, biodegradation mechanisms, and molecular modification of PET-degrading enzymes. In addition, the prospect for achieving efficient degradation of PET, searching and improving microorganisms or enzymes that can degrade PET of high crystallinity are presented, with the aim to facilitate the development, application and molecular modification of PET biodegradation microorganisms or enzymes.

Keywords: polyethylene terephthalate (PET); biodegradation; degradation pathway; degradation mechanism; molecular modification

聚对苯二甲酸乙二醇酯 (polyethylene terephthalate, PET) 是一种以石油为原料的高分子热塑性材料, 它是由对苯二甲酸 (terephthalic acid, TPA) 和乙二醇 (ethylene glycol, EG) 经脱水缩合形成的聚酯类化合物^[1-2], 由于 PET 具有耐用、透明度高、重量轻、拉伸冲击强度高、耐化学性和可加工性的特征, 现已成为全球使用最广泛的包装材料之一^[3], 其主要应用于容器包装、纺织业以及工程塑料等领域, 如饮料瓶、薄膜、食品包装袋和纺织纤维等^[4-5]。近年来, 在 COVID-19 大流行的高峰期, 防护面罩、医用吸塑盒以及消毒剂包装瓶等医疗防护物资的大规模生产, 使得 PET 原材料的需求量急剧增加。由于 PET 具有复杂的结构和难降解的特性,

不仅长期暴露于土壤和污泥沉积物中, 而且通过各种途径进入海洋, 给全球生态环境造成严重的威胁^[6-7]。科学家已从近 700 种海洋生物体内检测到 PET 碎片, 这些碎片的积累导致生物体内分泌紊乱、发育迟缓、细胞坏死以及免疫细胞受到损害等, 且生物体内的 PET 碎片或颗粒会随着食物链的富集威胁到人类的健康, 例如减少人体骨髓间充质干细胞和内皮祖细胞的迁移和增殖^[8-11]。PET 是一种极难降解的聚酯类高分子材料, 会在自然环境中存在数十年甚至几十年^[12-13]。因此, 如何有效降解 PET 已成为国际社会共同关注的热点问题。

目前, 常用的降解 PET 塑料的方法包括物理法、化学法和生物法^[14-17], 利用物理和化学

手段降解 PET 不仅条件苛刻、成本昂贵, 并且有污染环境、破坏生态的风险。相对于物理法和化学法, PET 的生物降解法具有易于操作、环境友好和能源消耗低等优点, 是目前最为绿色环保的方法, 因此, PET 生物降解法被认为是最具潜力的方法^[18]。目前已有很多关于 PET 生物降解的相关报道, 本文针对目前 PET 的生物降解现状、途径、机制以及 PET 降解酶分子改造等方面进行阐述, 并对如何实现 PET 的高效降解、寻找和改良可降解高结晶度 PET 的微生物或酶进行展望。

1 PET 的生物降解

PET 的生物降解是指在微生物产生的生物活性酶的作用下, 将复杂的聚合物分子转化为简单的小分子, 以满足其能量的需求^[19]。通过微生物或酶将 PET 降解为对苯二甲酸双羟乙酯[bis(2-hydroxyethyl)terephthalic acid, BHET]、对苯二甲酸单羟乙酯[mono(2-hydroxyethyl)terephthalic acid, MHET]、对苯二甲酸(terephthalic acid, TPA)和乙二醇(ethylene glycol, EG)等组分^[20]。经过几十年的发展, PET 生物降解的研究已经取得一定的成果。

1.1 降解 PET 的单菌

由于 PET 是一种难以进入细胞的聚合物, 因此其生物降解需要有能够分泌 PET 降解酶的微生物^[21-22]。自然界中的微生物为了利用这种碳源, 会不断进化来适应其原生环境, 从而分化出许多具有降解 PET 功能的微生物, 从 PET 堆积的自然环境中通过自然选择, 逐步适应其作为生长的唯一碳源, 再通过富集培养后分离出具有降解 PET 功能的优良菌株, 并鉴定相关酶系, 进行序列比对追溯其同源性, 最后对该微生物改良驯化^[23]。细菌是自然界数量最多且应用最广泛的生物, 具有降解塑料的潜力。目

前报道的能够降解 PET 的微生物主要包括细菌和真菌^[24-25] (表 1)。例如, Dhaka 等^[26]分离出 3 株根际细菌阿氏芽孢杆菌(*Priestia aryabhatai*) VT 3.12、假霉菌芽孢杆菌(*Bacillus pseudomycolides*) VT 3.15 和短小芽孢杆菌(*Bacillus pumilus*) VT 3.16, 这些菌株以切割的透明 PET 瓶为唯一碳源, 30 °C 孵育 28 d, 片状 PET 的降解率分别为 40%、36%和 32%; 此外, 在相同条件下对 300 μm 粒径的 PET 粉末孵育 18 d 后的降解率分别为 69%、66%和 64%, 其中 *Priestia aryabhatai* VT 3.12 无论是对片状 PET 还是粉末状 PET 的降解都表现出了良好的活性。Gu 等^[27]从 PET 废弃塑料中筛选出 1 株具有降解 PET 颗粒能力的食石油微杆菌(*Microbacterium oleivorans*) JWG-G2, 在 25-40 °C、pH 6.0-9.0 的条件下反应 5 d 后 PET 的失重率为 1%, 且对 PET 的中间产物 BHET 和 MHET 均有降解作用, 其失重率分别为 4.5%和 11.2%, 从而有效地降低中间产物的抑制作用。Auta 等^[28]从马来西亚半岛红树林生态系统中各分离出 1 株蜡状芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)和哥特氏芽孢杆菌(*Bacillus gottheilii*), 29 °C 反应 40 d 后, PET 颗粒的降解率分别为 6.6%和 3.0%。Yoshida 等^[29]从微生物菌群“46”号中分离出 1 株能够降解和同化 PET 的细菌大阪堺菌(*Ideonella sakaiensis*) 201-F6, 在 30 °C、pH 7.0 的条件下反应 42 d 后, 低结晶度 PET (1.9%)几乎完全被降解, 这是目前报道的降解 PET 用时最短、效率最高的细菌。

除了细菌, 真菌也具有降解 PET 的能力, 真菌的菌丝可以通过胞吐作用释放出消化酶, 将大分子分解成小分子的有机化合物并将其吸收, 并且真菌的疏水蛋白还可作为生物表面活性剂, 使菌丝在塑料表面附着得更牢固^[32]。例如, Moyses 等^[30]研究了 2 株用于 PC-PET 解聚的青霉菌(*Penicillium restrictum* 和 *Penicillium*

表 1 PET 降解微生物

Table 1 PET degrading microorganisms

Microorganism strain	Substrate	Time (d)	Temperature (°C)	pH	Weight loss (%)	References
<i>Priestia aryabhatai</i> VT 3.12	PET powder	18	30	/	69.0	[26]
<i>Bacillus pseudomycooides</i> VT 3.15	PET powder	18	30	/	66.0	[26]
<i>Bacillus pumilus</i> VT 3.16	PET powder	18	30	/	64.0	[26]
<i>Microbacterium oleivorans</i> JWG-G2	PET particles	5	25–40	6.0–9.0	1.0	[27]
<i>Bacillus cereus</i>	PET granular	40	29	/	6.6	[28]
<i>Bacillus gottheilii</i>	PET granular	40	29	/	3.0	[28]
<i>Ideonella sakaiensis</i> 201-F6	PET films	42	30	7.0	99.0	[29]
<i>Penicillium simplicissimum</i> 28f2	PC-PET fragments	28	30	/	3.1	[30]
<i>Aspergillus fumigatus</i>	PET bottles	42	25–45	7.0–11.0	22.0	[31]

simplicissimum 28f2), 其中局限青霉(*Penicillium restrictum*)对 PC-PET 尚无明显的降解, 而筒青霉(*Penicillium simplicissimum*) 28f2 于 30 °C 反应 28 d 后, PC-PET 薄膜的降解率达到 3.09%。Sarkhel 等^[31]从孟加拉湾附近分离出 1 株烟曲霉(*Aspergillus fumigatus*)在 25–45 °C、pH 7.0–11.0 的条件下反应 42 d 后, 对 PET 瓶的降解率达到 22%。目前报道的具有 PET 降解能力的细菌要多于真菌, 根据当前的研究水平来看, 从环境中分离出具有降解塑料能力的真菌仍有很大的提升空间。

综上所述, 多数菌株在中低温条件下具有 PET 降解活性, 且在中碱性条件下生长更有优势, 研究发现菌株生长的条件与自然环境相似, 因此, 未来可尝试菌株在自然环境中降解 PET, 实现 PET 的原位降解。大阪堺菌(*Ideonella sakaiensis*) 201-F6 对低结晶度 PET 薄膜具有高效的降解活性, 但对 PET 瓶(结晶度>30%)几乎无降解效果, PET 的生物降解法仍然面临着巨大的挑战。因此, 筛选出降解能力更强的微生物以及提高菌株的降解活性是未来研究的方向之一。

