

· 塑料生物降解资源的发掘 ·

周杰 南京工业大学副教授、硕士生导师，主要研究方向为工业酶资源挖掘与蛋白质工程。主持国家自然科学基金面上和青年基金项目、国家重点研发计划“绿色生物制造”重点专项子课题、中国博士后创新人才计划等 7 项国家和省部级课题；近 5 年以第一作者/通讯作者在 *iScience*、*Food Chemistry*、*Applied and Environmental Microbiology*、*ACS Synthetic Biology* 等期刊发表文章 20 余篇。



聚乳酸塑料合成、生物降解及其废弃物处置的研究进展

谢彬^{1,2}, 白茸茸^{1,2}, 孙华山^{1,2}, 周小力^{1,2,3}, 董维亮^{1,2,3}, 周杰^{1,2,3*}, 姜岷^{1,2,3}

1 南京工业大学生物制药与工程学院, 江苏 南京 211816

2 南京工业大学 材料化学与工程国家重点实验室, 江苏 南京 211816

3 南京工业大学 废塑料生物催化降解与循环利用重点实验室, 江苏 南京 211816

谢彬, 白茸茸, 孙华山, 周小力, 董维亮, 周杰, 姜岷. 聚乳酸塑料合成、生物降解及其废弃物处置的研究进展[J]. 生物工程学报, 2023, 39(5): 1912-1929.

XIE Bin, BAI Rongrong, SUN Huashan, ZHOU Xiaoli, DONG Weiliang, ZHOU Jie, JIANG Min. Synthesis, biodegradation and waste disposal of polylactic acid plastics: a review[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(5): 1912-1929.

摘 要: 随着国内外禁塑令和限塑令的升级, 以聚乳酸(poly(lactic acid), PLA)为代表的生物基塑料成为传统石油基塑料市场的主要替代品, 备受产业界的青睐。然而, 公众对生物基塑料的认识仍存在诸多误解。事实上, 生物基塑料的降解需要在特定条件下才能实现, 泄入到自然环境中同样难以降解, 会对人体、生物多样性和生态系统功能造成危害, 这与传统石油基塑料相似。近年来, 随着我国 PLA 产能和市场规模不断的提高, 亟需进一步加强对 PLA 等生物基塑料降解性能的认识, 挖掘 PLA 生物降解资源, 关注和研究生物基塑料回收处理模式。基于上述背景, 本文首先介绍了 PLA 塑料的性质及合成方式, 以及 PLA 塑料的产业化与市场规模; 其次, 对目前聚乳酸塑料微生物与酶法

资助项目: 国家重点研发计划(2021YFC2103600); 国家自然科学基金(31961133017, 22278219); 江苏省自然科学基金优秀青年项目(BK20211591)

This work was supported by the National Key Research and Development Program of China (2021YFC2103600), the National Natural Science Foundation of China (31961133017, 22278219), and the Natural Science Foundation of Jiangsu Province for Excellent Young Scholars (BK20211591).

*Corresponding author. E-mail: jayzhou@njtech.edu.cn

Received: 2022-12-06; Accepted: 2023-02-20; Published online: 2023-03-02

降解的研究进展进行了综述,并对其生物降解机制进行了探讨;最后,提出了微生物原位处理和酶法闭环回收两种聚乳酸塑料废弃物生物处置方法,并对 PLA 生物基塑料的发展前景和趋势进行了展望。

关键词:生物基塑料;聚乳酸;降解机制;酶;回收利用

Synthesis, biodegradation and waste disposal of polylactic acid plastics: a review

XIE Bin^{1,2}, BAI Rongrong^{1,2}, SUN Huashan^{1,2}, ZHOU Xiaoli^{1,2,3}, DONG Weiliang^{1,2,3}, ZHOU Jie^{1,2,3*}, JIANG Min^{1,2,3}

1 College of Biotechnology and Pharmaceutical Engineering, Nanjing Tech University, Nanjing 211816, Jiangsu, China

2 State Key Laboratory of Materials-oriented Chemical Engineering, Nanjing Tech University, Nanjing 211816, Jiangsu, China

3 Key Laboratory for Waste Plastics Biocatalytic Degradation and Recycling, Nanjing Tech University, Nanjing 211816, Jiangsu, China

Abstract: With the escalation of plastic bans and restrictions, bio-based plastics, represented by polylactic acid (PLA), have become a major alternative to traditional plastics in the current market and are unanimously regarded as having potential for development. However, there are still several misconceptions about bio-based plastics, whose complete degradation requires specific composting conditions. Bio-based plastics might be slow to degrade when it is released into the natural environment. They might also be harmful to humans, biodiversity and ecosystem function as traditional petroleum-based plastics do. In recent years, with the increasing production capacity and market size of PLA plastics in China, there is an urgent need to investigate and further strengthen the management of the life cycle of PLA and other bio-based plastics. In particular, the *in-situ* biodegradability and recycling of hard-to-recycle bio-based plastics in the ecological environment should be focused. This review introduces the characteristics, synthesis and commercialization of PLA plastics, summarizes the current research progress of microbial and enzymatic degradation of PLA plastics, and discusses their biodegradation mechanisms. Moreover, two bio-disposal methods against PLA plastic waste, including microbial *in-situ* treatment and enzymatic closed-loop recycling, are proposed. At last, the prospects and trends for the development of PLA plastics are presented.

Keywords: bio-based plastics; polylactic acid; degradation mechanism; enzyme; recycling

塑料作为人工合成的树脂材料,自 20 世纪发明以来发展迅猛,使用广泛^[1]。中国作为全球最大的塑料制造、消费和出口国,塑料年产量近 8 000 万 t^[2]。废弃塑料处理不当对环境直接造成“白色污染”,同时已殃及人类自身健康。

在全球遏制塑料污染的大环境下,生物塑料成为代替传统石油基塑料的材料之一。生物塑料是生物基塑料和生物可降解塑料的统称,指的是(部分)来源于生物质或能被生物降解的一类塑料^[3]。聚乳酸(polylactic acid, PLA)作为生物

基可降解塑料中的典型代表,来源于可再生的生物资源并且可以在自然环境中完全分解为二氧化碳和水^[4],具有优异的生物降解性和良好的力学性能,已发展为具有巨大增长潜力的行业。

然而,当前公众对生物塑料的认识还存在诸多误解,生物可降解塑料并不意味着可以被随意丢弃,生物塑料泄入到自然环境中同样难以降解且与传统塑料一样具有一定环境毒性^[5],Zimmermann等^[6]使用微毒性综合检测(microtox)技术从PLA塑料浸出的化学物质中检测到生物毒性。若不采取分类回收等有效管理措施,即使推广生物塑料,同样存在塑料废弃物所带来的环境污染问题。因此,加强对生物塑料在生态环境中的原位生物可降解性与生物安全性评价,以及对生物塑料废弃物的回收利用具有重要的研究意义。本文对PLA塑料的性质、合成方式以及产业化状况进行了介绍;综述了目前PLA塑料的微生物与酶降解研究进展,对近年来发现的PLA酸塑料降解酶进行了蛋白质结构上的比较和分类,并对其生物降解机制进行了探讨;最后,提出了微生物原位处理和酶法闭环回收两种PLA塑料废弃物生物处置方法,对PLA生物塑料的发展前景和趋势进行了展望。

1 聚乳酸塑料的合成与应用概况

1.1 聚乳酸塑料的基本性质

PLA是以有机酸乳酸为原料聚合,通过酯键连接的新型聚酯材料。乳酸(2-羟基丙酸, lactic acid)在自然界广泛存在,具有两种立体异构体。根据丙交酯(lactide)中间体的旋光性,可将PLA分为3种:左旋聚乳酸(poly L-lactide, PLLA),右旋聚乳酸(poly D-lactide, PDLA)以及消旋聚乳酸(poly D,L-lactide, PDLLA),结构如图1所示。

