

文章编号:1673-1689(2008)05-0008-07

生物降解聚乙烯醇研究进展

李敏^{1,2}, 堵国成^{*1,2}, 陈坚^{1,2}

(1. 江南大学 工业生物技术教育部重点实验室, 江苏 无锡 214122; 2. 江南大学 生物工程学院, 江苏 无锡 214122)

摘 要: 聚乙烯醇(PVA)在纺织工业中被广泛用作上浆剂。经 PVA 上浆的棉织物必须经过退浆处理,以增加棉织物对水的吸收性。相对于传统的热退浆法,生物降解 PVA 可以节省较多的热能,其生物分解性好,没有二次污染。因此,很多研究者致力于 PVA 的生物降解的研究并已取得一定的研究成果。在总结文献的基础上,重点介绍了 PVA 降解菌的培养特性、共生关系, PVA 降解酶的性质及对 PVA 的生物降解过程, PVA 降解酶相关基因的研究进展,并给出了 PVA 降解酶将来可能的发展方向。

关键词: 聚乙烯醇; PVA 降解酶; 生物降解

中图分类号: X 791

文献标识码: A

Biodegradation of Polyvinyl Alcohol

LI Min^{1,2}, DU Guo-cheng^{*1,2}, CHEN Jian^{1,2}

(1. Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, Jiangnan University, Wuxi 214122, China;
2. School of Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: Polyvinyl alcohol was widely used as sizing agent in textile industry. Cotton fabrics treated with PVA must be desized so as to enhance the water soluble ability of cotton fabrics. Compared with the traditional desizing method with hot water, biodegradation of PVA is an alternative approach because of the free of heat energy and good bio-decomposable and no second pollution. Therefore, more and more interests were attracted to biodegradation of PVA. In this review, cultural characteristics and symbiotic pattern of PVA-degrading microorganisms, characteristics of PVA-degrading enzyme and the degrading mechanism, cloning and expression of PVA-degrading enzyme gene were focused. Finally, some suggestions were put forward to improve the research in this field in the near future.

Key words: Polyvinyl alcohol(PVA); PVA degrading enzyme; Biodegradation

聚乙烯醇(PVA)是唯一的可被某些细菌作为 碳源和能源利用的乙烯基聚合物^[1-7],其广泛应用

收稿日期:2008-08-25.

基金项目:国家科技部高技术研究发展计划 863 项目(2003AA322050);江苏省高技术研究项目(BG2005016).

作者简介:李敏(1979-),女,内蒙古巴彦淖尔人,工学博士.

* 通讯作者:堵国成(1965-),男,江苏常州人,工学博士,教授,博士生导师,主要从事发酵工程方面的研究.

Email: gcdu@jiangnan.edu.cn

于粘合剂、造纸和纺织工业。这就导致 PVA 成为工业废水中最主要的污染物之一,尤其是在纺织工业中更为突出。自然环境中 PVA 很难降解,废水中的 PVA 必须被除去后才能排出^[8]。目前,纺织业中 PVA 的退浆主要采用热处理法。该法虽然操作简单易行,但存在成本高、环境污染严重等缺点;而酶法降解 PVA 生物分解性好,没有二次污染,而且可以节省较多的热能,减轻下游污水的生物处理难度,因此对 PVA 生物降解的研究得到了较多的重视。

早在 20 世纪 70 年代,就有学者开始对 PVA 的生物降解进行了研究,并取得了一系列的研究成果。自从 Suzuki 研究小组以 PVA 为唯一碳源分离到了第一株能够降解 PVA 的细菌 *Pseudomonas* O-3 之后^[1],其他研究者们也陆续发现了另外一些能够降解 PVA 的微生物,包括单菌、共生菌和混合菌^[9-11]。PVA 降解过程中有几种不同的酶系^[5],PVA 主链上的碳-碳键首先被氧化酶或脱氢酶切割,然后经水解酶或醛缩酶作用,最终被降解^[5]。我国在近几年才对 PVA 的生物降解进行了研究,主要集中于 PVA 降解酶生产菌的筛选,发酵条件优化等。国际上已对 PVA 降解过程中的关键酶进行了分离纯化及基因的克隆表达的研究工作,对 PVA 的降解机理进行了深入的研究,并对得到的酶进行了酶学性质及应用研究^[12-15]。但这些研究工作与 PVA 降解酶在实践中的应用还有相当远的距离,到目前为止 PVA 降解酶还没有实现工业化生产^[13]。