1.2 降解 PET 的微生物菌群

相比于上述单菌对 PET 的降解, 构建微生物菌群在生态系统复杂性和功能性方面开辟了合

成生物学的新视野, 微生物菌群由多种功能微生物组成, 可利用菌株之间的协同作用, 通过菌种分工合作使 PET 具有更高的降解效率^[33–34]。例如, Qi 等^[21]构建了由红球菌(*Rhodococcus jostii*)和 2 株代谢工程枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)组成的人工微生物菌群, 首先, 用 2 株工程化的枯草芽孢杆菌构建了一个双微生物菌群, 它们分泌的 PET 水解酶(PET hydrolase, PETase)和单羟乙基对苯二甲酸水解酶(monohydroxyethylterephthalate hydrolase, MHETase)在 7 d 内降解 13.6%的 PET 薄膜, 另外通过添加红球菌可对中间产物 TPA 进一步降解, 30 °C 反应 3 d, PET 薄膜的失重率减少了 31.2%, 与 2 种微生物菌群相比, PET 薄膜的重量损失提高了约 17.6%。此研究构建的人工微生物菌群可直接将 PET 降解为 TPA 和 EG, 并通过三羧酸循环将降解产物完全转化为 CO₂ 和 H₂O 释放到环境中。Gao 等^[35]衍生出 1 种独特的功能性海洋细菌菌群 CAS6, 并从中分离出 3 株对 PET 具有降解作用的菌株微小杆菌(*Exiguobacterium* sp.)、嗜盐单胞菌(*Halomonas* sp.)和苍白杆菌(*Ochrobactrum* sp.), 将它们以 1:1:1 的比例形成稳定的微生物菌群, 26 °C 孵育 14 d 后, PET 被菌群 CAS6 完全降解成小块。可见, 微生物菌群为 PET 的生物降解提供了新

的思路^[36]。

综上所述,由于自然界中筛选出的具有降解 PET 塑料能力的微生物通常降解速率较低且受到许多限制,难以满足目前对塑料降解的需求,因此,为了实现对 PET 的高效降解,研究人员根据需求构建了不同微生物菌群,与单一菌种培养相比,微生物菌群之间的协同作用不仅可解除中间代谢物(如 BHET)对反应的竞争性抑制,还能将 PET 完全转化为 CO₂ 和 H₂O,显示出突出的 PET 降解能力,同时更能应对复杂的环境挑战^[37-38]。因此,可通过菌株联合培养以达到提高 PET 塑料的生物降解效率的目的,为有效处理环境中的塑料垃圾提供新的思路。由于微生物菌群是动态的,且微生物菌群中底物和中间代谢产物的相互影响,难以实现长期的稳定性,目前微生物菌群的研究正处于初步研究阶段,未来如何实现工业化生产还面临着许多的未知和挑战。

1.3 降解 PET 的生物酶

考虑到在自然环境下,利用细菌、真菌或微生物菌群降解 PET 会受到生物或非生物因素(如阳光、氧气、湿度和压力等)的影响,为了减少外界条件对微生物降解 PET 的干扰,研究人员对 PET 的生物酶降解进行了相关研究,且酶法降解 PET 具有高效、低能量输入且其单体 TPA 和 EG 可回收利用等优点,因此,目前 PET 的生物酶降解是一个非常具有前景的选择^[39],已报道的具有 PET 降解能力的生物酶主要有角质酶、脂肪酶和酯酶^[40](表 2)。例如, Ribitsch 等^[41]从枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)中分离出对硝基苄基酯酶 BsEstB,在 30 °C 和 pH 7.0 的反应条件下孵育 8 d,可在具有对苯二甲酸双(苯甲酰氧基乙基)酯(3PET)的琼脂平板上形成明显的透明区域,证明能够水解 PET,由于 BsEstB 对较小的底物有明显的偏好,因此对 PET 的中

间产物 MHET 具有一定的水解能力,可减少中间代谢物 MHET 对 PET 降解的抑制作用。Bollinger 等^[42]从海洋细菌假单胞菌(*Pseudomonas aestusnigri*) VGXO14^T 中鉴定出 1 种新型的羧酸酯水解酶 PE-H,30 °C 反应 48 h,可产生 (4.2±1.6) mg/L MHET,证明聚酯酶可优先降解 PET 的无定型区域。

相较于脂肪酶和酯酶而言,角质酶对以聚合形式存在的底物具有较高的活性,而 PET 是由 TPA 和 EG 通过脱水缩合反应产生的聚合物,正好适合作为角质酶的底物,因此,整体上角质酶对 PET 的降解活性较高。例如,Wei 等^[43]从枯草芽孢杆菌(*Thermobifida fusca*) KW3 中分离出的耐热重组角质酶 TfCut2,在 70 °C 和 pH 8.0 的反应条件下孵育 96 h,使 PET 包装材料重量下降超过 50%,对于无定型 PET 薄膜可在 5 d 内几乎完全降解。Ronkvist 等^[44]对 3 种角质酶特异腐质霉(*Humicola insolens*) HiC、门多萨假单胞菌(*Pseudomonas mendocina*) PmC 和腐皮镰刀菌(*Fusarium solani*) FsC 对低结晶度(low crystallinity, lc) PET (7%±0.5%) 和双轴取向(biaxial orientation, bo) PET (35%±0.5%) 的降解效率进行研究,结果显示,HiC 对 lc-PET 的催化活性最为活跃,在 70 °C 和 pH 8.5 的条件下反应 96 h,lc-PET 几乎完全被降解(97%±3.0%),FsC 和 PmC 在 50 °C 和 pH 6.5-9.5 的条件下反应 96 h 达到最大活性,使得 lc-PET 的重量减少 5%±1.0%,在相同的反应条件下,HiC 对 lc-PET 的孵育温度从 55 °C 提高到 70 °C,HiC 的水解速率比 PmC 和 FsC 的水解速率增加了 7 倍,因此,当接近 PET 玻璃转化温度(70 °C)时,HiC 能够保持较高的活性,可以更有效地水解 PET。在适当的条件下,HiC、FsC 和 PmC 都具有将 lc-PET 完全转化为可溶性小分子 TPA 和 EG 的能力。

目前已报道的 PET 降解酶大多数在 40-70 °C

下降解,当反应温度达到 PET 玻璃转化温度(70 °C 左右),PET 降解酶具有显著的 PET 降解活性^[52],但在中低温条件下具有较高降解活性且能够降解高结晶度 PET 的生物酶鲜有报道^[53]。直到 2016 年, Yoshida 等^[29]发现从菌种 *Ideonella sakaiensis* 201-F6 中分泌的 PETase,在 30 °C 和 pH 7.0 的条件下反应 18 h,可将 PET 几乎全部转化为 MHET,同时还鉴定出了第 2 种酶 MHETase,该酶能进一步将 MHET 水解成单体 TPA 和 EG^[54],由于 PETase 对 MHET 的影响较小,所以 MHETase 被认为是能完全有效降解 PET 的关键酶, PETase 在 30 °C 条件下对 PET 薄膜的降解活性远高于其他降解酶,且对高结晶度 PET 表现出比其他酶更好的性能。此外,由 PETase 和 MHETase 构成的双酶体系对 PET 塑料的降解能力分别是 TfH、FsC 和 LCC 的 120、88、5.5 倍^[55]。可见,双酶体系的构建为 PET 的生物降解提供了新的思路。Sagong 等^[56]从嗜根杆菌(*Rhizobacter gummiphilus*)中分离出了 1 种

新型 PET 水解酶 RgPETase,该酶具有类似 IsPETase 的水解活性,对低结晶度 PET 具有明显的降解活性,且对高结晶度的 PET 也具有一定的水解活性,这是第 1 个在室温环境下具有与 IsPETase 类似 PET 降解活性的水解酶,它区别于其他 PET 水解酶,在低温条件下对高结晶度 PET 具有较高的降解活性。

综上所述,目前已报道的 PET 降解酶活性普遍较低,稳定性差,需要在较高的温度下才能发挥降解作用,难以在实际应用中广泛使用,且几乎无法降解高结晶度的 PET 材料。尽管已有研究通过构建双酶体系来提高 PET 降解效率,但是关于这方面的研究还处于初步阶段,相关的研究报道较少。此外,已报道的 PET 降解酶主要来自于可培养微生物,然而自然界中有 99% 以上的微生物是不可培养的,这就意味着环境中还有巨大的遗传资源尚未被开发利用^[57]。目前,宏基因组技术在挖掘具有 PET 降解活性的新型酶方面已有报道。例如, Sulaiman 等^[45]利用宏

表 2 PET 降解酶

Table 2 PET degradation enzymes

Enzymes	Source	Substrate	Temperature (°C)	Time (d)	Weight loss (%)	References
PETase	<i>Ideonella sakaiensis</i> 201-F6	PET films	30	42	≥99.0	[29]
BsEstB	<i>Bacillus subtilis</i>	PET fibers/fabrics	30	8	/	[41]
PE-H	<i>Pseudomonas aestusnigri</i> VGXO14 ^T	PET films	30	2	/	[42]
TfCut2	<i>Thermobifida fusca</i> KW3	Low crystalline PET films	70	4	≥50.0	[43]
FsC	<i>Fusarium solani</i>	Low crystalline PET films	40	4	5.0±1.0	[44]
HiC	<i>Humicola insolens</i>	7% crystalline PET films	70	4	97.0±3.0	[44]
LCC	Fosmid library of a leaf-branch	PET films	50	1	93.0±1.0	[45]
PES-H1	Compost metagenomes	Low crystalline PET films	70	1	≥99.0	[46]
PHL7	Plant compost metagenomes	5%–7% crystalline PET films	70	0.75	≥99.0	[47]
Variantsof TfCut2	<i>Thermobifida fusca</i> KW3	Low crystalline PET films	70	2	25.0±0.8	[48]
CALB	<i>Candida antarctica</i>	PET bottles	60	14	96.0	[49]
TfH	<i>Thermobifida fusca</i> DSM43793	Low crystalline PET films	55	21	54.2	[50]
Cut190	<i>Saccharomonospora viridis</i> AHK190	PET films	63	3	27.0±1.0	[51]