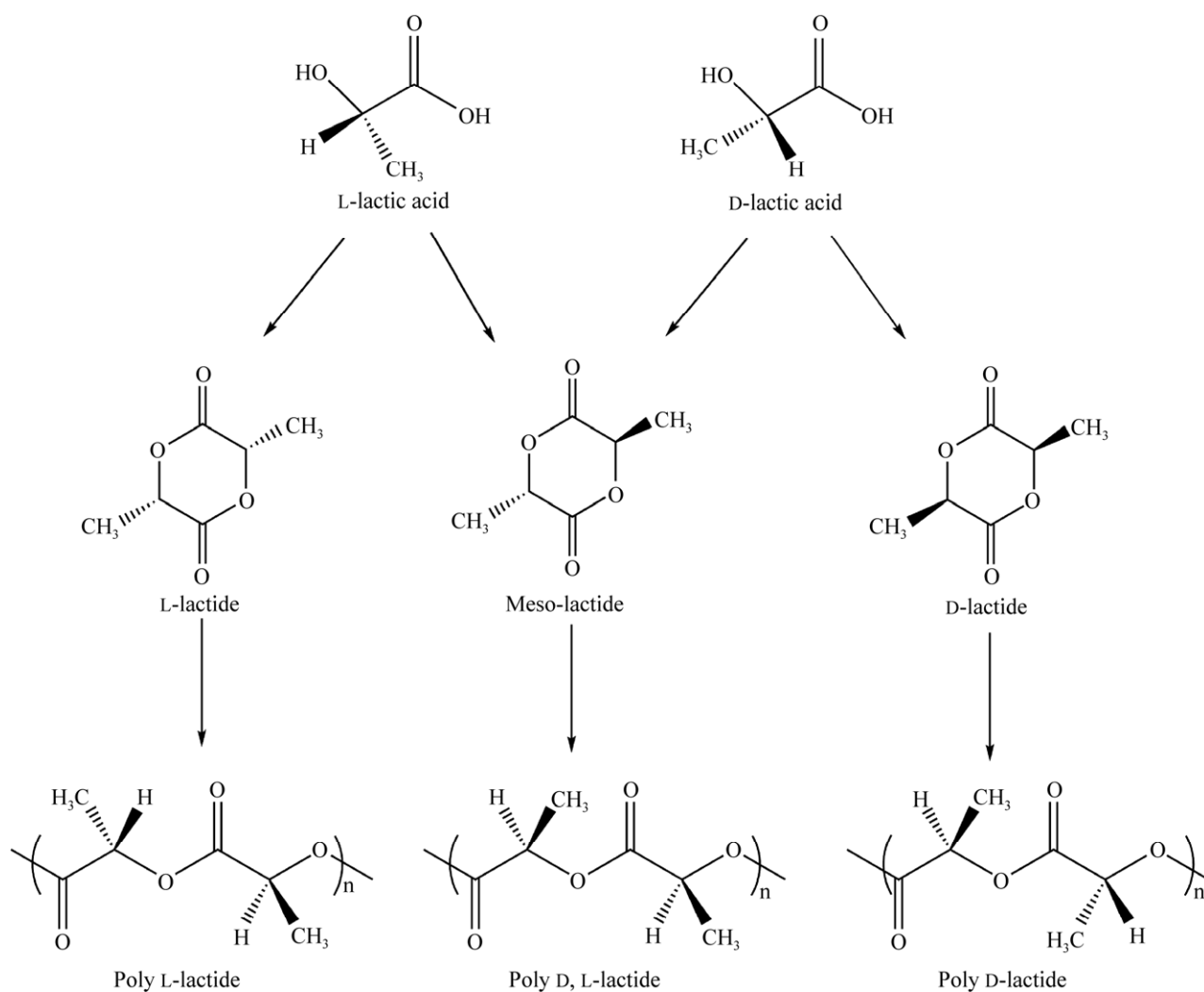
PLA商品化程度高,价格区间在3~4万元/t。目前常用PLA工业产品为PDLLA和PLLA,分别由乳酸或丙交酯的消旋体、左旋体制得。其中,PLLA是半结晶性聚合物,玻璃化转变温度60℃左右,熔点175℃左右,不透明,机械强度高;PDLLA是无定形聚合物,玻璃化转变温度55℃左右,没有熔点,透明。而PDLA是结晶性聚合物,玻璃化转变温度在60℃左右,熔点在140℃左右,主要用于学术研究。3种不同构型的PLA性质如表1所示。通过改变乳酸单体立体异构体类型和组成,可以优化聚合物的机械性能和降解速率来适用于不同的应用场景^[9]。

通常状态下,PLA具有较高的强度和模量,是一种能够媲美聚苯乙烯(polystyrene, PS)和聚对苯二甲酸乙二酯(polyethylene terephthalate, PET)的高分子材料,具有良好的机械和物理性能。PLA材料的缺点在于抗冲击能力差、脆性高,且玻璃化转化温度低,在加工温度下容易降解^[10]。现已有较多文章研究了PLA与淀粉^[11]、壳聚糖^[12]、聚对苯二甲酸-己二酸丁二醇酯(poly butyleneadipate-co-terephthalate, PBAT)^[13]等其他材料共混改性,提高其应用价值。

1.2 聚乳酸塑料的合成

1.2.1 高纯度乳酸单体的制备

乳酸是自然界广泛存在的羧酸。乳酸单体的生产方式包括化学合成法和微生物发酵法,化学法制备的为消旋乳酸,只能适用于对光学纯度没有要求的应用场景,因此全球70%的乳酸是通过微生物发酵法生产的^[14]。目前,PLA用量占全球乳酸总需求的39%以上,乳酸除了应用于制造PLA外,也常作为食品酸味剂、防腐剂等用于食品领域。自然界中存在的乳酸均是L-构型,D-构型乳酸在人体内存在代谢困难的问题,涉及食品与生物医学等领域的乳酸大多是L-构型。

图1 乳酸单体、丙交酯以及聚乳酸的立体异构体^[7]Figure 1 Stereoisomers of lactic acid monomer, lactide and polylactic acid^[7].表1 三种不同构型聚乳酸的基本性质^[8]Table 1 Properties of PLLD, PDLA and PDLLA^[8]

Properties	PLLA	PDLA	PDLLA
Name	Poly L-lactide	Poly D-lactide	Poly D, L-lactide
Crystalline structure	Semi-crystalline	Crystalline	Amorphous
Glass transition temperature, T_g (°C)	50–65	50–65	50–60
Melting temperature, T_m (°C)	170–200	120–150	None
Tensile modulus (GPa)	7.0–10.0	7.0–10.0	1.5–1.9
Tensile strength (MPa)	15.5–150.0	15.5–150.0	27.6–50.0
Elongation at break (%)	12–26	20–30	30–35
Density (g/cm ³)	1.24–1.30	1.25	1.25–1.27

高光学纯度($\geq 99.5\%$)及高化学纯度($\geq 98.0\%$)的乳酸单体是制备高质量 PLA 关键点之一^[15]。与工业化生产食品级 L-乳酸不同,高纯度乳酸单体通常由微生物菌株发酵生产而来,主要生产技术和发酵菌株如表 2 所示。国内外企业普遍采用工程菌株如重组大肠杆菌(*Escherichia coli*)^[17,25],在发酵时添加中和剂氢氧化钙等,可以高效生产乳酸单体。此外也可以由耐酸性酵母(acid-resistant yeast)、干酪乳杆菌(*Lactobacillus casei*)等生产菌株^[26]通过非中和发酵体系生产,缺点是乳酸产量水平较低。乳酸下游提纯工艺包括:菌体分离与去除、副产物分离、乳酸单体的精制纯化等,目前工业上普遍采用乳酸钙结晶-酸解工艺分离纯化聚合级的乳酸单体,得率和纯度都较高。此外,乳酸单体的纯化方法还包括酯化水解、溶剂萃取、分子蒸馏等^[27]。

1.2.2 高分子量聚乳酸的合成

高分子量 PLA 的合成可分为化学法聚合和

生物法聚合。化学法聚合分乳酸直接缩聚法(direct polycondensation, DP)和丙交酯开环聚合法(ring-opening polymerization, ROP)^[28],流程如图 2 所示。乳酸直接缩聚法过程的主要步骤为:去除游离水,低聚物缩聚,以及高分子量 PLA 的熔融缩聚^[28]。直接缩聚法是合成 PLA 最直接、简单的工艺,缺点为产物相对分子量较低,性能较差^[30],目前,国内只有上海同杰良生物材料有限公司使用乳酸直接缩聚法生产 PLA^[31]。国内外工业化生产 PLA 方法主要是开环聚合法,该方法基于最初的 Cargill-Dow 公司专利^[32-33],优点在于可以获得分子量分布窄的高分子量 PLA。开环聚合法首先在低温 100–140 °C 催化乳酸单体缩聚为低 PLA,并蒸发去除缩聚水,随后通过高温 200–230 °C 热解聚形成丙交酯,最后催化丙交酯开环形成 PLA^[34-35]。目前国内丙交酯开环聚合 PLA 的工业化装置已经完善,但是高纯度的丙交酯制备技术依然是 PLA 生产中的“卡脖子”技术。

表 2 乳酸单体的发酵菌株与生产技术^[16]

Table 2 Fermentation strains and production technology of lactic acid monomer^[16]

Production technology	Strains	Production (g/L)	Advantages	Disadvantages	References
Neutralize the fermentation production system	<i>Escherichia coli</i>	≥ 140.0	1. High fermentation intensity 2. Able to produce D-lactic acid or L-lactic acid	Formation of calcium sulfate by-products	[17-18]
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	82.6–142.0	Ammonium salt method can be used to neutralize the reaction system	The neutralization process control accuracy requires a high level	[19-20]
	<i>Bacillus coagulans</i>	150.0–240.0	Higher levels of acid production	Only L-lactic acid can be industrially produced	[21]
Non-neutral fermentation production system	Acid-resistant yeast	~ 70.0	No calcium sulfate by-products are formed	Only L-lactic acid can be industrially produced	[22-23]
	<i>Lactobacillus casei</i>	2.6 g/(h·L)	No neutralizing agent required	Special organic solvents or organic liquid membranes are required	[24]