1 PVA 降解菌的培养特性及对 PVA 的降解能力

能利用 PVA 的微生物不是普遍存在的,而是分布在一定的地区。已发现的能降解 PVA 的微生物绝大多数都是细菌,其中研究的最多的菌是 *Pseudomonas* 属的一些菌株^[11, 15-17],其它细菌如 *Sphingopyxis* sp. PVA3^[18]、*Alcaligenes faecalis* KK314^[19]、*Bacillus megaterium* BX1^[4]等也有降解 PVA 的能力。另外,本研究室先后筛选到了可降解 PVA 的 *Penicillium* sp. WSH02-21^[20]和 *Streptomyces venezuelae* GY11^[21],这是关于青霉菌和放线菌产生 PVA 降解酶的首次报道。

研究者同时对菌株降解 PVA 的能力进行了考察,*Sphingopyxis* sp. PVA3 培养 6 d 后,可降解 90% 的初始浓度为 0.1 g/L 的 PVA^[19],*Achromobacter cholinophagum* SB98 在 46 d 内可降解

75% 初始浓度为 0.01 g/L 的 PVA^[19],*Penicillium* sp. WSH02-21 在 12 d 内可完全降解 5 g/L 的 PVA^[21],而 *Streptomyces venezuelae* GY1 不能完全降解培养基中的 PVA^[22]。Sakasawa 在研究微生物降解水溶性合成聚合物的过程中首次发现了 PVA 降解菌的共生现象^[17]。*Bacillus megaterium* 只有在与另外一株菌 PN19 共生时才能降解 PVA^[4]。*Cardiobacterium* sp. SB68 与 SB69 共生时在 46 d 内可降解 75% 初始浓度为 0.01 g/L PVA^[23]。*Sphingomonas* sp. 与共生菌 14 d 可降解 0.5 g/L PVA^[24]。共生菌 B₁ 和 B₂ 不能完全降解培养基中的 PVA^[25, 26]。由此可见,无论单菌还是共生菌对 PVA 的降解性都很差,而且共生菌株在生长或降解 PVA 过程中需要 PQQ 或其它生长因子,使生产成本昂贵^[7, 23]。那么是否可以通过驯化混合菌群达到对这种高聚物的彻底降解? 因此,本研究小组致力于从纺织厂被 PVA 污染的下水道筛选混合菌系,事实证明,筛选到的菌系有很好的降解 PVA 的能力,在 36h 内可完全降解 1 g/L 的 PVA^[27],经驯化后,48~72 h 可完全降解 5 g/L 的 PVA。

2 PVA 降解菌的共生模式

许多 PVA 降解菌对 PVA 的利用常依赖于其它菌提供它们不同的生长因子。PVA 降解共生菌中,*Pseudomonas* sp. VM15C 产生 PVA 降解酶,共生菌 VM15A 为其提供生长因子 PQQ。PQQ 不仅对提高 VM15C 的生长率和细胞浓度,而且对 *Pseudomonas* sp. VM15C 生物降解 PVA 是必需的。后来,其他研究者也分离到了从共生细菌或从环境中获得 PQQ 的类似共生细菌^[7, 22, 27]。

也有其他研究者提出了不同于上述的共生关系。*Pseudomonas vesicularis* var. *povalolyticus* PH 需要 VB₁ 作为生长因子,在降解 PVA 过程中除了 VB₁,还需要添加胱氨酸、异亮氨酸和酪氨酸,这些因子可由其共生菌 *Flavobacterium* sp. 提供^[28]。*Bacillus megaterium* BX1 和其革兰氏阳性共生菌是一种不需要 PQQ 的共生行为,两种菌共生时,可显著降解 PVA,而单一菌株对 PVA 的降解能力非常有限,但共生菌的作用尚不清楚^[4]。*Sphingomonas* sp. 需要从环境或其共生菌中获得 PQQ 和另外一个生长因子,由共生菌株 *Rhodococcus erythropolis* 提供,而 PVA 降解菌可能通过释放 PVA 代谢中产生的相对低分子质量产物为共生菌