基因组方法从叶枝堆肥宏基因组 fosmid 文库中克隆出 1 种新型角质酶同源物 LCC, 该酶在 50 °C 和 pH 8.0 的条件下孵育 24 h 后 PET 的降解率为 93.0%±1.0%, 其降解活性高于迄今为止已报道的角质酶。Wolfgang 等^[46]从堆肥宏基因组文库中筛选出 2 种相似的嗜热 PET 水解酶 (PES-H1 和 PES-H2), 其中 PES-H1 在 70 °C 下孵育 24 h 后, 低结晶度 PET 薄膜几乎完全解聚, 在无定型 PET 薄膜上表现出强大的降解活性。Sonnendecker 等^[47]从植物堆肥宏基因组中分离出 1 种新型聚酯水解酶 (PHL7), 可将结晶度为 5%–7% 的 PET 薄膜在 18 h 内完全降解, PHL7 对于低结晶度 PET 的降解优于其他先前报道的聚酯水解酶。可见, 利用宏基因组技术筛选出的酶对 PET 显示出高效的降解活性, 可将低结晶度或无定型 PET 材料在短时间内几乎完全解聚。此外, 宏基因组技术在挖掘其他新型酶方面也得到了广泛应用。例如, Qiu 等^[58]利用宏基因组技术从土壤文库中筛选到 2 种新型的塑化剂水解酶 XtjR8 和 EstJ6。赵陈阁等^[59]从土壤宏基因组文库中筛选到 1 种具有工业应用潜能的纤维素酶。孙玮^[60]利用宏基因组技术从土壤文库中获得了 1 种能够降解多氯联苯 (polychlorinated biphenyls, PCBs) 的新型酶 bphCA。因此, 未来可利用宏基因组技术在开发不可培养微生物遗传资源方面的优势挖掘更多的新型 PET 降解酶。

2 PET 的生物降解途径

由于 PET 属于大分子聚合物无法直接进入微生物体内, 所以当微生物降解 PET 时, 首先由微生物分泌的胞外降解酶将 PET 降解成水溶性小分子, 然后再被吸收到微生物体内进一步消化和水解^[61-62]。PET 的生物降解途径如图 1 所示, PET 在微生物分泌的胞外酶 PETase 的作用下水解为对苯二甲酸双羟乙酯 (BHET)、对苯二甲酸

单羟乙酯 (MHET)、对苯二甲酸 (TPA) 和乙二醇 (EG), 由于中间产物 MHET 和 BHET 的生成会抑制 PET 的降解, 因此需要在 PETase 的作用下将 BHET 降解为 MHET, 而 MHET 在 MHETase 的作用下进一步水解成单体 TPA 和 EG, 其中 TPA 通过 TPA 转运蛋白 (TphAabc) 进入细胞, 在 TPA 双加氧酶的催化下转化为 1,6-二羟基环己二烯-2,4-二羧酸酯 (1,6-dihydroxycyclohexadiene-2,4-dienedicarboxylate, DCD), 接着被 1,2-二羟基-3,5-环己二烯-1,4-二羧酸脱氢酶 (TphB) 进一步氧化为原儿茶酸 (protocatechuic acid, PCA) 和 CO₂, PCA 再通过 PCA 脱羧酶 (AroY) 产生儿茶酚, 在儿茶酚 1,2-双加氧酶 (CatA) 的作用下转化为粘康酸 (muconic acid, MA), MA 可通过粘康酸环异构酶 (CatBC) 转化为 β-酮己二酸烯醇内酯, 由 β-酮己二酸烯醇内酯水解酶 (ELH) 进一步转化为 β-酮己二酸, 最终通过 β-酮己二酸琥珀酰辅酶 A 转移酶 (TR)、β-酮己二酰辅酶 A 硫解酶 (TH) 将其转化为乙酰辅酶 A 进入 TCA 循环, 通过矿化作用转化为 CO₂、H₂O 等小分子物质^[63]; 乙二醇 (EG) 是 PET 降解过程中除 TPA 之外的第 2 个成分, 其微生物的代谢同样重要, EG 的代谢途径主要分为乙醛/乙醇途径和乙醛酸途径, EG 在丙二醇脱水酶 (PduCDE) 的催化下脱水为乙醛, 然后在 CoA 依赖性丙醛脱氢酶 (PduP) 的催化下进一步转化为乙醇和乙酸^[64], EG 首先被 PedH/PedE、Pdel/PP_0545 脱氢酶氧化成乙醇酸 (GLA), 乙醇酸氧化酶 (GlcDEF) 会将生成的乙醇酸转化为乙醛酸, 乙醛酸通过乙醛酸碳化酶 (Gcl) 生成酒石酸半醛, 羟基丙酮酸异构酶 (Hix) 使酒石酸半醛生成羟基丙酮酸, 再通过酒石酸半醛还原酶 (GlxR) 转化为甘油酸, 进一步将其转化为乙酰辅酶 A, 最终进入三羧酸循环 (tricarboxylic acid cycle, TCA), 经矿化作用生成 CO₂、H₂O 等其他小分子物质释放到环境中^[65-66]。

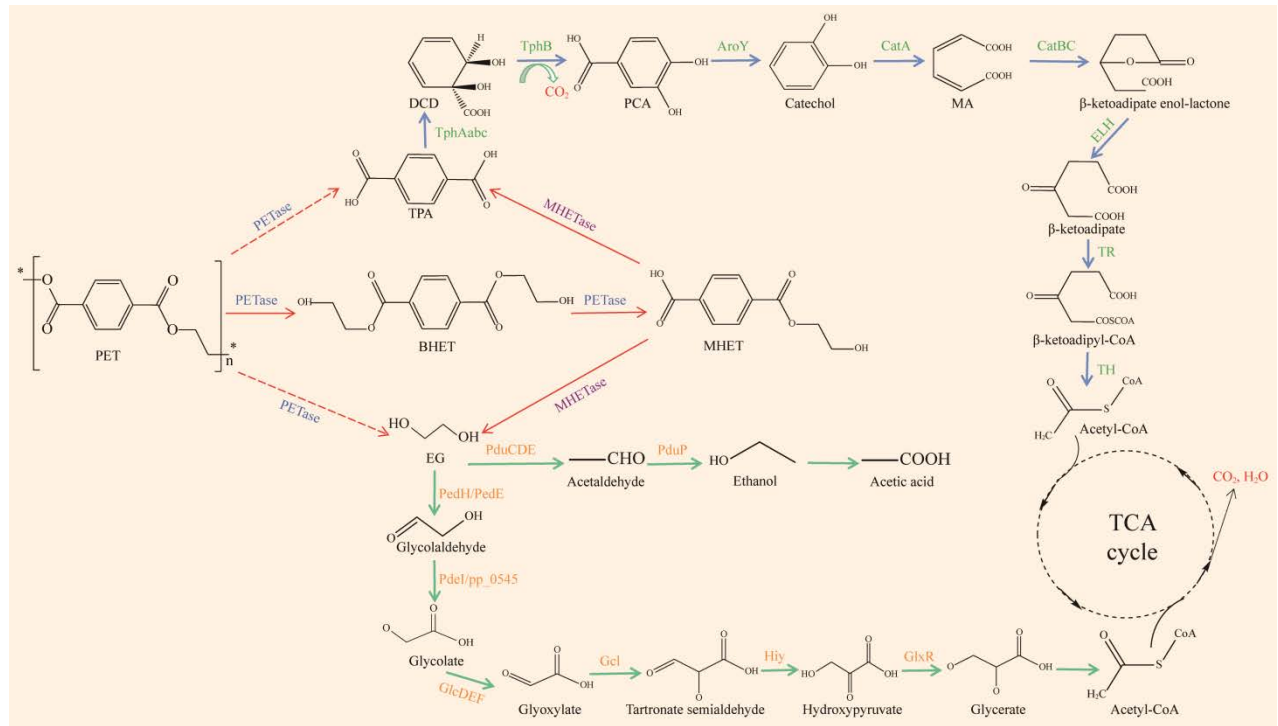


图 1 PET 的生物降解途径^[63-66] 红色箭头表示 PETase、MHETase 对 PET 的降解过程，蓝色箭头表示 TPA 的代谢途径，绿色箭头表示 EG 的代谢途径，黑色箭头表示代谢产物进入三羧酸循环生成 CO_2 、 H_2O 等其他小分子物质

Figure 1 Biodegradation pathway of PET^[63-66]. The red arrows represent the degradation process of PET by PETase and MHETase, the blue arrows indicate the metabolic pathway of TPA, the green arrows indicate the metabolic pathway of EG, and the black arrows indicate the metabolites entering the TCA cycle to generate other small molecules such as CO_2 and H_2O .