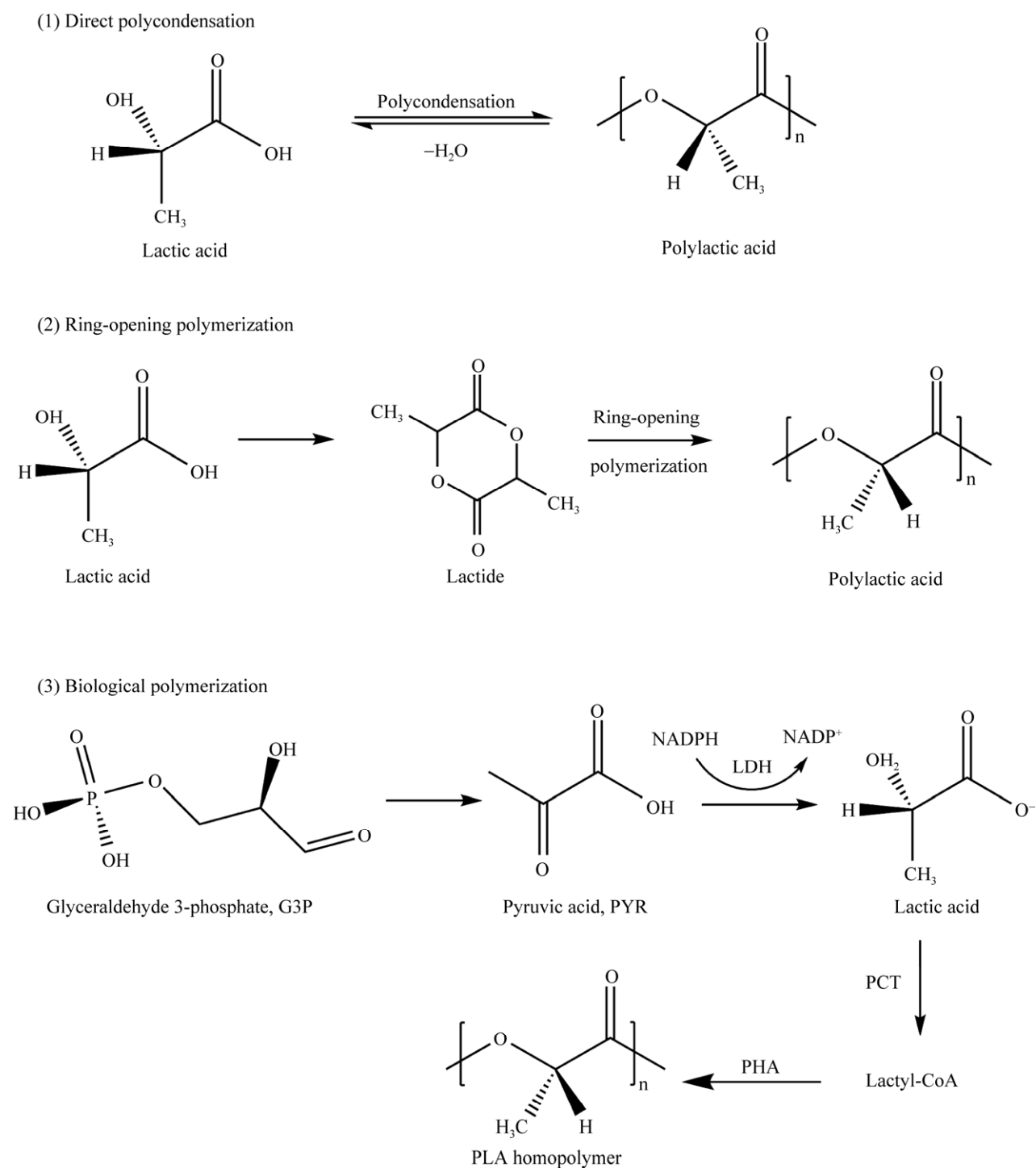


图2 高分子聚乳酸的化学和生物法聚合方法^[28-29]

Figure 2 Chemical and biological polymerization of polylactic acid^[28-29].

除了化学法聚合外,有报道在大肠杆菌 (*Escherichia coli*)^[36]、解脂亚罗酵母(*Yarrowia*

lipolytica)^[37] 以及酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*)^[38]等底盘细胞中成功构建 PLA 聚合

的代谢途径,以葡萄糖为底物生物法合成 PLA 均聚物。如图 2 所示,在生物法聚合中关键的丙酰辅酶 A 转移酶(propionyl-CoA transferase, PCTase)负责将乳酸单体转化为乳酰-CoA,进一步在聚羟基脂肪酸合成酶(polyhydroxyalkanoate synthase, PHAase)的催化作用下将乳酰-CoA 聚合生成 PLA。与化学工艺相比,PLA 生物法聚合存在细胞中聚合物含量低、聚合物分子量低等问题,直接影响 PLA 的生产成本和材料性能^[36]。在此基础上,上海交通大学陶飞课题组开发了一种来自细长聚球藻(*Synechococcus elongatus*)细胞工厂,实现了以 CO₂ 为原料从头生物合成 PLA,为材料行业“负碳”生产提供了新思路,并解决了碳流重定向、蓝藻细胞生物量低以及生长速度过慢等问题^[29]。

1.3 聚乳酸塑料的产业化与市场规模

目前,全球每年生产使用的生物基塑料数量仅占石油基塑料总量的 1%。然而,近年来生物基塑料市场持续增长,与全球整体塑料产量略有下降形成鲜明对比。据 European Bioplastics 预测^[39],全球生物基塑料的生产能力将从 2021 年的 242 万 t 增长到 2026 年的 759 万 t,生物基塑料在全球塑料生产中的份额将首次超过 2%。随着各国对 PLA 生产基地的进一步投资,全球 PLA 的产量也将继续增长,其中 PLA 生产龙头企业为美国的 NatureWorks 公司以及在泰国合资的 Total-Corbion 公司。NatureWorks 和 Total-Corbion 目前公布的年产能分别为 15 万 t 和 7.5 万 t。NatureWorks 公司宣布在泰国新建一个 10 万 t/年的 PLA 新厂,Total-Corbion 也宣称将在荷兰新建一个 10 万 t/年的新厂,预计 2024 年投产。

我国 PLA 产业同样发展迅速,2020 年我国 PLA 产能约为 18.5 万 t,预计到 2025 年 PLA 产能将在 100 万 t 以上,约占全球 PLA 产能的

三分之二以上^[40]。国内主要的 PLA 生产企业包括安徽丰原生物技术股份有限公司、浙江海正生物材料股份有限公司、上海同杰良生物材料有限公司、吉林中粮生物材料有限公司、金丹乳酸有限公司、辽宁金发科技有限公司等。安徽丰原生物作为 2022 年冬奥会生物可降解餐具供应商,掌握了从丙交酯开环聚合生产 PLA 的全产业链,已实现每年 10 万 t 的 PLA 产能,计划将 PLA 年产能进一步提升至 40 万 t。2022 年上市的海正生物材料股份有限公司打通了“乳酸-丙交酯-聚乳酸”的全工艺流程,实现每年 4 万 t 的 PLA 产能,并计划于 2024 年完成 15 万 t 的 PLA 项目的投料试产。此外,2021 年,吉林中粮生物材料有限公司解决了中间体丙交酯的供应问题后,每年产能 3 万 t 的 PLA 生产线恢复投产运营。金丹乳酸有限公司是国内最大的乳酸生产企业,2022 年 7 月决定将原本年产 1 万 t 的 PLA 变更为年产 7.5 万 t 的 PLA 生物降解新材料项目。

2 聚乳酸塑料生物降解的研究进展

生物降解通常指的是可以在一定生物活性环境下降解转化为 CO₂ 和 H₂O 的过程,该过程基于微生物使用聚合物材料作为其生物能量来源^[41]。PLA 作为一种生物基可降解塑料,其生物降解并不是无条件的,更不是完全没有环境污染风险的。PLA 只有在温度高于 58 °C 和高湿度的密闭工业堆肥环境中才可以降解,在自然和受控条件下分解速率依旧缓慢,较难实现彻底分解。尤其在海水中,PLA 材料经过 52 周后其表面形态、重量、分子量以及机械性能几乎没有发生变化^[42],随意丢弃到自然环境中同样会造成环境污染问题^[43]。

PLA 降解通常涉及到酯键的断裂, 根据诱导降解因素类型的不同, 可以将 PLA 降解分为非生物过程(即水解、热降解、氧化、光解)和生物过程(微生物降解、生物酶降解)^[44]。其中 PLA 降解的非生物过程已有很多综述进行了归纳和总结^[8,28,45], 本文将着重对 PLA 的微生物和酶降解的研究进展进行综述。

2.1 聚乳酸塑料的降解微生物

由于 PLA 在水中的溶解度低且具有高分子结构, 微生物无法将聚合物直接运输到细胞内发生降解反应。在这种情况下, 微生物首先在细胞外释放降解酶, 降解 PLA 产生水溶性化合物, 这些化合物再转运至细胞内并进行代谢^[46], 通常需要使用诱导剂如明胶、弹力蛋白、丝蛋白以及一些氨基酸和多肽来刺激该过程^[35]。目前已报道的 PLA 塑料降解微生物包括细菌、放线菌和真菌^[47], 存在于堆肥、淡水、海洋、厌氧和土壤等多种自然环境中, 分泌的酶具有不同的最适作用条件。湿度、温度、pH 值、盐度、氧气的不同以及营养物质的供应等环境因素对微生物降解 PLA 活性有着重要影响^[33]。

放线菌是一种丝状细菌, 广泛存在于土壤中, 降解 PLA 的放线菌多为拟无枝菌属(*Amycolatopsis*)、假诺卡氏菌科(*Pseudonocardaceae*)、小单孢菌科(*Micromonosporaceae*)和链霉菌(*Streptomyetaceae*)等^[48]。其中主要的 PLA 降解菌来源于 *Amycolatopsis*。Pranamuda 等^[49]从土壤环境中分离出对 PLA 有降解活性的拟无枝菌属(*Amycolatopsis*) HT-32, 14 d 可以降解约 60% 的 PLA 薄膜。此外, Nakamura 等^[50]从 300 种土壤样品中, 使用 PLA 乳化平板筛选出了 2 株有降解活性的放线菌 *Amycolatopsis* sp. K104-1 和 *Amycolatopsis* sp. K104-2, 在透析袋中使用 K104-1 纯化的蛋白于 37 °C 下测试 PLA 薄膜的降解能力, 经过 48 h 造成了 PLA 薄膜约

90% 的质量损失, 扫描电子显微镜证明了 PLA 薄膜表明孔洞的形成。

除放线菌外, PLA 降解细菌还包括芽孢杆菌(*Bacillus*)、假单胞菌(*Pseudomonas*)、寡养食单胞菌(*Stenotrophomonas*)和莱西氏菌(*Laceyellai*)等。Bubpachat 等^[51]从土壤和废水污泥中, 使用乳化 PLA 平板对降解 PLA 的细菌进行分离, 筛选了 2 株细菌分别为帕万氏寡养单胞菌(*Stenotrophomonas pavanii* CH1)和膝形假单胞菌(*Pseudomonas geniculate* WS3), 在最适 pH 和明胶浓度下, *P. geniculata* WS3 在 20 d 后降解约 45% 的 PLA 薄膜, *S. pavanii* CH1 降解约 10% 的 PLA 薄膜。Tomita 等^[52]在 60 °C 下, 从富集培养的 144 个土壤样品中分离出降解 PLA 的嗜热菌株短小短芽孢杆菌(*Bacillus brevis*)。