提供生长因子^[23]。*Sphingomonas* sp. 在降解 PVA 过程中需要过氧化氢酶(无论过氧化氢酶是否有活性),这可能是由过氧化氢酶分子中存在的特殊的化学结构——如细菌易接受的亚铁血红素结构决定的^[23]。PVA 降解菌中的共生现象说明环境中 PVA 降解过程的复杂性,也说明不同于 PQQ 的其它因子在 PVA 降解过程中也是很重要的,研究这些不同的生长因子是如何提高 PVA 的生物降解性对理解 PVA 的降解机理是十分必要的,这些因子是否参与到 PVA 降解过程中关键酶基因的调控表达或直接用于合成酶基因序列,这些问题都有待进一步解决。

3 PVA 降解酶的性质

Pseudomonas O-3 只有在以 PVA 为碳源时才产生 PVA 降解酶,而在其它碳源培养基上并未检测到酶活,由此认为 PVA 降解酶是诱导型酶^[1]。然而,*Pseudomonas* sp. VM15C 即使在不含 PVA 的营养肉汤培养基上也可产生 PVA 降解酶,这表明 VM15C 所产的 PVA 降解酶是组成型酶或至少不是只被 PVA 诱导的酶^[16]。

PVA 脱氢酶是酞蛋白酶中第一个仲醇脱氢酶^[29],其利用人工电子受体如 PES(phenazine ethosulfate)而不利用 O_2 ,PVA 氧化酶除了 O_2 也利用人工电子受体,也表现出脱氢酶活性^[30]。*Alcaligenes faecalis* KK314 中纯化出的膜结合的需 PQQ 的脱氢酶与从 *Sphingomonas* sp. 113P3 和 *Pseudomonas* sp. VM15C 中纯化的脱氢酶有相似的相对分子质量并含有血红素。因此认为,从不同的 PVA 利用细菌中得到的脱氢酶都是酞血红素蛋白,位于周质或膜上,是可溶性蛋白^[31]。*Sphingomonas* sp. strain 113P3 的脱氢酶和水解酶都是组成型酶,其活性绝大部分表现在周质^[17]。*Pseudomonas* sp. VM15C 脱氢酶和水解酶是膜上酶,说明这 2 个菌株 PVA 降解的反应位点是在周质^[32]。从 *Pseudomonas vesicularis* PD 的细胞质部分纯化得到的酯酶可催化 PVA 侧链的乙酰酯键的水解反应^[33]。因此,不同菌株所产的 PVA 降解酶在分布和性质上有很大差异。

Pseudomonas 中纯化得到的 PVA 降解酶,不仅对 PVA,而且对不同的相对低分子质量仲醇都有活性^[34-36]。从 *Pseudomonas* sp. VM15C 膜上纯化出的 PVA 氧化酶对几种仲醇如 2-丙醇、3-戊醇、2-己醇、4-庚醇和 2,5-己二醇都表现出催化活性^[30]。

Pseudomonas vesicularis var. *povalolyticus* PH 纯化出的 PVA 氧化酶对长链仲醇如 4-庚醇、2-辛醇和 4-正癸醇有很强的催化活性,对环己醇和苯甲基醇也有较强的催化活性^[37]。从膜上纯化的 PVA 脱氢酶对仲醇和 2,3-丁二醇、2,5-己二醇都有很高的脱氢酶活性^[30]。由 *Pseudomonas* sp. 113P3 纯化得到的脱氢酶,对 PVA 和己二醇如 1,3-丁二醇、1,3-和 2,4-戊二醇有活性,但对伯醇和仲醇无催化活性^[38-40]。由此可以看出,微生物对 PVA 的降解能力不仅表现在对 PVA 的利用中,更表现在催化除 PVA 之外的反应的一类酶的广泛的底物专一性上。