3 PET 降解酶的作用机制

据报道，PET 降解酶对 PET 表面的初始吸附可能与催化中心附近的疏水区域有关^[67]。研究表明，聚合物链的流动性和酶活性位点的可及性是使 PET 具有生物降解性的主要因素^[68]，由于 PET 表面的酯键水解产生羟基和羧基，内部未发生降解反应，因此，PET 降解酶将聚合物表面的聚合链末端或环状结构作为靶点进行酶解，以提高聚合物的亲水性，从而提高后续酶解的效率^[69]，目前对于 PET 降解酶降解 PET 的机制尚不清楚，本文用 PETase 对 PET 的结合

模式和降解机制来阐述 PET 降解酶发挥催化作用的分子机制。

以 PETase (PDB: 5xh3) 的三级结构为例，如图 2 所示，PETase 拥有传统的 α/β -水解酶折叠，以及由 S131-H208-D177 组成的催化三联体^[70-71]。与其他同源酶的活性位点相比，PETase 不仅具有更宽的底物结合口袋，而且形成 2 个分子内二硫键桥(DS1 和 DS2)，其中 DS1 是 C174 和 C210 之间 1 个独特的二硫键，在 PETase 中起关键作用，不仅缩短了 2 个活性残基 D177 和 H208 之间的距离，而且分别连接含有催化酸(D177)和催化碱(H208)的 $\beta 7-\alpha 5$ 和 $\beta 8-\alpha 6$ 环，与

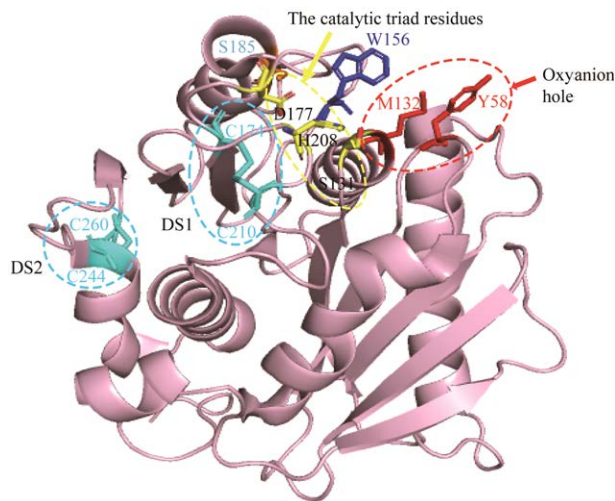


图2 PETase (PDB: 5xh3)的三级结构^[70-71]
Figure 2 Tertiary structural features of PETase (PDB: 5xh3)^[70-71].

其他同源酶相比, PETase 可能携带 1 个更长的 $\beta 8-\alpha 6$ 环, 从而产生更大的空间用来结合 PET。这种连接 $\beta 6$ 和 $\alpha 6$ 的二硫键在先前报道的同源物中尚未观察到, 而 DS1 需要保持扩展环和催化三联体残基的功能位置, 基于活性位点周围的二硫键在蛋白质的稳定性、折叠和功能中起着关键作用, 由此合理地推断在 PETase 中的 C174 和 C210 键有助于其特定的酶活性和功能^[72-73]。

在 PETase 和其他同源酶中, 构成底物结合口袋的残基 W156 都是严格保守的, 保守的 W156 残基显示出摇摆的构象, 被称为“W156”摆动, W156 残基有 A、B 和 C 这 3 种不同的构

象, 在靠近催化中心的 W156 表现出“C”构象^[71]。如图 3 所示, 当 PET 与 apo 型 PETase 结合时, apo 型载体蛋白酶为底物结合到蛋白质表面提供 1 个浅缝隙, 此时底物结合口袋是空的, W156 呈现不同的构象; 由于“C”构象会降低 PET 的降解活性, 不利于底物结合, 因此 W156 必须处于“B”构象与配体结合, 当 PET 进入与底物结合的裂缝时, 附着在第 1 个苯环上的碳基指向底物结合裂缝的中心, 准备被水解, 由氨基酸残基 Y58 和 M132 的氮原子与 PET 底物的羟基氧原子构成的氧阴离子空穴, 使酯键极化, 并稳定反应中间体; 随后形成的酰基酶中间体和水分进行第 2 次攻击, 酯键被裂解后, 水解产物的苯甲酸基团形成的平面更加宽阔, 由 W156 侧链诱导其旋转, 形成面对面堆叠, 最后产物被旋转并释放出来, 因此, PETase 的催化三联体更容易被溶剂接触, 并能与聚合的 PET 相互作用, 证明了催化三联体(S131-H208-D177)在催化中不可或缺的地位^[71,74-77]。总之, 这些独有的特征不仅阐明了 PETase 家族的分类和定义, 而且合理地说明了它们在 PET 底物上的高活性机制。

4 PET 降解酶的分子改造

针对 PET 降解酶降解活性低、稳定性差以及几乎不能降解高结晶度 PET 材料的研究现状,

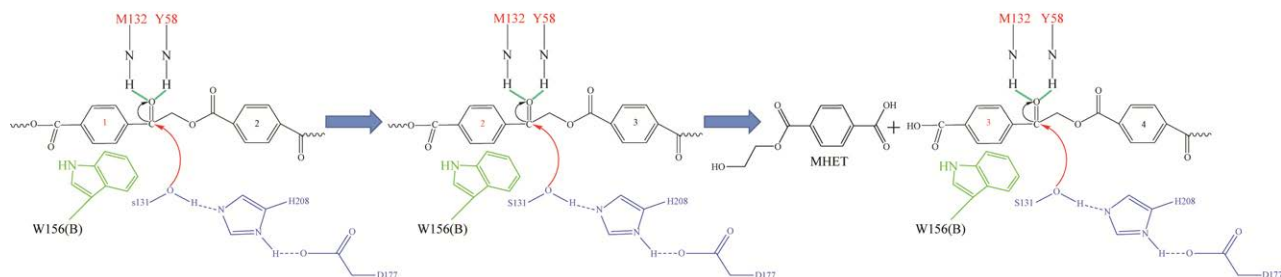


图3 PET 降解酶的催化机理^[72-74]
Figure 3 Catalytic mechanism of PET-degrading enzymes^[72-74].

研究人员通过对 PET 降解酶进行分子改造以扩大底物结合口袋、改善 PET 表面亲水性、减少中间代谢产物的抑制作用和对 PET 材料的性质进行改变等,以提高 PET 降解酶对 PET 塑料的降解效率或增强其热稳定性^[78-79]。

4.1 扩大底物结合口袋及增加疏水性

浅而宽的口袋对于 PET 的降解至关重要,扩大底物结合口袋,可以提高 PET 降解酶的特异性,使得酶和底物能有效地吸附^[77], Silva 等^[80]对嗜热子囊菌(*Thermobifida fusa*) WSH03-11 的角质酶 Tfu_0883 进行定点诱变,获得了对聚酯纤维活性增强的角质酶 I218A 和 Q132A/T101A,它们在活性位点上创造了更大的空间和更疏水的底物结合位点,使得其突变体的水解活性增加,与野生型相比,Q132A/T101A 孵育 4 h 后,TPA 的产生量增加了 10 倍。因此,取代活性位点上特定的氨基酸可以提高 Tfu_0883 水解 PET 的能力,这是由于双氨基酸的取代获得了更高的疏水特性,从而导致了突变体 Q132A/T101A 催化的高水平降解,增强了其对 PET 的水解活性。

由于 PET 分子链中亲水基团缺乏,表面亲水性差,所以亲水性的 PET 降解酶无法有效地吸附到 PET 表面,当 PET 降解酶靠近 PET 表面时,其疏水作用会导致降解酶的活性下降甚至丧失。经研究人员发现,疏水蛋白可以使 PET 降解酶吸附到 PET 表面,通过构建疏水蛋白与 PET 降解酶的融合表达载体,可以提高降解酶对 PET 的降解能力^[81]。Ribitsch 等^[82]将 The_Cut1 与疏水蛋白 HFB7 和 HFB4 分别进行融合,得到的融合蛋白对 PET 的水解活性提高了近 15 倍,PET 结合域的融合可促进酶对 PET 底物的吸收,增强酶促降解。

4.2 减少中间产物的抑制作用

PET 降解酶在降解 PET 的过程中释放出 MHET、BHET、TPA 和 EG 等物质,其释放出

的中间产物 BHET 和 MHET 大量积累会抑制降解酶的生长,阻碍 PET 的进一步降解。因此,各种水解酶的协同作用和减少酶与产物相互作用的蛋白质工程策略能有效减少中间产物的抑制作用,提高降解 PET 的效率^[83]。例如,Markus 等^[84]发现当中间产物 MHET 或 BHET 的浓度介于 0.5–2.0 mmol/L 时,TfCut2 对 PET 的水解活性具有竞争性抑制,因此在超滤膜反应器中进行 PET 的水解反应时可通过连续去除 MHET 来提高 PET 的水解效率。随后 Markus 等^[85]利用 TfCut2 进行 PET 水解反应,可持续从超滤膜反应器中去除 MHET,在 24 h 内 MHET 的生成量增加了 4 倍,可将 PET 的水解效率提高 70%。

LCC 和 TfCut2 分别与固定化羧酸酯酶 TfCa 组成的双酶体系具有去除中间代谢产物的能力,减少对 PET 的竞争性抑制,从而可以显著提高无定型 PET 薄膜的水解活性,它们在 60 °C 反应 24 h 后分别引起 47.9%和 20.4%的 PET 薄膜重量损失^[86]。Carniel 等^[87]对不同来源的 10 种脂肪酶进行了筛选,发现南极念珠菌(*Candida antarctica*)的脂肪酶 CALB 和特异腐质霉(*Humicola insolens*)的角质酶 HiC 组成的双酶体系可水解中间产物 MHET,使得双酶体系对 PET 的降解率增加了 7.7 倍。