PLLA 的真菌降解通常发生在 PLA 链的末端, 通过消耗链末端单体的方式, 实现 PLLA 的降解^[44]。据报道, 可吸收 D,L-乳酸以及可溶性低聚物的真菌包括: 镰刀真菌(*Fusarium*)、青霉菌(*Penicillium*)、腐生真菌(*Tritirachium*)、黄曲霉(*Aspergillus*)和嗜热真菌(*Thermomyces*)等^[53]。Torres 等^[54]发现真菌串珠镰刀菌(*Fusarium moniliforme*)可以降解 PLA 生成乳酸寡聚体。除此之外, Lipsa 等^[55]利用绿色木霉(*Trichoderma viride*)对 PLA 膜片进行了降解实验, 21 d 后的膜片质量损失为 1.2%, 证明了对 PLA 的降解能力。

2.2 聚乳酸塑料的降解酶

PLA 作为一种脂肪族聚酯, 可以在微生物产生特定水解酶的作用下发生酯键断裂, 如酯酶、角质酶、脂肪酶和蛋白酶等。近年来, 科研工作者致力于从土壤、污泥等环境下分离并纯化出 PLA 降解酶。表 3 参考了两个塑料降解微生物数据库(PlasticDB 数据库^[69]、PAZy 数据库^[70]), 归纳了近年来发现的典型的 PLA 降解菌株及其分泌的降解酶的相关信息。

表 3 典型的 PLA 降解酶信息表

Table 3 Typical PLA-degrading microbes and PLA-degrading enzyme

Enzyme	Name	UniProt code	Representative species	Optimal temperature (°C)	Optimal pH	References
Protease	Proteinase K	P06873	<i>Tritirachium album</i>	45	9.0	[56]
	PLAase 3	B0FY08	<i>Amycolatopsis orientalis</i>	50–60	9.5	[57]
	Prot T16-1	None	<i>Actinomadura keratinolytica</i> T16-1	70	10.0	[58]
	LP175	A0A291HVVH1	<i>Laceyella sacchari</i>	60	9.0	[59]
Esterase	RPA1511	Q6N9M9	<i>Rhodopseudomonas palustris</i>	55–60	6.5	[60]
	ABO2449	Q0VLQ1	<i>Alcanivorax borkumensis</i>	30–37	6.5	[60]
	PudA	BAA76305.1	<i>Comamonas acidovorans</i> TB-35	45	6.5	[61]
	PlaM4	A4UZ10	<i>Bacillus clausii</i> ATCC10987	70	–	[62]
	ABO_1197	Q0VQA3	<i>Alcanivorax borkumensis</i> strain ATCC700651	30	–	[63]
Lipase	PLaA	Q83VDO	<i>Paenibacillus amylolyticus</i>	45–55	10.0	[64]
	Lipase PL	None	<i>Alcaligenes</i> sp.	40	8.5	[65]
Cutinase	CLE	Q874E9	<i>Cryptococcus</i> sp. S-2	37	–	[66]
	Thc_Cut1	E9LVH8	<i>Thermobifida cellulosylitica</i>	50	7.0	[67]
	Thc_Cut2	E9LVH9	<i>Thermobifida cellulosylitica</i>	50	7.0	[67]
	Cut190	W0TJ64	<i>Saccharomonospora viridis</i> AHK190	65–75	6.5–8.0	[68]

2.2.1 PLA 塑料降解酶的聚类分析

从 Uniprot 数据库^[71]中获得了 PLA 塑料降解酶的序列信息,对已有明确生化特性以及获得蛋白质晶体结构的 PLA 降解酶进行了归纳总结,使用 MEGA 11 软件^[72]构建了部分 PLA 降解酶的系统发育树,并标注了不同类型的 PLA 降解酶对 PLA 构型的偏好,如图 3 所示。蛋白酶可以水解 PLLA,但不能水解 PDLA。推测是因为天然构型的蛋白质构成都是 L-构型,蛋白酶进化出对 L-构型的蛋白质严格的立体选择性^[73]。相比之下,脂肪酶和角质酶的天然底物没有立体异构体,因此它们对 L-构型和 D-构型均有活性,不会受到立体选择性的限制。

由于对酶的设计需要了解蛋白质的功能和结构,因此通常需要先获取蛋白质的三维结构。近年来,PDB 数据库^[74]上对蛋白质高分辨率解析的结构快速增加,并且随着蛋白质结构预测工具如 AlphaFold、RoseTTAFold 的出现,构建了基于序列预测对酶结构和功能注释的数据库

AlphaFold Protein Structure^[75]。如图 4 所示,基于以上结构预测数据库,以及结合文献报道通过 X-ray 衍射法获得的 PLA 降解酶三维结构,绘制主要典型的 PLA 降解酶的三维结构,并标注了蛋白质中形成的二硫键。另外,本文归纳 PLA 降解酶的结构和酶学性质等内容(表 3),期望对其进行合理的设计,对特定的氨基酸进行突变来确定氨基酸的作用或者改善酶特性,满足工业化的需求。

2.2.2 聚乳酸降解酶的催化机制

PLA 的生物降解机制通常包括两个方面,一是研究酯键的断裂;二是研究底物的识别机制。PLA 的生物降解是一个复杂的过程,受到很多因素的影响,除了降解酶的类型外,降解速率取决于以下因素:pH 值、温度、立体化学和材料结晶度^[76]。降解产物乳酸的形成使过程进一步复杂化,pH 降低可能导致酶变性,从而导致降解效率低下。因此,深入研究塑料降解酶的催化机制以及影响降解的因素,对于利用生物降解来消除废弃生物塑料来说至关重要。

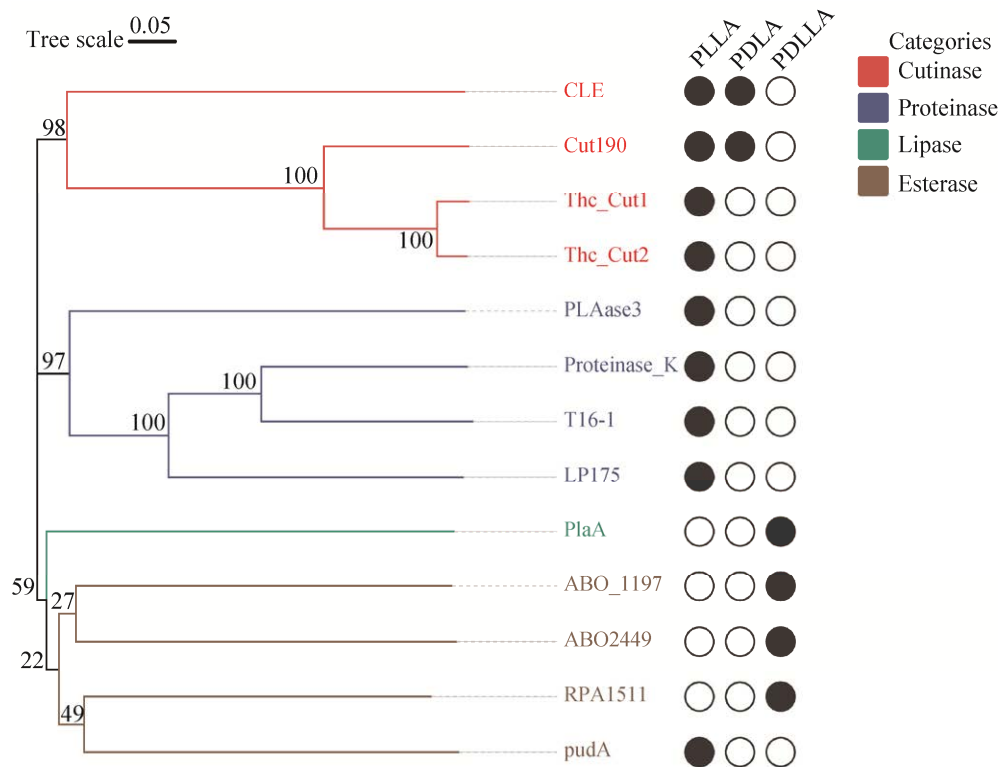


图 3 主要聚乳酸塑料降解酶的系统发育树分析
Figure 3 Phylogenetic tree analysis of various polylactic acid degrading enzymes.

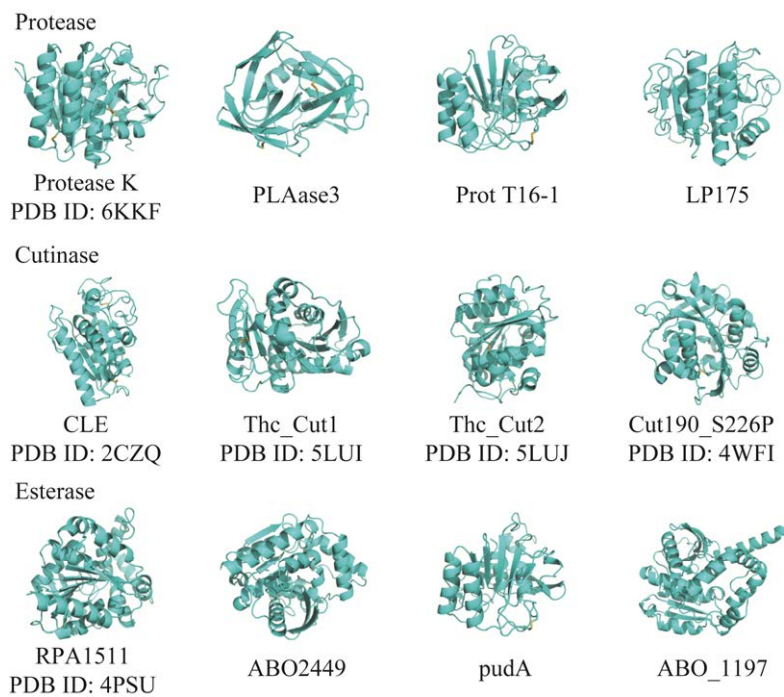


图 4 主要 PLA 降解酶的三维结构展示^[56-61,63,66-68]
Figure 4 Three-dimensional structure display of various PLA-degrading enzymes^[56-61,63,66-68].