4 PVA 的生物降解过程

由于 PVA 氧化酶是诱导酶并可分泌到培养基中,所以 PVA 在胞外被降解,降解的中间产物被吸收进入细胞,被降解的 PVA 或其它代谢产物可能诱导产酶^[18]。Sakai 认为 PVA 先由氧化酶氧化成为带有羰基的化合物,然后水解成为小分子化合物^[35]。而 *Pseudomonas vesicularis* sp. PD 分泌的仲醇氧化酶通过连续的羟基的氧化作用将 PVA 链上的 1,3-二醇转化成 β -双酮^[3,15]。*Pseudomonas* sp. VM15C 产生大量的 PVA 氧化酶,被降解的 PVA 可能进入周质并在周质被进一步降解^[38]。Sakai 认为 PVA 经氧化后,中间产物中带有羰基及羧基,用纯化得到的 PVA 氧化酶作用 PVA 溶液,会产生 H_2O_2 ,但溶液粘度不会下降;而如果随后加入水解酶,溶液粘度也会随之下降^[41],这说明氧化酶和水解酶共同作用降解 PVA。

而 PVA 脱氢酶是膜结合酶或周质酶^[17,30],PVA 必须进入周质才能被降解。*Sphingopyxis* sp. 113P3 不产生任何 PVA 氧化酶^[39],PVA 脱氢酶和氧化型 PVA 水解酶位于周质,因此,整个 PVA 分子必须一起进入周质并与周质酶反应^[17],*Pseudomonas* sp. 113P3 分泌的脱氢酶将 PVA 链上的 1,3-二醇直接转化成 β -双酮^[42]。另有研究者认为,脱氢酶作用 PVA 时,PVA 的羟基首先在酶作用下脱氢成相应的羰基再形成 β -羟基酮化合物, β -羟基酮化合物在醛缩反应下被进一步降解为甲基酮和乙醛。乙醛可以在酶作用下进一步脱氢生成乙酸^[19]。

菌株 *Sphingomonas* sp. 生长需要 PQQ,说明有脱氢酶活性存在,但没有测到脱氢酶活性,而以不同低分子量醇作为底物可明显检测到脱氢酶活性,很有可能是由于大分子量底物不能进入到酶的

活性中心。而可明显检测到 PVA 氧化酶活性,说明底物更容易进入氧化酶的活性中心。这说明 PVA 降解酶并不是胞外酶,有可能位于细菌的外膜的外表面^[23]。因此,PVA 降解是在 PVA 氧化酶和可能的水解酶或裂解酶的作用下^[43],PVA 大分子降解为可以通过外膜的小分子化合物,随后通过脱氢酶作用,并将产生的能量储存在电子传递链中,这可能与鞘氨醇单胞菌中存在的特殊的运输和利用大分子底物的生物系统有相似的功能^[42]。

PQQ 是组成 PVA 脱氢酶的基本辅因子^[27],在某些醇脱氢酶中,含有 PQQ 和亚铁血红素辅因子^[44]。据报道某些革兰氏阴性细菌在氧化醇或醛糖时可产生 PQQ^[45],推测 PQQ 作为辅酶吸收 PVA 脱氢酶对 PVA 的脱氢作用之后产生的能量。PVA 脱氢酶利用细胞色素 C 作为主要的电子受体,PVA 的脱氢作用使细胞色素 C 含量减少^[30]。从 PVA 脱氢酶到细胞色素 C 的电子传递是否需要其它电子载体尚需要验证^[30]。含 PQQ 的脱氢酶可以与电子传递链相连。因此,必须位于细胞质膜附近,即是膜结合酶或周质可溶性酶^[30]。PVA 脱氢酶伴随着 PVA 降解菌 *Pseudomonas* sp. VM15C 的电子传递链,更进一步证明了 ATP 的合成可能与 PVA 脱氢酶对 PVA 的脱氢作用有关^[29]。

因此,一般认为在 PVA 的降解中存在两种体系^[43],一种是 PVA 氧化酶与氧化型 PVA 水解酶共同作用,PVA 氧化酶是胞外酶,可以与氧化型 PVA 水解酶共同作用降解 PVA^[3, 11, 18, 35];另一种降解体系有需 PQQ 的 PVA 脱氢酶和氧化型 PVA 水解酶^[5, 17, 32, 39],PVA 脱氢酶是膜结合酶^[32]或周质酶^[17],这说明 PVA 是在周质部分被降解的,PVA 必须进入周质与 PVA 脱氢酶结合。所以 PVA 的降解途径很可能是胞外酶将 PVA 分子的长链切割,被切割的短链分子进入细胞,由膜上酶或周质酶共同作用进一步降解。*Pseudomonas* sp. VM15C 所产的脱氢酶和水解酶都存在于细胞表面,这对降解 PVA 是必须的^[32]。