4.3 增强酶的热稳定性

由于 PET 是由极性基团和芳香环组成的,使得 PET 极难降解,因此需要增强酶对 PET 的热稳定性以提高 PET 的降解效率^[88]。Shirke 等^[89]通过糖基化稳定 LCC,非糖基化 LCC-NG 在 70 °C 和 pH 8.0 的条件下孵育 24 h, PET 薄膜的降解率达到 25%,而糖基化 LCC-G 在相同条件下孵育 48 h 后, PET 薄膜的降解率高达 95%,这是迄今为止报道的具有最高热稳定性的角质酶。Tournier 等^[90]通过酶工程提高 LCC 的活性和热稳定性,采用二硫键取代二价金属结合位点并生

成 D238C/S283C 突变体,使得 LCC 的热稳定性不依赖于 Ca^{2+} , 在 10 h 内 PET 的降解率可达到 90%。Kawai 等^[91]发现角质酶 Cut190 的突变体 S226P/R228S (简称 Cut190*)在 Ca^{2+} 存在的条件下,其活性和热稳定性均有明显提高。

4.4 改进全细胞生物催化剂

Li 等^[92]以耐碱菌为全细胞催化剂,通过提高聚合物的生物表面活性来改善 PET 塑料的生物降解,PET 在表面活性剂的存在下降解 5 d 后,PET 的失重率达到 11.04%,PET 纤维表面观察到明显的侵蚀和断裂,证实表面活性剂可以用来增强 PET 和降解酶相互作用的界面活化,为高效降解 PET 塑料提供了一种有前途的方法。

Chen 等^[93]通过毕赤酵母细胞(*Pichia pastoris*)表面显示 PETase,开发了一种全新的生物催化剂,不仅可以在酵母细胞上显示出热稳定性的增加,而且优化反应条件后,全细胞生物催化剂对高结晶度 PET 的酶活性比 PETase 提高了约 36 倍,且此催化剂重复使用多次也不会显著的失去活性,该研究也为高结晶度 PET 材料的降解提供了参考,且表面活性剂与低结晶度 PET 薄膜结合,PETase 的水解活性可以提高 120 倍^[94]。由于 PETase 在低温条件下降解 PET,与 PET 的玻璃转化温度(70 °C)相悖,使得 PETase 的热稳定性很差,而全细胞生物催化剂可以分泌和表达 PETase,它的开发为促进 PET 生物降解提供了新的思路和方案^[95]。

4.5 对 PET 材料进行预处理

由于 PET 具有疏水性,因此亲水性的 PET 降解酶无法渗透到 PET 内部,只能先附着在 PET 表面再进一步降解。Pellis 等^[96]利用角质酶 Thc_cut1 分别对 PET 粉末和 PET 薄膜进行降解,结果显示在相同的反应条件下 Thc_cut1 对 PET 粉末具有更高的降解活性。Gamerith 等^[97]将 PET 瓶打磨成直径为 0.25–0.50 mm 的 PET 颗粒,

在很大程度上也提高了 Thc_cut1 角质酶对 PET 颗粒的降解活性。由于片状 PET 表面附着的微生物表面积小,使得片状 PET 的降解效率更低,与片状 PET 相比,小颗粒或粉末状 PET 显示出更高效的 PET 降解活性。可见,通过对 PET 材料进行预处理,增加降解酶与 PET 表面的接触面积,有利于提高降解酶对 PET 的降解活性,为高效降解 PET 塑料提供了新的角度。

综上,通过以上方法对 PET 降解酶进行分子改造在不同程度上提高了酶的活性或稳定性,但是关于提高 PET 降解酶对高结晶度 PET 材料降解方面的分子改造的相关研究还是十分有限,后续有待进一步研究。近年来,随着蛋白晶体数据库的逐渐丰富和生物信息学的发展,基于计算机模拟进行分子改造可为酶的性状改造开辟全新的途径。因此,后期可基于计算机辅助技术对 PET 降解酶和 PET 底物进行分子对接以及分子动力学模拟,以分析影响高结晶度 PET 材料降解的关键因素并对其进行突变,有望获得对高结晶度 PET 材料具有高效降解活性的 PET 降解酶突变体。

5 总结与展望

综上所述,先前的报道中研究人员一直通过常规培养方法筛选新的菌株和降解酶,但这种方法限制了新型 PET 降解酶的筛选速度,因此可通过高通量筛选技术、荧光筛选、宏基因组数据库和人工智能等技术手段,拓宽 PET 降解微生物和酶的筛选范围,为 PET 生物降解技术的进步提供了强大动力^[98]。迄今为止,已报道的能降解 PET 的微生物和酶的数量有限、稳定性差且活性较低,主要作用于低结晶度和无定型的 PET 材料,只有极少数的降解酶可以降解高结晶度 PET 材料,虽然已有不少通过对酶进行分子改造以提高 PET 降解活性或热稳定性

的相关报道,但对于通过分子改造实现对高结晶度 PET 材料降解的报道屈指可数,这与 PET 降解酶对其催化作用机制尚不清楚密切相关。因此,未来的研究应着眼于挖掘环境中对高结晶度和瓶级 PET 材料具有特定催化性能的新型微生物或酶,以及详细解析 PET 降解酶的催化作用机制以实现高结晶度 PET 材料的降解^[99]。

针对目前存在的问题,未来可以从以下几个方面进行研究:(1) 筛选出更多能将 PET 作为唯一生长碳源的微生物降解菌种,进一步分离出能够高效降解 PET 的生物酶,丰富 PET 降解菌株的资源库;(2) 目前已报道的具有 PET 降解活性的酶有限且几乎来源于可培养微生物,而环境有 99%以上的微生物是不可培养的,这就意味着环境还有巨大的遗传资源还未被开发利用。利用宏基因组学、蛋白质组学和高通量测序等技术在开发不可培养微生物遗传资源方面的优势,挖掘环境中新型的 PET 降解酶,有望获得具有高结晶度 PET 降解活性的酶;(3) 寻找适合 PET 降解酶异源表达的宿主。例如,酵母具有强大的分泌表达系统和可拓展的发酵能力,可作为 PET 降解酶异源表达的良好宿主。因此,可利用毕赤酵母强大的分泌表达系统进行 PET 降解酶的异源表达从而提高酶表达量;(4) PET 的中间代谢产物 BHET、MHET、TPA 和 EG 对 PET 的降解具有抑制作用,因此,构建微生物菌群和多酶催化体系可减少中间产物对 PET 的抑制作用,以此提高其降解活性;(5) 加大对微生物或酶降解 PET 机理的研究,详细解析 PET 降解酶的催化作用机制,为 PET 降解酶的定向改造奠定基础,以实现高结晶度 PET 材料的高效降解;(6) 基于计算机模拟辅助设计和突变以 PET 为底物的酶,通过合成生物学和蛋白质工程表征和修饰 PET 降解酶,以提高酶对高结晶度 PET 材料的降解活性。

目前 PET 的绿色生物降解技术仍然面临着诸多挑战,随着塑料的需求量越来越大,塑料废弃物大量积累,已经渗透到人类生活的方方面面,但就目前研究水平来看, PET 的生物降解仍然处于实验室研究阶段,虽已有相应的实际应用,但还尚未实现真正的工业化。因此,如何高效降解 PET 塑料,解决全球环境问题仍然具有重大意义。

REFERENCES

- [1] CARR CM, CLARKE DJ, DOBSON ADW. Microbial polyethylene terephthalate hydrolases: current and future perspectives[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 571265.
- [2] NGUYEN HTH, QI PX, ROSTAGNO M, FETEHA A, MILLER SA. The quest for high glass transition temperature bioplastics[J]. *Journal of Materials Chemistry A*, 2018, 6(20): 9298-9331.
- [3] BEN ZAIR MM, JAKARNI FM, MUNIANDY R, HASSIM S. A brief review: application of recycled polyethylene terephthalate in asphalt pavement reinforcement[J]. *Sustainability*, 2021, 13(3): 1303.
- [4] GONG JX, KONG TT, LI YQ, LI QJ, LI Z, ZHANG JF. Biodegradation of microplastic derived from poly(ethylene terephthalate) with bacterial whole-cell biocatalysts[J]. *Polymers*, 2018, 10(12): 1326.
- [5] HIRAGA K, TANIGUCHI I, YOSHIDA S, KIMURA Y, ODA K. Biodegradation of waste pet: a sustainable solution for dealing with plastic pollution[J]. *EMBO Reports*, 2019, 20(11): e49365.
- [6] ESPADA A, FARINHA I, DUARTE CAM. Preventing single-use of plastic packaging. design strategies for circular business models: refill, reuse and recycle[M]//Springer Series in Design and Innovation. Cham: Springer International Publishing, 2022: 459-472.
- [7] SHIONG K KHOO, YIING L HO, REN H LIM, YI H LEONG, WAYNE K CHEW. Plastic waste associated with the COVID-19 pandemic: crisis or opportunity?[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 417: 126108.
- [8] SENGA D GREEN. Effects of microplastics on European flat oysters, *Ostrea edulis* and their associated benthic communities[J]. *Environmental Pollution*, 2016, 216: 95-103.