Bikiaris^[77]研究发现,大多数聚酯可以被脂肪酶降解。脂肪酶可以随即切断聚酯主链的酯键,在降解其他脂肪族聚酯如聚己内酯(polycaprolactone, PCL)材料中起到重要作用^[78]。PLA 属于脂肪族聚酯,理论上脂肪酶同样应该对 PLA 有显著的降解作用,然而通过对商业脂肪酶的筛选表明,尽管大部分脂肪酶都对 PCL 等材料有较好的活性,但是除了来源于产碱杆菌(*Alcaligenes* sp.)的脂肪酶 PL 外,其他脂肪酶基本不能降解 PLA。脂肪酶仅在材料表面吸附结合引起的构象变化后才具有活性^[79],因此脂肪酶的降解通常是一个表面侵蚀过程。

目前关于专门用于降解 PLA 的角质酶和酯酶的机制研究较少。Hajighasemi 等^[60]发现了来自沼泽红假单胞菌(*Rhodopseudomonas palustris*)的酯酶 RPA1511。在 1 mL 的反应体系中,50 μg 的酶可以在 36 h 内将 12 mg 的 PDLA 粉末降解约 35%。此外,Masaki 等^[66]研究了隐球菌(*Cryptococcus* sp.) S-2 中分泌获得的角质酶 CLE,浓度为 0.8 $\mu\text{g/mL}$ 的 CLE 在 60 h 内完全降解高分子量 PLA,而蛋白酶 K 在 400 $\mu\text{g/mL}$ 的浓度下在 88 h 内完全降解 PLA,可见角质酶 CLE 降解高分子量 PLA 的效率比蛋白酶 K 高出 500 倍。

1981 年 Williams 首次报道了来源于白色念球菌(*Tritirachium album*)的蛋白酶 K 对 PLA 具有降解作用^[80],自此蛋白酶 K 作为一种商业化的 PLA 降解酶来研究对于 PLA 生物材料的降解特性。在此基础上,蛋白酶 K 被发现可以降解纯 PLA 薄膜和 PLA 复合材料,并且前者的降解速度更快。蛋白酶 K 通过活性中心切割 PLA 的酯键,对 PLLA 的催化过程分为底物结合、亲核攻击、质子化、酯键水解 4 个阶段^[81],活性中心的丝氨酸残基在催化过程中起关键作用。首先,丝氨酸被附近的组氨酸侧链激活,

活化的羰基在亲核作用下直接参与酯键反应;随后, PLLA⁺ 的碳被丝氨酸酯化,裂解后的 PLLA⁺ 的 O 端成为游离态;接着,水分子参与到反应中,它取代了裂解的 PLLA⁺ 的 O 端,这就形成了具有羧基的单体乳酸,并使丝氨酸的羟基再生;最后,乳酸分子从反应中释放出来,开始发生下一个的催化反应。蛋白酶的参与会在 PLA 薄膜中产生孔隙和碎裂,使酶可以更容易进入聚合物区域。

3 聚乳酸塑料废弃物生物处置探索

生物塑料绝不能成为随意丢弃的理由,大多数生物塑料在自然环境中依然降解缓慢,需要认真考虑此类材料的废弃物回收处置,以减少环境污染问题。PLA 废弃塑料首选的循环方式应该是重复循环使用,该方式对环境的影响最小。然而,重复使用的应用场景有限,仅限于快递包装材料的重复使用以及生物塑料袋的循环使用等,难以推广到所有场景。而使用最常用的填埋和焚烧的方法处理废弃 PLA 塑料,与传统塑料造成的环境污染并无差异,难以体现出 PLA 生物可降解的优异性。因此,根据当前 PLA 塑料废弃物能否集中回收,提出了两种废弃 PLA 塑料的生物处理方式,如图 5 所示,对消费后易于回收的废弃 PLA 塑料,选择生物降解再聚合的方式,循环原料乳酸,提高产品价值,实现闭环循环(图 5 上半部分);对于回收成本高昂且不易回收的废弃 PLA 塑料进行生物原位降解,实现废塑料污染治理(图 5 下半部分)。

3.1 聚乳酸废弃物的微生物原位处理

PLA 在一些应用场景中,使用结束后将塑料遗留在环境中的风险很高,其中最典型的是废弃 PLA 地膜和渔具。在农业中,PLA 可以取代传统的、不可降解的塑料材料,例如 PLA 地

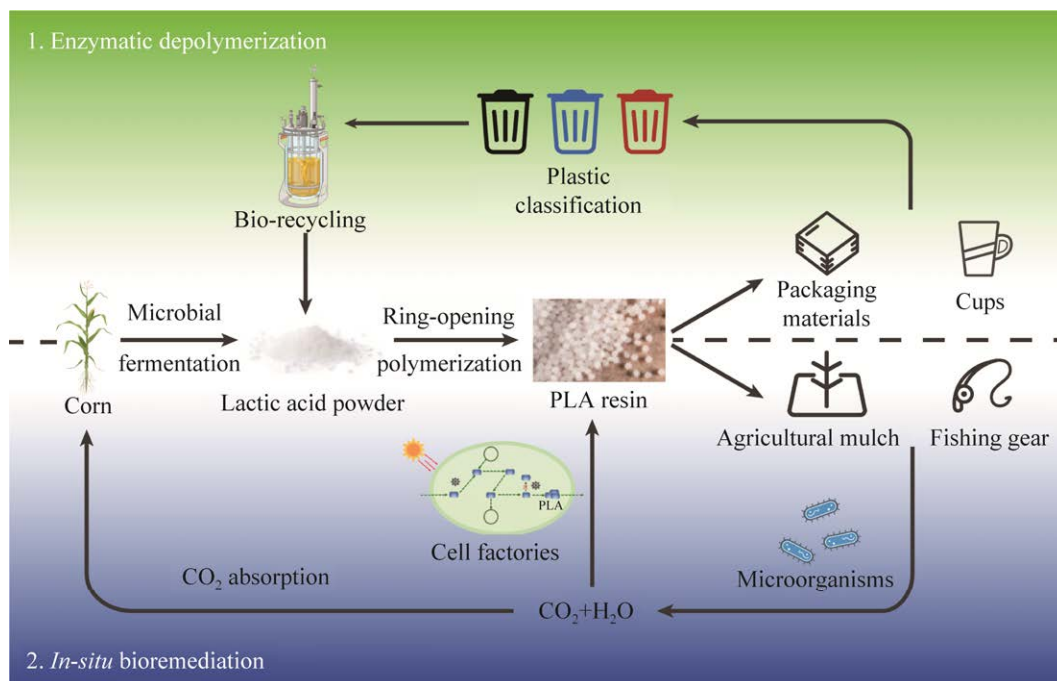


图5 聚乳酸废弃物生物处理示意图

Figure 5 Schematic diagram of biological treatment of polylactic acid waste.

膜、麻线等。农业地膜的广泛推广使用可以保护土地水分，极大地提高农作物产量，与现代农业种植技术紧密联系。然而，传统使用的地膜不易回收且几乎不被降解，造成了大量的微塑料残留，不利于农业的可持续发展。在制造地膜时候就应该考虑到材料的可降解性能，使其能够在适当条件下在土壤环境中生物降解，而无需另外回收废弃地膜。

Li 等^[82]将 46 mm×62 mm 的长方形 PLA 生物地方埋入野外土壤 24 个月后，PLA 地膜大约降解了 10%。因此，处理废弃 PLA 地膜时也需要引入工程化的在常温下具有高效降解活性的 PLA 降解微生物。土壤中的降解涉及到长时间的材料的孵化，这是微生物降解废弃地膜很好的应用场景。Bonifer 等^[83]针对废弃 PLA 地膜，筛选出来一株来自短芽孢杆菌(*Bacillus pumilus*) B12，可以在 48 h 内降解高分子量 PLA 薄膜检测到 L-乳酸单体，并通过扫描电子显微镜观测

到 PLA 薄膜表面的断裂。*Bacillus pumilus* 已被证明对各种环境压力下有显著的适应能力，例如强烈的紫外光照、高浓度过氧化氢等恶劣环境^[84-85]，可以成为原位处理 PLA 废弃地膜的候选菌株之一。

此外，最近的一项研究表明，每年有 6% 的渔网和 29% 的鱼线被直接丢弃到海洋中^[86]，然而，海洋环境中废弃的 PLA 几乎无法被降解，因此，在渔具的设计和制造过程中应该考虑到这种情况，类似于生产生物降解地膜的方式，可以在渔具中嵌入在淡水或海水条件下依然具有生物降解活性的酶。现有研究将来源于白色念球菌(*Tritirachium album*)蛋白酶 K 嵌入到 PLLA 薄膜中，可在淡水环境下经过 96 h 降解 78% 的薄膜质量^[87]。如果这些渔具被丢弃在海洋中，可以在原位快速降解废弃的 PLA 塑料。