另外,细胞表面结构与 PVA 的降解可能也有关系。*Sphingopyxis* sp. 113P3 形成了由 PVA 诱导而产生的特殊的细胞表面超微结构的变化,提高了对 PVA 的吸收,细胞壁上形成的凹陷可能起到降解 PVA 的作用,猜想 PVA 可能调节与吸收和降解 PVA 有关的基因的表达。*Sphingopyxis* sp. 113P3 吸收 PVA 分子进入胞内也许开启了研究膜运输高分子化合物的新纪元^[46]。*Sphingomonas* 属的细菌细胞外膜上含有神经鞘氨糖酯,细胞膜的这

种结构有利于细胞外的物质进入细胞^[46]。*Sphingomonas* 还可以在胞内降解聚乙二醇、聚乙烯和聚天门冬氨酸,这些都是和它的独特的细胞膜结构是分不开的^[46]。

5 PVA 降解酶相关的基因

为了进一步认识 PVA 降解酶的作用机制和分泌机制,Shimao 等人第一次将 PVA 脱氢酶及水解酶的基因解析出来^[32]。PVA 脱氢酶的基因(pvaA)和氧化型 PVA 水解酶的基因(pvaB)以基因簇的形式存在于一个操纵子中,排列为 pvaBA,在该操纵子中已经发现了一个启动子与终止子的序列^[47]。pvaB 第一次从假单胞菌 VM15C 中克隆得到,该基因编码 379 个氨基酸残基,根据推测的氨基酸序列,该蛋白含有一个膜蛋白信号肽和一个含丝氨酸活性中心。该酶可以被丝氨酸蛋白特异性抑制剂(PMSF)完全抑制,所以,*E. coli* JM101(pMSVA11)中表达的 pvaB 基因的表达产物很可能是丝氨酸型水解酶。由膜蛋白的信号肽可以推测出该蛋白为膜结合蛋白。可溶性部分有相对较高的酶活。氧化型 PVA 水解酶可能是色氨酸水解酶,Ser203 可能是活性中心^[32]。编码 PVA 脱氢酶的 pvaA 基因被克隆并在大肠杆菌中表达,重组酶与 *Sphingomonas* sp. 113P3 中纯化出来的脱氢酶有相同的性质^[12]。

斑点印迹杂交和 RT-PCR 表明细胞色素 c 与编码氧化型 PVA 水解酶和 PVA 脱氢酶的三个基因是组成型表达并形成一个启动子,表明电子传递是从 PQQ 到血红素 C 再到细胞色素 C 的^[12]。包含在 pva 操纵子中的细胞色素 C 是 PVA 脱氢酶主要的生理电子受体。假单胞菌中,蓝蛋白是周质的自然电子受体,推测鞘氨醇单胞菌细胞色素 C 也可能扮演着与蓝蛋白同样的角色^[48]。

另外,在大肠杆菌中用载体 Puc18 构建了 PVA 降解菌 *Pseudomonas* sp. VM15C 的基因文库。编码 PVA 脱氢酶基因的蛋白有 639 个氨基酸残基,发现有一个血红素结合位点和一个 PQQ 结合位点,氨基酸序列表明与其它醌蛋白脱氢酶有较低的相似性^[49]。

6 结 语

由于能够降解 PVA 的微生物在自然界中分布不广泛,单一微生物难于彻底降解 PVA,PVA 降解

酶的提取困难,酶活低等原因,目前 PVA 的生物酶降解还难以产业化。分析现有的研究报道,作者认为,尽管已对 PVA 降解酶生产菌的选育与培养条件、酶的分离纯化与性质等进行了广泛的研究,但这些研究成果与 PVA 降解酶在实际生产中的应用还有很大差距。原因主要为:(1)现有的已报道的 PVA 降解酶生产菌培养周期长,产酶水平低,这是限制 PVA 降解酶工业化生产的首要问题。(2) PVA 降解过程的复杂性及 PVA 降解酶的提取困难。PVA 的生物降解过程中至少需要 2 种酶共同作用才能完全降解,而且对酶与 PVA 的作用机理目前还存在分歧;另外,PVA 降解酶与 PVA 降解过程的中间产物形成一种凝胶状物质,造成 PVA