- [9] PANTI C, BAINI M, LUSHER A, HERNANDEZ-MILAN G, BRAVO REBOLLEDO EL, UNGER B, SYBERG K, SIMMONDS MP, FOSSI MC. Marine litter: one of the major threats for marine mammals. Outcomes from the European cetacean society workshop[J]. *Environmental Pollution (Barking, Essex: 1987)*, 2019, 247: 72-79.
- [10] LYKOV AP, POVESHCHENKO OV, SUROVTSEVA MA, BONDARENKO NA, KIM II, KARPENKO AA, POKUSHALOV EA, KARASKOV AM. Effect of polyethylene terephthalate on functional properties of endothelial and mesenchymal cells[J]. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2019, 166(4): 580-585.
- [11] DHAKA V, SINGH S, ANIL AG, SUNIL KUMAR NAIK TS, GARG S, SAMUEL J, KUMAR M, RAMAMURTHY PC, SINGH J. Occurrence, toxicity and remediation of polyethylene terephthalate plastics. A review[J]. *Environmental Chemistry Letters*, 2022, 20(3): 1777-1800.
- [12] 刘彤瑶, 辛艺, 刘杏忠, 吴冰, 向梅春. 微生物降解塑料的研究进展[J]. *生物工程学报*, 2021, 37(8): 2688-2702.
- LIU TY, XIN Y, LIU XZ, WU B, XIANG MC. Advances in microbial degradation of plastics[J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2021, 37(8): 2688-2702 (in Chinese).
- [13] TIAN SANG, CHRISTOPHER J WALLIS, GAVIN HILL, GEORGE JP BRITOVSEK. Polyethylene terephthalate degradation under natural and accelerated weathering conditions[J]. *European Polymer Journal*, 2020, 136: 109873.
- [14] BILLIET S, TRENOR SR. 100th anniversary of macromolecular science viewpoint: needs for plastics packaging circularity[J]. *ACS Macro Letters*, 2020, 9(9): 1376-1390.
- [15] 彭瑞婷, 夏孟丽, 茹家康, 霍毅欣, 杨宇. 聚氨酯塑料的微生物降解[J]. *生物工程学报*, 2018, 34(9): 1398-1409.
- PENG RT, XIA ML, RU JK, HUO YX, YANG Y. Microbial degradation of polyurethane plastics[J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2018, 34(9): 1398-1409 (in Chinese).
- [16] CIOBANU CȘ, COPAE R, BULGARIU D, BULGARIU L. Comparative study of Pb(II) ions adsorption on PET fibers and flakes: isotherm, kinetic and mechanism considerations[J]. *Desalination and Water Treatment*, 2021, 222: 375-385.
- [17] GLASER JA. *Biological Degradation of Polymers in the Environment*[M]. London, UK: IntechOpen, 2019.
- [18] 骆苑蓉, 钱义谦, 齐雅楠. 聚乙烯微塑料的微生物降解研究进展[J]. *环境科学*, 2022, 43(11): 4869-4875.
- LUO YR, QIAN YQ, QI YN. Biodegradation of polyethylene microplastic: a review[J]. *Environmental Science*, 2022, 43(11): 4869-4875 (in Chinese).
- [19] YI W CHIA, TANG Y DORIS, SHIONG K KHOO, NG KAY A LUP, WAYNE K CHEW. Nature's fight against plastic pollution: algae for plastic biodegradation and bioplastics production[J]. *Environmental Science and Ecotechnology*, 2020, 4: 100065.
- [20] 刘欣悦, 崔颖璐. PET 塑料废弃物及微塑料生物降解与转化的研究现状与展望[J]. *生物加工过程*, 2022, 20(2): 226-234.
- LIU XY, CUI YL. Biodegradation and conversion of polyethylene terephthalate (PET) wastes and microplastics: a review[J]. *Chinese Journal of Bioprocess Engineering*, 2022, 20(2): 226-234 (in Chinese).
- [21] QI XH, MA Y, CHANG HC, LI BZ, DING MZ, YUAN YJ. Evaluation of PET degradation using artificial microbial consortia[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12: 778828.
- [22] 陈玉芳, 闫振华, 张燕, 赵海洲. 城市水体微塑料垂直分布下附着细菌群落结构和功能响应[J]. *环境科学*, 2022, 43(6): 3088-3096.
- CHEN YF, YAN ZH, ZHANG Y, ZHAO HZ. Community structure and microbial function responses of biofilms colonizing on microplastics with vertical distribution in urban water[J]. *Environmental Science*, 2022, 43(6): 3088-3096 (in Chinese).
- [23] TANIGUCHI I, YOSHIDA S, HIRAGA K, MIYAMOTO K, KIMURA Y, ODA K. Biodegradation of PET: current status and application aspects[J]. *ACS Catalysis*, 2019, 9(5): 4089-4105.
- [24] AHMED T, SHAHID M, AZEEM F, RASUL I, ALI SHAH A, NOMAN M, HAMEED A, MANZOOR N, MANZOOR I, MUHAMMAD S. Biodegradation of plastics: current scenario and future prospects for environmental safety[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2018, 25(8): 7287-7298.
- [25] LI XY, LIU ZM, XUE RZ, DAI YH, YUE TT, ZHAO J. Biodegradation of typical plastics and its mechanisms[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2021, 66(20): 2573-2589.
- [26] DHAKA V, SINGH S, RAMAMURTHY PC, SAMUEL

- J, SWAMY SUNIL KUMAR NAIK T, KHASNABIS S, PRASAD R, SINGH J. Biological degradation of polyethylene terephthalate by rhizobacteria[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2022: 1-10.
- [27] 顾冷涛, 颜正飞, 吴敬, 宿玲恰. 一株 PET 降解菌株的筛选鉴定及降解特性[J]. 基因组学与应用生物学, 2021, 40(3): 1179-1186.
- GU LT, YAN ZF, WU J, SU LQ. Screening, identification and degradation characteristics of a pet degrading strain[J]. Genomics and Applied Biology, 2021, 40(3): 1179-1186 (in Chinese).
- [28] AUTA HS, EMENIKE CU, FAUZIAH SH. Screening of *Bacillus* strains isolated from mangrove ecosystems in Peninsular Malaysia for microplastic degradation[J]. Environmental Pollution, 2017, 231: 1552-1559.
- [29] YOSHIDA S, HIRAGA K, TAKEHANA T, TANIGUCHI I, YAMAJI H, MAEDA Y, TOYOHARA K, MIYAMOTO K, KIMURA Y, ODA K. A bacterium that degrades and assimilates poly(ethylene terephthalate)[J]. Science, 2016, 351(6278): 1196-1199.
- [30] MOYSES DN, TEIXEIRA DA, WALDOW VA, FREIRE DMG, CASTRO AM. Fungal and enzymatic bio-depolymerization of waste post-consumer poly(ethylene terephthalate) (PET) bottles using *Penicillium* species[J]. 3 Biotech, 2021, 11(10): 1-12.
- [31] SARKHEL R, SENGUPTA S, DAS P, BHOWAL A. Comparative biodegradation study of polymer from plastic bottle waste using novel isolated bacteria and fungi from marine source[J]. Journal of Polymer Research, 2019, 27(1): 1-8.
- [32] CARMEN SÁNCHEZ. Fungal potential for the degradation of petroleum-based polymers: an overview of macro- and microplastics biodegradation[J]. Biotechnology Advances, 2020, 40: 107501.
- [33] QIAN XJ, CHEN L, SUI Y, CHEN C, ZHANG WM, ZHOU J, DONG WL, JIANG M, XIN FX, OCHSENREITHER K. Biotechnological potential and applications of microbial consortia[J]. Biotechnology Advances, 2020, 40: 107500.
- [34] YUAN JH, MA J, SUN YR, ZHOU T, ZHAO YC, YU F. Microbial degradation and other environmental aspects of microplastics/plastics[J]. Science of the Total Environment, 2020, 715: 136968.
- [35] GAO RR, SUN CM. A marine bacterial community capable of degrading poly(ethylene terephthalate) and polyethylene[J]. Journal of Hazardous Materials, 2021, 416: 125928.
- [36] BALLERSTEDT H, TISO T, WIERCKX N, WEI R, AVEROUS L, BORNSCHEUER U, O'CONNOR K, FLOEHR T, JUPKE A, KLANKERMAYER J, LIU L, de LORENZO V, NARANCIC T, NOGALES J, PERRIN R, POLLET E, PRIETO A, CASEY W, HAARMANN T, SARBU A, et al. MIXed plastics biodegradation and UPcycling using microbial communities: EU Horizon 2020 project MIX-UP started January 2020[J]. Environmental Sciences Europe, 2021, 33(1): 99.
- [37] KNOTT BC, ERICKSON E, ALLEN MD, GADO JE, GRAHAM R, KEARNS FL, PARDO I, TOPUZLU E, ANDERSON JJ, AUSTIN HP, DOMINICK G, JOHNSON CW, RORRER NA, SZOSTKIEWICZ CJ, COPIÉ V, PAYNE CM, LEE WOODCOCK H, DONOHOE BS, BECKHAM GT, MCGEEHAN JE. Characterization and engineering of a two-enzyme system for plastics depolymerization[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2020, 117(41): 25476-25485.
- [38] 张彤, 刘盼, 王倩, 梁泉峰, 祁庆生. 降解石油基塑料的微生物及微生物菌群[J]. 生物工程学报, 2021, 37(10): 3520-3534.
- ZHANG T, LIU P, WANG Q, LIANG QF, QI QS. Degradation of petroleum-based plastics by microbes and microbial consortia[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2021, 37(10): 3520-3534 (in Chinese).
- [39] ROOHI, BANO K, KUDDUS M, ZAHEER MR, ZIA Q, KHAN MF, ASHRAF GM, GUPTA A, ALIEV G. Microbial enzymatic degradation of biodegradable plastics[J]. Current Pharmaceutical Biotechnology, 2017, 18(5): 429-440.
- [40] CHEN CC, DAI LH, MA LX, GUO RT. Enzymatic degradation of plant biomass and synthetic polymers[J]. Nature Reviews Chemistry, 2020, 4(3): 114-126.
- [41] RIBITSCH D, HEUMANN S, TROTSCHA E, HERRERO ACERO E, GREIMEL K, LEBER R, BIRNER-GRUENBERGER R, DELLER S, EITELJOERG I, REMLER P, WEBER T, SIEGERT P, MAURER KH, DONELLI I, FREDDI G, SCHWAB H, GUEBITZ GM. Hydrolysis of polyethyleneterephthalate by p-nitrobenzylesterase from *Bacillus subtilis*[J]. Biotechnology Progress, 2011, 27(4): 951-960.
- [42] BOLLINGER A, THIES S, KNIEPS-GRÜNHAGEN E, GERTZEN C, KOBUS S, HÖPPNER A, FERRER M,