3.2 聚乳酸废弃物的酶法解聚循环利用

塑料循环回收是一种将塑料废弃物进行集

中收集的方法,然后使用化学或生物的方式将塑料高分子进行解聚,并回收塑料单体、低聚物或碳氢化合物,最终用于重新生产聚合物。PLA 塑料的化学解聚循环利用已取得重大研究进展。2021 年 9 月,四川大学王玉忠团队与安徽丰原生物技术股份有限公司签署了“PLA 化学闭环循环技术”合作协议书,实现了 PLA 解聚回收丙交酯的回收率和光学纯度都远高于国际上同类技术已有的最高水平。2021 年 10 月,Total Corbion PLA 公司推出了世界上第一种商业化的化学回收生物塑料产品。Total Corbion PLA 公司接收和解聚再加工消费后 PLA 废料,然后将其提纯并聚合成原本生产的 PLA 性能相同的 Luminy® rPLA。

生物酶法回收与传统的机械回收方法不同,生物酶法循环制造的塑料产品质量更佳或者可以回收传统塑料无法处理的混合塑料、纤维等物品。自 2011 年成立的法国 Carbios 公司致力于研究酶法回收废弃塑料,发现了一种工程 PET 降解酶 LCC,用于分解和回收塑料瓶^[88]。Carbios 公司现已尝试使用酶回收技术 C-ZYME®进行回收 PET 废料,建立的示范工厂包括一个 20 m³ 的降解反应器,每个周期能够处理 2 t 的 PET 废料,相当于 100 000 个瓶子。除了研究 PET 废弃塑料酶法回收外,Carbios 公司也对 PLA 塑料降解微生物进行了筛选,于 2014 年宣布其专有的酶在 48 h 内可以降解 90% 的 PLA 材料,并对杯子、托盘、塑料薄膜等进行了降解实验^[89],2015 年宣布在 300 L 反应器中生产 PLA 降解酶。

此外,对于大规模酶法降解循环利用废弃 PLA 的研究较少。Panyachanakul 等^[90]尝试使用解角蛋白质马杜拉放线菌(*Actinomadura keratinolytica*) T16-1 降解废弃 PLA 塑料。T16-1 分泌酶的最适温度为 70 °C,最适 pH 为 10,在

pH 11.0–12.0 时依然可以保持稳定,并且在 70 °C 热处理 1 h 可以维持 70% 剩余酶活。粗酶后续被用于 5 L 搅拌生物反应器中放大并评估对于 PDLLA 的降解情况。该酶在 60 °C、pH 8.0 以及搅拌速度 50 r/min 的条件下,孵育 72 h 后,最大百分比转化效率为 89%。在透析的条件下,可以降解约 99% 的 PLA 粉末和 32% 的 PLA 托盘。

4 小结与展望

PLA 生物塑料不仅符合国家“十四五”重点支持战略方向,也满足全球对材料环保安全的诉求,因此其市场前景广阔。然而,与传统石油基塑料相比,生物可降解塑料在自然环境下的降解速率仍不理想,且一旦泄入到环境中,对人和自然界的生态破坏并不比传统石油基塑料少。此外,当前塑料产业仍然以“获取-制造-废弃”为主导的线性经济模式,导致大多数生物塑料在被生产、使用后被随意丢弃,难以发挥其循环利用的优势。因此,需要大型企业在塑料废弃物大量产生的地区建设规模化的化学法或生物法处理设施,对消费后生物塑料分类回收后进行末端治理,对生物塑料的全生命周期进行管理。

对易于回收的废弃 PLA 塑料进行闭环循环再利用,然而在目前的设施中,只能回收 PET、聚丙烯(polypropylene, PP)、聚乙烯(polyethylene, PE)等更常用的塑料,其他塑料的数量不足以支持实施具有经济效益的回收措施,应完善城市中的各种塑料分类回收体系,构建可商业化运行的循环模式;对于不易回收的废弃 PLA 塑料,在生产时就应进行特殊的生物降解设计,考虑到在使用寿命结束时将塑料遗留在环境中的风险,做到在自然环境中原位降解。

现有的废弃 PLA 塑料回收仍以化学回收为

主,并仅限于在公司内部回收不合格的 PLA 产品,而生物法作为一种对环境更加友好的处理方法仍需进一步的研究来体现其商业应用价值,可运用酶工程的手段,对降解酶进行定向改造,并建立废弃 PLA 塑料工业级酶法回收的工艺体系,实现废塑料碳资源的循环利用甚至生产高值化的产品。

REFERENCES

- [1] SHAH AA, HASAN F, HAMEED A, AHMED S. Biological degradation of plastics: a comprehensive review[J]. *Biotechnol Advances*, 2008, 26(3): 246-265.
- [2] 马占峰, 牛国强, 芦珊. 中国塑料加工业(2021)[J]. *中国塑料*, 2022, 36(6): 142-148.
MA ZF, NIU GQ, LU S. China plastics industry(2021)[J]. *China Plastics*, 2022, 36(6): 142-148 (in Chinese).
- [3] FREDI G, DORIGATO A. Recycling of bioplastic waste: a review[J]. *Advanced Industrial and Engineering Polymer Research*, 2021, 4(3): 159-177.
- [4] PLATEL RH, HODGSON LM, WILLIAMS CK. Biocompatible initiators for lactide polymerization[J]. *Polymer Reviews*, 2008, 48(1): 11-63.
- [5] NARANCIC T, VERSTICHEL S, REDDY CHAGANTI S, MORALES-GAMEZ L, KENNY ST, DE WILDE B, BABU PADAMATI R, O'CONNOR KE. Biodegradable plastic blends create new possibilities for end-of-life management of plastics but they are not a *Panacea* for plastic pollution[J]. *Environmental Science & Technology*, 2018, 52(18): 10441-10452.
- [6] ZIMMERMANN L, DOMBROWSKI A, VÖLKER C, WAGNER M. Are bioplastics and plant-based materials safer than conventional plastics? *In vitro* toxicity and chemical composition[J]. *Environment International*, 2020, 145: 106066.
- [7] MURARIU M, DUBOIS P. PLA composites: from production to properties[J]. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2016, 107: 17-46.
- [8] ZAABA NF, JAAFAR M. A review on degradation mechanisms of polylactic acid: hydrolytic, photodegradative, microbial, and enzymatic degradation[J]. *Polymer Engineering & Science*, 2020, 60(9): 2061-2075.
- [9] GUPTA B, REVAGADE N, HILBORN J. Poly(lactic acid) fiber: an overview[J]. *Progress in Polymer Science*, 2007, 32(4): 455-482.
- [10] 刘文涛, 徐冠桦, 段瑞侠, 鹿孟张, 袁梦杰, 陈金周. 聚乳酸改性与应用研究综述[J]. *包装学报*, 2021, 13(2): 3-13, 19.
LIU WT, XU GH, DUAN RX, LU MZ, YUAN MJ, CHEN JZ. Review on modification and application of polylactic acid[J]. *Packaging Journal*, 2021, 13(2): 3-13, 19 (in Chinese).
- [11] WANG N, YU JG, MA XF. Preparation and characterization of compatible thermoplastic dry starch/poly(lactic acid)[J]. *Polymer Composites*, 2008, 29(5): 551-559.
- [12] TORRES-HERNÁNDEZ YG, ORTEGA-DÍAZ GM, TÉLLEZ-JURADO L, CASTREJÓN-JIMÉNEZ NS, ALTAMIRANO-TORRES A, GARCÍA-PÉREZ BE, BALMORI-RAMÍREZ H. Biological compatibility of a polylactic acid composite reinforced with natural chitosan obtained from shrimp waste[J]. *Materials*, 2018, 11(8): 1465.
- [13] CHEN WW, QI CZ, LI Y, TAO HY. The degradation investigation of biodegradable PLA/PBAT blend: thermal stability, mechanical properties and PALS analysis[J]. *Radiation Physics and Chemistry*, 2021, 180: 109239.
- [14] KOMESU A, ALLAN ROCHA de OLIVEIRA J, Da SILVA MARTINS LH, WOLF MACIEL MR, MACIEL FILHO R. Lactic acid production to purification: a review[J]. *BioResources*, 2017, 12(2): 4364-4383.
- [15] 甄光明. 乳酸及聚乳酸的工业发展及市场前景[J]. *生物产业技术*, 2015(1): 42-52.
ZHEN GM. Industrial development and market prospect of lactic acid and polylactic acid[J]. *Biotechnology & Business*, 2015(1): 42-52 (in Chinese).
- [16] 王正祥. 我国聚乳酸产业发展现状与对策研究[J]. *中国工程科学*, 2021, 23(6): 155-166.
WANG ZX. China's polylactic acid industry: current status and development strategies[J]. *Strategic Study of CAE*, 2021, 23(6): 155-166 (in Chinese).
- [17] ZHOU L, NIU DD, TIAN KM, CHEN XZ, PRIOR BA, SHEN W, SHI GY, SINGH S, WANG ZX. Genetically switched D-lactate production in *Escherichia coli*[J]. *Metabolic Engineering*, 2012, 14(5): 560-568.
- [18] NIU DD, TIAN KM, PRIOR BA, WANG M, WANG ZX, LU FP, SINGH S. Highly efficient L-lactate production using engineered *Escherichia coli* with dissimilar temperature optima for L-lactate formation and cell growth[J]. *Microbial Cell Factories*, 2014,