降解酶的分离纯化非常困难,这些都限制了酶制剂的生产。

为了尽快实现酶法降解 PVA,提高生物降解 PVA 的竞争力,今后的研究工作应集中在:(1)野生菌产酶水平较低,时间较长,构建基因工程菌提高产酶水平是生物降解 PVA 的有效途径;(2)在了解 PVA 的降解机理的基础上,研究 PVA 如何调节 *pva* 操纵子和与 PVA 吸收有关的基因的表达而达到降解 PVA 的目的,从而从生理角度向有利于 PVA 降解酶合成的代谢流方向进行,抑制其它代谢流,提高产酶水平;(3)适于工业应用的酶制剂应是今后研究的重点。

参考文献(References):

- [1] Sakai K, Hamada N, Watanabe Y. Degradation mechanism of poly (vinyl alcohol) by successive reactions of secondary alcohol oxidase and β -diketone hydrolase from *Pseudomonas* sp. [J]. **Agricultural and Biological Chemistry**, 1986, 50(4): 989—996.
- [2] Mori M, Sakimoto M, Kagi T, et al. Isolation and characterization of a strain of *Bacillus megaterium* that degrades poly (vinyl alcohol)[J]. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, 1996, 60: 330—332.
- [3] Shimao M, Tsuda T, Takahashi M, et al. Purification of membrane-bound polyvinyl alcohol oxidase in *Pseudomonas* sp. VM15C[J]. **FEMS Microbiology Letters**, 1983, 20 (3): 429—433.
- [4] Suzuki T, Ichihara Y, Yamada M, et al. Some characteristics of *Pseudomonas* O-3 which utilizes polyvinyl alcohol[J]. **Agricultural and Biological Chemistry**, 1973, 37 (4): 747—756.
- [5] Matsumura S, Tomizawa N, Toki A, et al. Novel (polyvinyl alcohol)-degrading enzyme and the degradation mechanism [J]. **Macromolecules**, 1999, 32: 7753—7761.
- [6] Tokiwa Y, Kawabata G, Jarerat A. A modified method for isolating (polyvinyl alcohol) degrading bacteria and study of their degradation patterns[J]. **Biotechnology Letters**, 2001, 23: 1937—1941.
- [7] Kim B C, Sohn C K, Lim S K, et al. Degradation of polyvinyl alcohol by *Sphingomonas* sp. SA3 and its symbiote[J]. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, 2003, 30: 70—74.
- [8] Solaro R, Corti A, Chiellini E. Biodegradation of poly(vinyl alcohol) with different molecular weights and degree of hydrolysis[J]. **Polymers for Advanced Technologies**, 2000(11): 873—878.
- [9] Corti A, Solaro R, Chiellini E. Biodegradation of poly(vinyl alcohol) in selected mixed microbial culture and relevant culture filtrate[J]. **Polymer Degradation and Stability**, 2002, 75(3): 447—458.
- [10] Shimao M, Fujita I, Kato N, et al. Enhancement of pyrroloquinoline quinone production and polyvinyl alcohol degradation in mixed continuous cultures of *Pseudomonas putida* VM15A and *Pseudomonas* sp. strain VM15C with mixed carbon sources[J]. **Applied and Environmental Microbiology**, 1985, 49(6): 1389—1391.
- [11] Suzuki, T. Purification and some properties of polyvinyl alcohol degrading enzyme produced by *Pseudomonas* O-3[J]. **Agricultural and Biological Chemistry**, 1976, 40, 497—504.
- [12] Hirota MR, Nagai R, Tachibana S, et al. Cloning and expression of the gene for periplasmic poly(vinyl alcohol) dehydrogenase from *Sphingomonas* sp. strain 113P3, a novel-type quinoxaloprotein alcohol dehydrogenase[J]. **Microbiology**, 2006, 152: 1941—1949.
- [13] Mori T, Sakimoto M, Kagi T, et al. Enzymatic Desizing of Polyvinyl Alcohol from Cotton Fabrics[J]. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, 1997, 68, 151—156.
- [14] Du G C, Liu L M, Song Z X, et al. Production of polyvinyl alcohol- degrading enzyme with *Janthinobacterium* sp. and its application in cotton fabric desizing[J]. **Biotechnology Journal**, 2008, 2(6): 752—758.