- GOHLKE H, SMITS SHJ, JAEGER KE. A novel polyester hydrolase from the marine bacterium *Pseudomonas aestusnigri*-structural and functional insights[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 114.
- [43] WEI R, BREITE D, SONG C, GRÄSING D, PLOSS T, HILLE P, SCHWERDTFEGER R, MATYSIK J, SCHULZE A, ZIMMERMANN W. Biocatalytic degradation efficiency of postconsumer polyethylene terephthalate packaging determined by their polymer microstructures[J]. *Advanced Science*, 2019, 6(14): 1900491.
- [44] RONKVIST ÅM, XIE WC, LU WH, GROSS RA. Cutinase-catalyzed hydrolysis of poly(ethylene terephthalate)[J]. *Macromolecules*, 2009, 42(14): 5128-5138.
- [45] SULAIMAN S, YAMATO S, KANAYA E, KIM JJ, KOGA Y, TAKANO K, KANAYA S. Isolation of a novel cutinase homolog with polyethylene terephthalate-degrading activity from leaf-branch compost by using a metagenomic approach[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, 78(5): 1556-1562.
- [46] WOLFGANG Z, REN W, PATRICK H, THORSTEN O, JULIANE S. New polypeptides having a polyester degrading activity and uses thereof: EP3517608[P]. 2019-07-31.
- [47] SONNENDECKER C, OESER J, RICHTER PK, HILLE P, ZHAO ZY, FISCHER C, LIPPOLD H, BLÁZQUEZ-SÁNCHEZ P, ENGELBERGER F, RAMÍREZ-SARMIENTO CA, OESER T, LIHANOVA Y, FRANK R, JAHNKE HG, BILLIG S, ABEL B, STRÄTER N, MATYSIK J, ZIMMERMANN W. Low carbon footprint recycling of post-consumer PET plastic with a metagenomic polyester hydrolase[J]. *ChemSusChem*, 2022, 15(9): e202101062.
- [48] THEN J, WEI R, OESER T, GERDTS A, SCHMIDT J, BARTH M, ZIMMERMANN W. A disulfide bridge in the calcium binding site of a polyester hydrolase increases its thermal stability and activity against polyethylene terephthalate[J]. *FEBS Open Bio*, 2016, 6(5): 425-432.
- [49] de AM CASTRO, CARNIEL A. A novel process for poly(ethylene terephthalate) depolymerization via enzyme-catalyzed glycolysis[J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2017, 124: 64-68.
- [50] MÜLLER RJ, SCHRADER H, PROFE J, DRESLER K, DECKWER WD. Enzymatic degradation of poly(ethylene terephthalate): rapid hydrolyse using a hydrolase from *T. fusca*[J]. *Macromolecular Rapid Communications*, 2005, 26(17): 1400-1405.
- [51] KAN YY, HE LH, LUO YZ, BAO R. IsPETase is a novel biocatalyst for poly(ethylene terephthalate) (PET) hydrolysis[J]. *ChemBioChem*, 2021, 22(10): 1706-1716.
- [52] BLÁZQUEZ-SÁNCHEZ P, ENGELBERGER F, CIFUENTES-ANTICEVIC J, SONNENDECKER C, GRIÑÉN A, REYES J, DÍEZ B, GUIXÉ V, RICHTER PK, ZIMMERMANN W, RAMÍREZ-SARMIENTO CA. Antarctic polyester hydrolases degrade aliphatic and aromatic polyesters at moderate temperatures[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2022, 88(1): e01842-21.
- [53] CHAMAS A, MOON H, ZHENG JJ, QIU Y, TABASSUM T, JANG JH, ABU-OMAR M, SCOTT SL, SUH S. Degradation rates of plastics in the environment[J]. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, 2020, 8(9): 3494-3511.
- [54] SAGONG HY, SEO H, KIM T, SON HF, JOO S, LEE SH, KIM S, WOO JS, HWANG SY, KIM KJ. Decomposition of the PET film by MHETase using exo-PETase function[J]. *ACS Catalysis*, 2020, 10(8): 4805-4812.
- [55] 赵之怡, 张国强, 刘琨, 李盛英. 聚对苯二甲酸乙二醇酯水解酶研究进展[J]. *生物工程学报*, 2023, 39(5): 1998-2014.
- ZHAO ZY, ZHANG GQ, LIU K, LI SY. Advances in poly(ethylene terephthalate) hydrolases[J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2023, 39(5): 1998-2014 (in Chinese).
- [56] SAGONG HY, SON FH, SEO H, HONG H, LEE D, KIM KJ. Implications for the PET decomposition mechanism through similarity and dissimilarity between PETases from *Rhizobacter gummiphilus* and *Ideonella sakaiensis*[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 416: 126075.
- [57] DATTA S, RAJNISH KN, SAMUEL MS, PUGAZLENDHI A, SELVARAJAN E. Metagenomic applications in microbial diversity, bioremediation, pollution monitoring, enzyme and drug discovery. A review[J]. *Environmental Chemistry Letters*, 2020, 18(4): 1229-1241.
- [58] QIU JR, ZHANG YQ, SHI YN, JIANG JW, WU SL, LI LX, SHAO YT, XIN ZH. Identification and characterization of a novel phthalate-degrading hydrolase from a soil metagenomic library[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2020, 190:

- 110148.
- [59] 赵陈阁, 柴树茂, 冯治洋. 土壤宏基因组文库中纤维素酶的筛选与鉴定[J]. 应用与环境生物学报, 2020, 26(2): 299-305.
ZHAO CG, CHAI SM, FENG ZY. Screening and identification of cellulases in a soil metagenomic library[J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2020, 26(2): 299-305 (in Chinese).
- [60] 孙玮. PCBs 污染土壤的宏基因组文库构建与新 *bphc* 基因的克隆表达[D]. 吉林: 吉林大学硕士学位论文, 2011.
SUN W. Construction of metagenomic library from PCBs-contaminated soil and the new *bphc* genes cloning and expression[D]. Jilin: Master's Thesis of Jilin University, 2011 (in Chinese).
- [61] JAISWAL S, SHARMA B, SHUKLA P. Integrated approaches in microbial degradation of plastics[J]. Environmental Technology and Innovation, 2020, 17: 100567.
- [62] 石利霞, 高松枫, 朱蕾蕾. PET 水解酶的研究进展[J]. 生物技术通报, 2020, 36(10): 226-236.
SHI LX, GAO SF, ZHU LL. Research advance in polyethylene terephthalate hydrolytic enzymes[J]. Biotechnology Bulletin, 2020, 36(10): 226-236 (in Chinese).
- [63] KIM HT, KIM JK, CHA HG, KANG MJ, LEE HS, KHANG TU, YUN EJ, LEE DH, SONG BK, PARK SJ, JOO JC, KIM KH. Biological valorization of poly(ethylene terephthalate) monomers for upcycling waste PET[J]. ACS Sustainable Chemistry and Engineering, 2019, 7(24): 19396-19406.
- [64] LI WJ, JAYAKODY LN, FRANDEN MA, WEHRMANN M, DAUN T, HAUER B, BLANK LM, BECKHAM GT, KLEBENSBERGER J, WIERCKX N. Laboratory evolution reveals the metabolic and regulatory basis of ethylene glycol metabolism by *Pseudomonas putida* KT2440[J]. Environmental Microbiology, 2019, 21(10): 3669-3682.
- [65] BERTSCH J, LENA SIEMUND A, KREMP F, MÜLLER V. A novel route for ethanol oxidation in the acetogenic bacterium *Acetobacterium woodii*: the acetaldehyde/ethanol dehydrogenase pathway[J]. Environmental Microbiology, 2016, 18(9): 2913-2922.
- [66] SALVADOR M, ABDULMUTALIB U, GONZALEZ J, KIM J, SMITH AA, FAULON JL, WEI R, ZIMMERMANN W, JIMENEZ JI. Microbial genes for a circular and sustainable bio-PET economy[J]. Genes, 2019, 10(5): 373.
- [67] CHEN S, SU LQ, CHEN J, WU J. Cutinase: characteristics, preparation, and application[J]. Biotechnology Advances, 2013, 31(8): 1754-1767.
- [68] ZUMSTEIN MT, RECHSTEINER D, RODUNER N, PERZ V, RIBITSCH D, GUEBITZ GM, KOHLER HP E, MCNEILL K, SANDER M. Enzymatic hydrolysis of polyester thin films at the nanoscale: effects of polyester structure and enzyme active-site accessibility[J]. Environmental Science and Technology, 2017, 51(13): 7476-7485.
- [69] KAWAI F, KAWABATA T, ODA M. Current knowledge on enzymatic PET degradation and its possible application to waste stream management and other fields[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2019, 103(11): 4253-4268.
- [70] FECKER T, GALAZ-DAVISON P, ENGELBERGER F, NARUI Y, SOTOMAYOR M, PARRALP, RAMÍREZ-SARMIENTO CA. Active site flexibility as a hallmark for efficient PET degradation by *I. sakaiensis* PETase[J]. Biophysical Journal, 2018, 114(6): 1302-1312.
- [71] HAN X, LIU WD, HUANG JW, MA JT, ZHENG YY, KO TP, XU LM, CHENG YS, CHEN CC, GUO RT. Structural insight into catalytic mechanism of PET hydrolase[J]. Nature Communications, 2017, 8: 2106.
- [72] CHEN CC, HAN X, KO TP, LIU WD, GUO RT. Structural studies reveal the molecular mechanism of PETase[J]. The FEBS Journal, 2018, 285(20): 3717-3723.
- [73] THANGUDU RR, MANOHARAN M, SRINIVASAN N, CADET F, SOWDHAMINI R, OFFMANN B. Analysis on conservation of disulphide bonds and their structural features in homologous protein domain families[J]. BMC Structural Biology, 2008, 8: 55.
- [74] JOO S, CHO IJ, SEO H, SON HF, SAGONGHY, SHIN TJ, CHOI SY, LEE SY, KIM KJ. Structural insight into molecular mechanism of poly(ethylene terephthalate) degradation[J]. Nature Communications, 2018, 9: 382.
- [75] BULLER AR, TOWNSEND CA. Intrinsic evolutionary constraints on protease structure, enzyme acylation, and the identity of the catalytic triad[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2013, 110(8): E653-E661.
- [76] 靳玉瑞, 李爱秀, 张力. 一种新型 PET 水解酶的结构与催化机制研究进展. 中国塑料, 2019, 33(3): 106-112.
JIN YR, LI AX, ZHANG L. Progress of the structure