- 13(1): 1-11.
- [19] BAEK SH, KWON EY, BAE SJ, CHO BR, KIM SY, HAHN JS. Improvement of D-lactic acid production in *Saccharomyces cerevisiae* under acidic conditions by evolutionary and rational metabolic engineering[J]. Biotechnology Journal, 2017, 12(10): 1700015.
- [20] SONG JY, PARK JS, KANG CD, CHO HY, YANG D, LEE S, CHO KM. Introduction of a bacterial acetyl-CoA synthesis pathway improves lactic acid production in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Metabolic Engineering, 2016, 35: 38-45.
- [21] ZHOU XD, YE LD, WU JC. Efficient production of L-lactic acid by newly isolated thermophilic *Bacillus coagulans* WCP10-4 with high glucose tolerance[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2013, 97(10): 4309-4314.
- [22] 张勤, 张梁, 丁重阳, 王正祥, 石贵阳. 代谢工程改造野生耐酸酵母生产 L-乳酸[J]. 生物工程学报, 2011, 27(7): 1024-1031.
- ZHANG Q, ZHANG L, DING CY, WANG ZX, SHI GY. Metabolic engineering of wild acid-resistant yeast for L-lactic acid production[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2011, 27(7): 1024-1031 (in Chinese).
- [23] PARK HJ, BAE JH, KO HJ, LEE SH, SUNG BH, HAN JI, SOHN JH. Low-pH production of D-lactic acid using newly isolated acid tolerant yeast *Pichia kudriavzevii* NG7[J]. Biotechnology and Bioengineering, 2018, 115(9): 2232-2242.
- [24] PÉREZ AD, van der BRUGGEN B, FONTALVO J. Modeling of a liquid membrane in Taylor flow integrated with lactic acid fermentation[J]. Chemical Engineering and Processing-Process Intensification, 2019, 144: 107643.
- [25] ZHU Y, EITEMAN MA, DeWITT K, ALTMAN E. Homolactate fermentation by metabolically engineered *Escherichia coli* strains[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2007, 73(2): 456-464.
- [26] WEHRS M, TANJORE D, ENG T, LIEVENSE J, PRAY TR, MUKHOPADHYAY A. Engineering robust production microbes for large-scale cultivation[J]. Trends in Microbiology, 2019, 27(6): 524-537.
- [27] 孙启梅, 乔凯, 王领民, 高大成, 王崇辉. 发酵液中乳酸的分离提取研究进展[J]. 化工进展, 2016, 35(9): 2656-2662.
- SUN QM, QIAO K, WANG LM, GAO DC, WANG CH. Advances in separation and purification of lactic acid from fermentation broths[J]. Chemical Industry and Engineering Progress, 2016, 35(9): 2656-2662 (in Chinese).
- [28] CASTRO-AGUIRRE E, IÑIGUEZ-FRANCO F, SAMSUDIN H, FANG X, AURAS R. Poly(lactic acid)—mass production, processing, industrial applications, and end of life[J]. Advanced Drug Delivery Reviews, 2016, 107: 333-366.
- [29] TAN CL, TAO F, XU P. Direct carbon capture for the production of high-performance biodegradable plastics by cyanobacterial cell factories[J]. Green Chemistry, 2022, 24(11): 4470-4483.
- [30] GARLOTTA D. A literature review of poly(lactic acid)[J]. Journal of Polymers and the Environment, 2001, 9(2): 63-84.
- [31] 任杰, 王秦峰. 乳酸直接缩聚制备高分子量聚乳酸的方法: CN200310015321.0[P]. 2007-02-07.
- REN J, WANG QF. Method for preparing high molecular weight polylactic acid by direct polycondensation of lactic acid: CN200310015321.0[P]. 2007-02-07.
- [32] FARAH S, ANDERSON DG, LANGER R. Physical and mechanical properties of PLA, and their functions in widespread applications—a comprehensive review[J]. Advanced Drug Delivery Reviews, 2016, 107: 367-392.
- [33] NAMPOOTHIRI KM, NAIR NR, JOHN RP. An overview of the recent developments in polylactide (PLA) research[J]. Bioresource Technology, 2010, 101(22): 8493-8501.
- [34] BENDIX D. Chemical synthesis of polylactide and its copolymers for medical applications[J]. Polymer Degradation and Stability, 1998, 59(1/2/3): 129-135.
- [35] QI X, REN YW, WANG XZ. New advances in the biodegradation of poly(lactic) acid[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2017, 117: 215-223.
- [36] PARK SJ, LEE SY, KIM TW, JUNG YK, YANG TH. Biosynthesis of lactate-containing polyesters by metabolically engineered bacteria[J]. Biotechnology Journal, 2012, 7(2): 199-212.
- [37] LAJUS S, DUSSÉAUX S, VERBEKE J, RIGOUIN C, GUO Z, FATAROVA M, BELLVERT F, BORSENBERGER V, BRESSY M, NICAUD J, MARTY A, BORDES F. Engineering the yeast *Yarrowia lipolytica* for production of polylactic acid homopolymer[J]. Frontiers in bioengineering and biotechnology, 2020, 8: 954.
- [38] YLINEN A, MAAHEIMO H, ANGHELESCU-HAKALA A, PENTTILÄ M, SALUSJÄRVI L,

- TOIVARI M. Production of D-lactic acid containing polyhydroxyalkanoate polymers in yeast *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 2021, 48(5/6): kuab028.
- [39] PlasticsEurope: Plastics-the Facts[EB/OL], 2021. <https://plasticseurope.org/knowledge-hub/plastics-the-facts-2021/>.
- [40] 刘春阳, 叶强. 聚乳酸产业发展机遇与挑战[J]. 当代石油石化, 2022, 30(1): 22-27.
LIU CY, YE Q. Development opportunities and challenges of polylactic acid industry[J]. Petroleum & Petrochemical Today, 2022, 30(1): 22-27 (in Chinese).
- [41] NAIR NR, SEKHAR VC, NAMPOOTHIRI KM, PANDEY A. Current Developments in Biotechnology and Bioengineering[M]. Amsterdam: Elsevier, 2017: 739-755.
- [42] WANG GX, HUANG D, JI JH, VÖLKER C, WURM FR. Seawater-degradable polymers—fighting the marine plastic pollution[J]. Advanced Science, 2021, 8(1): 2001121.
- [43] 金琰, 蔡凡凡, 王立功, 宋超, 金文雄, 孙俊芳, 刘广青, 陈畅. 生物可降解塑料在不同环境条件下的降解研究进展[J]. 生物工程学报, 2022, 38(5): 1784-1808.
JIN Y, CAI FF, WANG LG, SONG C, JIN WX, SUN JF, LIU GQ, CHEN C. Advance in the degradation of biodegradable plastics in different environments[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2022, 38(5): 1784-1808 (in Chinese).
- [44] TEIXEIRA S, EBLAGON KM, MIRANDA F, PEREIRA MFR, FIGUEIREDO JL. Towards controlled degradation of poly(lactic) acid in technical applications[J]. Journal of Carbon Research, 2021, 7(2): 42.
- [45] KARAMANLIOGLU M, PREZIOSI R, ROBSON GD. Abiotic and biotic environmental degradation of the bioplastic polymer poly(lactic acid): a review[J]. Polymer Degradation and Stability, 2017, 137: 122-130.
- [46] TOMITA K, TSUJI H, NAKAJIMA T, KIKUCHI Y, IKARASHI K, IKEDA N. Degradation of poly(D-lactic acid) by a thermophile[J]. Polymer Degradation and Stability, 2003, 81(1): 167-171.
- [47] MACHADO AV, ARAÚJO AIS, OLIVEIRA M. Assessment of Polymer-Based Nanocomposites Biodegradability[M]. New York: Nova Science Press, 2015: 1-28.
- [48] BUTBUNCHU N, PATHOM-AREE W. Actinobacteria as promising candidate for polylactic acid type bioplastic degradation[J]. Frontiers in Microbiology, 2019, 10: 2834.
- [49] PRANAMUDA H, TOKIWA Y, TANAKA H. Polylactide degradation by an *Amycolatopsis* sp.[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1997, 63(4): 1637-1640.
- [50] NAKAMURA K, TOMITA T, ABE N, KAMIO Y. Purification and characterization of an extracellular poly(L-lactic acid) depolymerase from a soil isolate, *Amycolatopsis* sp. strain K104-1[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2001, 67(1): 345-353.
- [51] BUBPACHAT T, SOMBATSOMPOP N, PRAPAGDEE B. Isolation and role of polylactic acid-degrading bacteria on degrading enzymes productions and PLA biodegradability at mesophilic conditions[J]. Polymer Degradation and Stability, 2018, 152: 75-85.
- [52] TOMITA K, KUROKI Y, NAGAI K. Isolation of thermophiles degrading poly(L-lactic acid)[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 1999, 87(6): 752-755.
- [53] SAADI Z, RASMONT A, CESAR G, BEWA H, BENGUIGUI L. Fungal degradation of poly(L-lactide) in soil and in compost[J]. Journal of Polymers and the Environment, 2012, 20(2): 273-282.
- [54] TORRES A, LI SM, ROUSSOS S, VERT M. Degradation of L- and DL-lactic acid oligomers in the presence of *Fusarium moniliforme* and *Pseudomonas putida*[J]. Journal of Environmental Polymer Degradation, 1996, 4(4): 213-223.
- [55] LIPSA R, TUDORACHI N, DARIE-NITA RN, OPRICĂ L, VASILE C, CHIRIAC A. Biodegradation of poly(lactic acid) and some of its based systems with *Trichoderma viride*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2016, 88: 515-526.
- [56] YAMASHITA K, KIKKAWA Y, KUROKAWA K, DOI Y. Enzymatic degradation of poly(L-lactide) film by proteinase K: quartz crystal microbalance and atomic force microscopy study[J]. Biomacromolecules, 2005, 6(2): 850-857.
- [57] LI F, WANG S, LIU WF, CHEN GJ. Purification and characterization of poly(L-lactic acid)-degrading enzymes from *Amycolatopsis orientalis* ssp. *orientalis*[J]. FEMS Microbiology Letters, 2008, 282(1): 52-58.
- [58] SUKKHUM S, TOKUYAMA S, TAMURA T, KITPREECHAVANICH V. A novel poly (L-lactide) degrading actinomycetes isolated from Thai forest soil,