- [15] Watanabe Y, Hamada N, Morita M, et al. Purification and properties of a polyvinyl alcohol-degrading enzyme produced by a strain of *Pseudomonas*[J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1976, 174: 575—581.
- [16] Sakazawa C, Shimao M, Taniguchi Y, et al. Symbiotic utilization of polyvinyl alcohol by mixed culture[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1981, 41(1): 261—267.
- [17] Klomklang W, Tani A, Kimbara K, et al. Biochemical and molecular characterization of a periplasmic hydrolase for oxidized polyvinyl alcohol from *Sphingomonas* sp. strain 113P3[J]. *Microbiology*, 2005, 151, 1255—1262.
- [18] Yamatsu A, Matsumi R, Atomi H, et al. Isolation and characterization of a novel poly(vinyl alcohol)-degrading bacterium, *Sphingopyxis* sp. PVA3[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2006, 72: 804—811.
- [19] Matsumura S, Shimura Y, Terayama K, et al. Effects of molecular weight and stereoregularity on biodegradation of poly(vinyl alcohol) by *Alcaligenes faecalis*[J]. *Biotechnology Letters*, 1994, 16(11): 1205—1210.
- [20] Qian D, Du G C, Chen J. Isolation and culture characterization of a new polyvinyl alcohol-degrading strain *Penicillium* sp. WSH02-21[J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2004, 20:587—591.
- [21] Zhang Y, Li Y, Shen W, et al. A new strain, *Streptomyces venezuelae* GY1, producing a poly(vinyl alcohol)-degrading enzyme[J]. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 2006, 22: 625—628.
- [22] Lee JA, Kim MN. Isolation of new and potent poly(vinyl alcohol)-degrading strains and their degradation activity[J]. *Polymer Degradation and Stability*, 2003, 81:303—308.
- [23] Vacklavkova T, Ruzicka J, Julinova M, et al. Novel aspects of symbiotic (polyvinyl alcohol) biodegradation[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2007, 76: 911—917.
- [24] 陈朝琼,廖银章,李旭东,等.降解PVA共生菌的分离及PVA降解性能[J].环境科学,2005,26(2):181—184.
CHEN Zhao-qiong, LIAO Yin-zhang, LI Xu-dong, et al. Isolation of PVA-degrading symbiotic bacteria and examination of degradation characters[J]. *Environmental Science*, 2005, 26(2): 181—184. (in Chinese)
- [25] 闫志英,李旭东,袁月祥,等.共生菌B1+B2聚乙烯醇降解酶活性优化研究[J].应用与环境生物学报,2007,13(4):556—560.
YAN Zhi-ying, LI Xu-dong, YUAN Yue-xiang, et al. Optimization of polyvinyl alcohol- degrading enzyme activity of symbiotic bacteria[J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2007, 13 (4) : 556—560. (in Chinese)
- [26] Chen J, Zhang Y, Du G C, et al. Biodegradation of polyvinyl alcohol by a mixed microbial culture[J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 2007, 40: 1686—1691.
- [27] Shimao M, Fukuta I, Kato N, et al. Mixed continuous cultures of polyvinyl alcohol-utilizing symbionts *Pseudomonas putida* VM15A and *Pseudomonas* sp. strain VM15C[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1984, 48(4): 751—754.
- [28] Hashimoto S, Fujita, M. Isolation of bacterium requiring three amino acids for polyvinyl alcohol degradation[J]. *Journal of Fermentation Technology*, 1985, 63, 471—474.
- [29] Shimao M, Onishi S, Kato N. et al. Pyrroloquinoline quinone-dependent cytochrome reduction in polyvinyl alcohol-degrading *Pseudomonas* sp. strain VM15C[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1989, 55(2): 275—278.
- [30] Shimao M, Ninomiya K, Kuno O, et al. Existence of a novel enzyme, pyrroloquinoline quinone-dependent polyvinyl alcohol dehydrogenase, in a bacterial symbiont, *Pseudomonas* sp. strain VM15C[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1986, 51(2): 268—275.
- [31] Toyama H, Mathews F S, Adachi O, et al. Quinohemoprotein alcohol dehydrogenases: structure, function, and physiology[J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2004,428: 10—21.
- [32] Shimao M, Tamogami T, Kishida S, et al. The gene pvaB encodes oxidized polyvinyl alcohol hydrolase of *Pseudomonas* sp. strain VM15C and forms an operon with the polyvinyl alcohol dehydrogenase gene pvaA[J]. *Microbiology*, 2000, 146, 649—657.
- [33] Sakai K, Fukuba M, Hasui Y, et al. Purification and characterization of an esterase involved in poly(vinyl alcohol) degradation by *Pseudomonas vesicularis* PD[J]. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 1998, 62: 2000—2007.
- [34] Morita M, Watanabe Y. A secondary alcohol oxidase: a component of a polyvinyl alcohol degrading enzyme preparation [J]. *Agricultural and Biological Chemistry*, 1977, 41: 1535—1537.
- [35] Morita M, Hamada N, Sakai K, et al. Purification and properties of secondary alcohol oxidase from a strain of *Pseudomonas*[J]. *Agricultural and Biological Chemistry*, 1979, 43: 1225—1235.
- [36] Suzuki T. Oxidation of secondary alcohols by polyvinyl alcohol-degrading enzyme produced by *Pseudomonas* 0-3[J]. *Agricultural and Biological Chemistry*, 1978, 42: 1187—1194.
- [37] Kawagoshi Y, Fujita M. Purification and properties of the polyvinyl alcohol-degrading enzyme 2,4-pentanedione glycolase