- and catalytic mechanism of one new PET hydrolase[J]. *China Plastics*, 2019, 33(3): 106-112 (in Chinese).
- [77] LIU B, HE LH, WANG LP, LI T, LI CC, LIU HY, LUO YZ, BAO R. Cover feature: protein crystallography and site-direct mutagenesis analysis of the poly(ethylene terephthalate) hydrolase PETase from *Ideonella sakaiensis*[J]. *ChemBioChem*, 2018, 19(14): 1464.
- [78] LEBRETON L, ANDRADY A. Future scenarios of global plastic waste generation and disposal[J]. *Palgrave Communications*, 2019, 5: 6.
- [79] RIBITSCH D, HROMIC A, ZITZENBACHER S, ZARTL B, GAMERITH C, PELLIS A, JUNGBAUER A, ŁYSKOWSKI A, STEINKELLNER G, GRUBER K, TSCHELIESSNIG R, HERRERO ACERO E, GUEBITZ GM. Small cause, large effect: structural characterization of cutinases from *Thermobifida cellulositytica*[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2017, 114(11): 2481-2488.
- [80] SILVA C, DA S, SILVA N, MATAMÁ T, ARAÚJO R, MARTINS M, CHEN S, CHEN J, WU J, CASAL M, CAVACO-PAULO A. Engineered *Thermobifida fusca* cutinase with increased activity on polyester substrates[J]. *Biotechnology Journal*, 2011, 6(10): 1230-1239.
- [81] BIUNDO A, RIBITSCH D, STEINKELLNER G, GRUBER K, GUEBITZ GM. Polyester hydrolysis is enhanced by a truncated esterase: less is more[J]. *Biotechnology Journal*, 2017, 12(8): 1600450.
- [82] RIBITSCH D, HERRERO ACERO E, PRZYLUCKA A, ZITZENBACHER S, MAROLD A, GAMERITH C, TSCHELIEßNIG R, JUNGBAUER A, RENNHOFFER H, LICHTENEGGER H, AMENITSCH H, BONAZZA K, KUBICEK CP, DRUZHININA IS, GUEBITZ GM. Enhanced cutinase-catalyzed hydrolysis of polyethylene terephthalate by covalent fusion to hydrophobins[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2015, 81(11): 3586-3592.
- [83] 卢艺, 韩瑞枝, SCHWANEBERG Ulrich, 季宇. 评论: 塑料结合模块促进聚对苯二甲酸乙二醇酯的酶法降解[J]. *生物工程学报*, 2023, 39(5): 1883-1888.
LU Y, HAN RZ, SCHWANEBERG ULRICH, JI Y. Commentary: polymer binding modules accelerate enzymatic degradation of poly(ethylene terephthalate)[J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2023, 39(5): 1883-1888 (in Chinese).
- [84] MARKUS B, THORSTEN O, REN W, JOHANNES T, JULIANE S, WOLFGANG Z. Effect of hydrolysis products on the enzymatic degradation of polyethylene terephthalate nanoparticles by a polyester hydrolase from *Thermobifida fusca*[J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2015, 93: 222-228.
- [85] MARKUS B, REN W, THORSTEN O, JOHANNES T, JULIANE S, FRANZISKA W, WOLFGANG Z. Enzymatic hydrolysis of polyethylene terephthalate films in an ultrafiltration membrane reactor[J]. *Journal of Membrane Science*, 2015, 494: 182-187.
- [86] BARTH M, HONAK A, OESER T, WEI R, BELISÁRIO-FERRARI MR, THEN J, SCHMIDT J, ZIMMERMANN W. A dual enzyme system composed of a polyester hydrolase and a carboxylesterase enhances the biocatalytic degradation of polyethylene terephthalate films[J]. *Biotechnology Journal*, 2016, 11(8): 1082-1087.
- [87] CARNIEL A, VALONI É, NICOMEDES J, DA CONCEIÇÃO GOMES A, MACHADO de CASTRO A. Lipase from *Candida antarctica* (CALB) and cutinase from *Humicola insolens* act synergistically for PET hydrolysis to terephthalic acid[J]. *Process Biochemistry*, 2017, 59: 84-90.
- [88] MORRIS BA. *The Science and Technology of Flexible Packaging: Multilayer Films from Resin and Process to End Use*[M]. New York: William Andrew Publishing, 2017.
- [89] SHIRKE AN, WHITE C, ENGLAENDER JA, ZWARYCZ A, BUTTERFOSS GL, LINHARDT RJ, GROSS RA. Stabilizing leaf and branch compost cutinase (LCC) with glycosylation: mechanism and effect on PET hydrolysis[J]. *Biochemistry*, 2018, 57(7): 1190-1200.
- [90] TOURNIER V, TOPHAM CM, GILLES A, DAVID B, FOLGOAS C, MOYA-LECLAIR E, KAMIONKA E, DESROUSSEAU ML, TEXIER H, GAVALDA S, COT M, GUÉMARD E, DALIBEY M, NOMME J, CIOCI G, BARBE S, CHATEAU M, ANDRÉ I, DUQUESNE S, MARTY A. An engineered PET depolymerase to break down and recycle plastic bottles[J]. *Nature*, 2020, 580(7802): 216-219.
- [91] KAWAI F, ODA M, TAMASHIRO T, WAKU T, TANAKA N, YAMAMOTO M, MIZUSHIMA H, MIYAKAWA T, TANOKURA M. A novel Ca²⁺-activated, thermostabilized polyesterase capable of hydrolyzing polyethylene terephthalate from *Saccharomonospora viridis* AHK190[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2014, 98(24): 10053-10064.
- [92] LI X, WU HD, GONG JX, LI QJ, LI Z, ZHANG JF.

- Improvement of biodegradation of PET microplastics with whole-cell biocatalyst by interface activation reinforcement[J]. *Environmental Technology*, 2022, 1-10.
- [93] CHEN ZZ, WANG YY, CHENG YY, WANG X, TONG SW, YANG HT, WANG ZF. Efficient biodegradation of highly crystallized polyethylene terephthalate through cell surface display of bacterial PETase[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 709: 136138.
- [94] FURUKAWA M, KAWAKAMI N, ODA K, MIYAMOTO K. Acceleration of enzymatic degradation of poly(ethylene terephthalate) by surface coating with anionic surfactants[J]. *ChemSusChem*, 2018, 11(23): 4018-4025.
- [95] GAO R, PAN HJ, LIAN JZ. Recent advances in the discovery, characterization, and engineering of poly(ethylene terephthalate) (PET) hydrolases[J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 2021, 150: 109868.
- [96] PELLIS A, GAMERITH C, GHAZARYAN G, ORTNER A, HERRERO ACERO E, GUEBITZ GM. Ultrasound-enhanced enzymatic hydrolysis of poly(ethylene terephthalate)[J]. *Bioresource Technology*, 2016, 218: 1298-1302.
- [97] GAMERITH C, ZARTL B, PELLIS A, GUILLAMOT F, MARTY A, ACERO EH, GUEBITZ GM. Enzymatic recovery of polyester building blocks from polymer blends[J]. *Process Biochemistry*, 2017, 59: 58-64.
- [98] SATTI SM, SHAH AA. Polyester-based biodegradable plastics: an approach towards sustainable development[J]. *Letters in Applied Microbiology*, 2020, 70(6): 413-430.
- [99] WEI R, ZIMMERMANN W. Biocatalysis as a green route for recycling the recalcitrant plastic polyethylene terephthalate[J]. *Microbial Biotechnology*, 2017, 10(6): 1302-1307.

(本文责编 陈宏宇)