- phylogenetic relationship and the enzyme characterization[J]. The Journal of General and Applied Microbiology, 2009, 55(6): 459-467.
- [59] HANPHAKPHOOM S, MANEEWONG N, SUKKHUM S, TOKUYAMA S, KITPREECHAVANICH V. Characterization of poly(L-lactide)-degrading enzyme produced by thermophilic filamentous bacteria *Laceyella sacchari* LP175[J]. The Journal of General and Applied Microbiology, 2014, 60(1): 13-22.
- [60] HAJIGHASEMI M, NOCEK BP, TCHIGVINTSEV A, BROWN G, FLICK R, XU XH, CUI H, HAI T, JOACHIMIAK A, GOLYSHIN PN, SAVCHENKO A, EDWARDS EA, YAKUNIN AF. Biochemical and structural insights into enzymatic depolymerization of polylactic acid and other polyesters by microbial carboxylesterases[J]. Biomacromolecules, 2016, 17(6): 2027-2039.
- [61] NOMURA N, SHIGENO-AKUTSU Y, NAKAJIMA-KAMBE T, NAKAHARA T. Cloning and sequence analysis of a polyurethane esterase of *Comamonas acidovorans* TB-35[J]. Journal of Fermentation and Bioengineering, 1998, 86(4): 339-345.
- [62] MAYUMI D, AKUTSU-SHIGENO Y, UCHIYAMA H, NOMURA N, NAKAJIMA-KAMBE T. Identification and characterization of novel poly(DL-lactic acid) depolymerases from metagenome[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2008, 79(5): 743-750.
- [63] ANATOLI T, HAI T, ANA P, FILIP K, GREG B, ROBERT F, MAHBOD H, OLGA E, SOMODY JOSEPH C, DMITRI T, ANNA K, CHERNIKOVA TATYANA N, GOLYSHINA OLGA V, YAKIMOV MICHAEL M, ALEXEI S, GOLYSHIN PETER N, KARL-ERICH J, YAKUNIN ALEXANDER F. The environment shapes microbial enzymes: five cold-active and salt-resistant carboxylesterases from marine metagenomes[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2015, 99(5): 2165-2178.
- [64] AKUTSU-SHIGENO Y, TEERAPHATPORNCHAI T, TEAMTISONG K, NOMURA N, UCHIYAMA H, NAKAHARA T, NAKAJIMA-KAMBE T. Cloning and sequencing of a poly(DL-lactic acid) depolymerase gene from *Paenibacillus amylolyticus* strain TB-13 and its functional expression in *Escherichia coli*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2003, 69(5): 2498-2504.
- [65] HOSHINO A, ISONO Y. Degradation of aliphatic polyester films by commercially available lipases with special reference to rapid and complete degradation of poly(L-lactide) film by lipase PL derived from *Alcaligenes* sp.[J]. Biodegradation, 2002, 13(2): 141-147.
- [66] MASAKI K, KAMINI NR, IKEDA H, IEFUJI H. Cutinase-like enzyme from the yeast *Cryptococcus* sp. strain S-2 hydrolyzes polylactic acid and other biodegradable plastics[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, 71(11): 7548-7550.
- [67] 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 cellulositica*[J]. Biotechnology and Bioengineering, 2017, 114(11): 2481-2488.
- [68] KAWAI F, ODA M, TAMASHIRO T, WAKU T, TANAKA N, YAMAMOTO M, MIZUSHIMA H, MIYAKAWA T, TANOKURA M. A novel Ca^{2+} -activated, thermostabilized polyesterase capable of hydrolyzing polyethylene terephthalate from *Saccharomonospora viridis* AHK190[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2014, 98(24): 10053-10064.
- [69] GAMBARINI V, PANTOS O, KINGSBURY JM, WEAVER L, HANDLEY KM, LEAR G. PlasticDB: a database of microorganisms and proteins linked to plastic biodegradation[J]. Database, 2022: baac008.
- [70] BUCHHOLZ PCF, FEUERRIEGEL G, ZHANG HL, PEREZ-GARCIA P, NOVER LL, CHOW J, STREIT WR, PLEISS J. Plastics degradation by hydrolytic enzymes: the plastics-active enzymes database—PAZy[J]. Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics, 2022, 90(7): 1443-1456.
- [71] CONSORTIUM TU. UniProt: a worldwide hub of protein knowledge[J]. Nucleic Acids Research, 2019, 47(D1): D506-D515.
- [72] TAMURA K, STECHER G, KUMAR S. MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11[J]. Molecular Biology and Evolution, 2021, 38(7): 3022-3027.
- [73] KAWAI F, NAKADAI K, NISHIOKA E, NAKAJIMA H, OHARA H, MASAKI K, IEFUJI H. Different enantioselectivity of two types of poly(lactic acid) depolymerases toward poly(L-lactic acid) and poly(D-lactic acid)[J]. Polymer Degradation and Stability, 2011, 96(7): 1342-1348.

- [74] SUSSMAN JL, LIN DW, JIANG JS, MANNING NO, PRILUSKY J, RITTER O, ABOLA EE. Protein data bank (PDB): database of three-dimensional structural information of biological macromolecules[J]. Acta Crystallographica Section D Biological Crystallography, 1998, 54(6): 1078-1084.
- [75] VARADI M, ANYANGO S, DESHPANDE M, NAIR S, NATASSIA C, YORDANOVA G, YUAN D, STROE O, WOOD G, LAYDON A, ŽÍDEK A, GREEN T, TUNYASUVUNAKOOL K, PETERSEN S, JUMPER J, CLANCY E, GREEN R, VORA A, LUTFI M, FIGURNOV M, et al. AlphaFold protein structure database: massively expanding the structural coverage of protein-sequence space with high-accuracy models[J]. Nucleic Acids Research, 2022, 50(D1): D439-D444.
- [76] ELSAWY MA, KIM KH, PARK JW, DEEP A. Hydrolytic degradation of polylactic acid (PLA) and its composites[J]. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 2017, 79: 1346-1352.
- [77] BIKIARIS DN. Nanocomposites of aliphatic polyesters: an overview of the effect of different nanofillers on enzymatic hydrolysis and biodegradation of polyesters[J]. Polymer Degradation and Stability, 2013, 98(9): 1908-1928.
- [78] NAKAYAMA A, KAWASAKI N, AIBA S, MAEDA Y, ARVANITOYANNIS I, YAMAMOTO N. Synthesis and biodegradability of novel copolyesters containing γ -butyrolactone units[J]. Polymer, 1998, 39(5): 1213-1222.
- [79] LUZI F, FORTUNATI E, PUGLIA D, PETRUCCI R, KENNY JM, TORRE L. Study of disintegrability in compost and enzymatic degradation of PLA and PLA nanocomposites reinforced with cellulose nanocrystals extracted from *Posidonia Oceanica*[J]. Polymer Degradation and Stability, 2015, 121: 105-115.
- [80] WILLIAMS DF. Enzymic hydrolysis of polylactic acid[J]. Engineering in Medicine, 1981, 10(1): 5-7.
- [81] HEDSTROM L. Serine protease mechanism and specificity[J]. Chemical Reviews, 2002, 102(12): 4501-4524.
- [82] LI CH, MOORE-KUCERA J, MILES C, LEONAS K, LEE J, CORBIN A, INGLIS D. Degradation of potentially biodegradable plastic mulch films at three diverse U.S. locations[J]. Agroecology and Sustainable Food Systems, 2014, 38(8): 861-889.
- [83] BONIFER KS, WEN XF, HASIM S, PHILLIPS EK, DUNLAP RN, GANN ER, DeBRUYN JM, REYNOLDS TB. *Bacillus pumilus* B12 degrades polylactic acid and degradation is affected by changing nutrient conditions[J]. Frontiers in Microbiology, 2019, 10: 2548.
- [84] HANDTKE S, SCHROETER R, JÜRGEN B, METHLING K, SCHLÜTER R, ALBRECHT D, van HIJUM SAFT, BONGAERTS J, MAURER KH, LALK M, SCHWEDER T, HECKER M, VOIGT B. *Bacillus pumilus* reveals a remarkably high resistance to hydrogen peroxide provoked oxidative stress[J]. PLoS One, 2014, 9(1): e85625.
- [85] LINK L, SAWYER J, VENKATESWARAN K, NICHOLSON W. Extreme spore UV resistance of *Bacillus pumilus* isolates obtained from an ultraclean spacecraft assembly facility[J]. Microbial Ecology, 2004, 47(2): 159-163.
- [86] RICHARDSON K, DENISE HARDESTY B, WILCOX C. Estimates of fishing gear loss rates at a global scale: a literature review and meta-analysis[J]. Fish and Fisheries, 2019, 20(6): 1218-1231.
- [87] HUANG QY, HIYAMA M, KABE T, KIMURA S, IWATA T. Enzymatic self-biodegradation of poly(L-lactic acid) films by embedded heat-treated and immobilized proteinase K[J]. Biomacromolecules, 2020, 21(8): 3301-3307.
- [88] 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.
- [89] 钱伯章. Carbios 公司可在 48 h 内完成 PLA 解聚过程[J]. 聚酯工业, 2015, 28(1): 35.
QIAN BZ. Carbios can complete the depolymerization process of PLA within 48 h[J]. Polyester Industry, 2015, 28(1): 35 (in Chinese).
- [90] PANYACHANAKUL T, KITPREECHAVANICH V, TOKUYAMA S, KRAJANGSANG S. Poly(DL-lactide)-degrading enzyme production by immobilized *Actinomadura keratinolytica* strain T16-1 in a 5-L fermenter under various fermentation processes[J]. Electronic Journal of Biotechnology, 2017, 30: 71-76.

(本文责编 郝丽芳)