- obtained from *Pseudomonas vesicularis* var. *povalolyticus* PH[J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 1998, 14: 95—100.
- [38] Hatanaka T, Asahi N, Tsuji M. Purification and characterization of poly(vinyl alcohol) dehydrogenase from *Pseudomonas* sp. 113P3[J]. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 1995, 59(10): 1813—1816.
- [39] Hatanaka T, Kawahara T, Asahi N, et al. Effects of the structure of poly(vinyl alcohol) on the dehydrogenation reaction by poly(vinyl alcohol) dehydrogenase from *Pseudomonas* sp. 113P3[J]. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 1995, 59(7): 1229—1231.
- [40] Hatanaka T, Hashimoto T, Kawahara T, et al. Biodegradability of oxidized poly(vinyl alcohol)[J]. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 1996, 60(11): 1861—1863.
- [41] Sakai K, Morita M, Hamada N, et al. Purification and properties of oxidized poly(vinyl alcohol)-degrading enzyme[J]. *Agricultural and Biological Chemistry*, 1981, 45(1): 63—71.
- [42] Hashimoto W, Yamasaki M, Itoh T, et al. Super-channel in bacteria, structural and functional aspects of a novel biosystem for the import and depolymerization of macromolecules[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2004, 98: 399—413.
- [43] Kawai F. Sphingomonas involved in the biodegradation of xenobiotic polymers[J]. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 1999, 23: 400—407.
- [44] Matsushita K, Toyama H, Yamada M, et al. Quinoproteins: structure, function, and biotechnological applications[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2002, 58: 13—22.
- [45] Goodwin P M, Anthony C. The biochemistry, physiology and genetics of PQQ and PQQ containing enzymes[J]. *Advances in Microbial Physiology*, 1998, 40: 1—80.
- [46] Hu X P, Mamoto R, Shimomura Y, et al. Cell surface structure enhancing uptake of polyvinyl alcohol(PVA) is induced by PVA in the PVA-utilizing *Sphingopyxis* sp. strain 113P3[J]. *Archives of Microbiology*, 2007, 188: 235—241.
- [47] Hu X P, Mamoto R, Fujioka Y, et al. The pva operon is located on the megaplasmid of *Sphingopyxis* sp. strain 113P3 and is constitutively expressed, although expression is enhanced by PVA[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2008, 78(4): 685—693.
- [48] Mamoto R, Hu X P, Chiue H, et al. Cloning and expression of soluble cytochrome c and its role in polyvinyl alcohol degradation by polyvinyl alcohol-utilizing *Sphingopyxis* sp. strain 113P3[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2008, 105(2): 147—151.
- [49] Shima M, Tamogami T, Nishi K, et al. Cloning and characterization of the gene encoding pyrroloquinoline quinone-dependent poly(vinyl alcohol) dehydrogenase of *Pseudomonas* sp. strain VM15C[J]. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 1996, 60(7): 1056—1062.

(责任编辑:杨萌)