



# Potential of Baeyer-Villiger monoxygenases as an enzyme for polyethylene decomposition

Ye Rin Yoon<sup>1</sup> · Yu-Sin Jang<sup>1</sup>

## 폴리에틸렌 분해를 위한 효소로서 Baeyer-Villiger monoxygenases의 잠재력

윤예린<sup>1</sup> · 장유신<sup>1</sup>

Received: 3 November 2021 / Accepted: 16 November 2021 / Published Online: 31 December 2021  
© The Korean Society for Applied Biological Chemistry 2021

**Abstract** Polyethylene is widely used as an agricultural film, but eco-friendly technology is lacking for its decomposition. Thus, recently, much attention has been paid to develop a technology for biological polyethylene decomposition. It has been expected that several oxidation steps will be required in the biological degradation of polyethylene. First, secondary alcohol is formed on the polyethylene chain, and then the alcohol is oxidized to a carbonyl group. In the subsequent process, the carbonyl group is converted to an ester by Baeyer-Villiger monoxygenase (BVMO), and this ester bond is expected to be cleaved by lipase and esterase in the final step. In this work, we reviewed BVMO as one of the promising enzymes for polyethylene decomposition, in terms of its reaction mechanism, classification, and engineering. In addition, we also give a brief perspective on polyethylene decomposition using BVMO.

**Keywords** Baeyer-Villiger monoxygenases · Enzyme engineering · Mechanism · Polyethylene

Yu-Sin Jang (✉)  
E-mail: jangys@gnu.ac.kr

<sup>1</sup>Division of Applied Life Science (BK21), Department of Applied Life Chemistry, Institute of Agriculture & Life Science (IALS), Gyeongsang National University (GNU), Jinju, Republic of Korea

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

## 서론

플라스틱은 밀도가 낮아 가공성이 좋고 대량생산이 가능하기 때문에 산업과 일상 속에서 다방면으로 이용되면서 세계 플라스틱 생산량이 급속도로 증가해 왔다[1]. 연간 생산되는 플라스틱은 3억 5,000만에서 4억 톤이며, 재활용 되지 못한 폐플라스틱은 대부분 매립되거나 방치되고 있다[1,2]. 심지어 매년 바다로 유입되는 플라스틱만으로도 500만에서 1,300만톤에 달하고 있다[3]. 이는 자연 생태계 뿐 아니라 인간에게도 부정적인 영향을 초래하는 것으로 잘 알려져 있기 때문에 폐플라스틱 처리를 두고 전세계가 대책 마련을 위한 노력을 기울이고 있다.

한편, 전체 플라스틱 중 생산량 1위를 차지하는 폴리에틸렌(PE, polyethylene)은 전세계적으로 매해 1억 톤 이상 생산된다[4]. PE는 에틸렌(C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>)이 반복적으로 결합된 중합체로 기타란 탄화수소사슬을 이루고 있다. PE는 밀도에 따라서 저밀도 폴리에틸렌(LDPE, Low Density Polyethylene)과 고밀도 폴리에틸렌(HDPE, High Density Polyethylene)으로 분류된다[5]. LDPE는 결정화 온도가 낮고 유연성이 우수하여 식품 저장 용도 이외에도 각종 비닐, 코팅제, 농업용필름의 제조에 사용되며, HDPE는 결정화 온도가 높고 단단하여 각종 파이프나 샴푸, 비누, 세제 보관용 용기 제조에 사용된다[1]. PE의 큰 특징 중 하나는 뛰어난 내화학적인데 이는 PE가 탄소와 수소로만 이루어진 탄화수소 사슬의 구조를 가지고 있어 반응성이 매우 작기 때문이다[1,5]. 이와 같은 구조적 특징으로 인해 PE는 강한 소수성을 띄고 있을 뿐만 아니라 분자량이 크기 때문에 일반적으로 생명이 가진 효소의 접근이 매우 어려운 것으로 알려져 있다[6-8]. 이로 인하여 PE의 생분해가 비교적 어려운 것으로 알려져 있으며, 분해되는 데 걸리는 시간은 HDPE의 경우 약 100년, LDPE의 경우 최소 500년 이상으로 알려져 있다[9]. 이는 다른

환경 위해요인들과 더불어 토양에 오랫동안 잔류가 가능함을 나타낸다[10-12].

최근, PE 분해에 대한 관심이 높아지면서 이들을 분해하는 미생물이 자연계에 존재한다는 보고들이 증가하고 있다[1,5,13]. 하지만, 아직까지 PE분해에 직접적으로 관여하는 효소들이 무엇인지는 정확히 밝혀져 있지는 않다. 다만, PE의 구조 및 자연으로부터 분리한 미생물들의 특징을 기반으로 PE 분해 예상 경로가 몇 가지 제안되어 있다[13,14]. 대표적인 예상 경로 중 하나는 *n*-alkane의 분해에서 아이디어를 얻은 것으로써, 비교적 긴 사슬의 alkane이 *Penicillium*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Rhodococcus* [15]속의 미생물이 가진 효소 작용에 의해 분해되는 것으로 추정하고 있다[16]. 이와 같은 긴 사슬 alkane 분해 미생물들은 PE 분해와 관련이 있다고 보고된 미생물과 일치하는 경우가 많기 때문에 이 가설은 상당히 높은 신뢰를 얻고 있다[4,5,7,17,18]. 이와 같은 PE의 생물학적 분해 경로에서는 PE의 subterminal oxidation 과정부터 시작할 것으로 예측하고 있다[19](Fig. 1). Alkane의 subterminal oxidation 반응은 alkane monooxygenase에 의해 매개되며, 이 반응으로 부터 2차 알코올이 생성된다(Fig. 1). 다음 반응 단계에서 2차 알코올은 alcohol dehydrogenase에 의해 케톤으로 산화된다(Fig. 1). 이후 케톤은 Baeyer-Villiger monooxygenase (BVMO)에 의해 에스터로 전환되고, 이 에스터 결합은 최종 단계에서 lipase 및 esterase에 의해 분해된다(Fig. 1). 이렇게 생성된 지방산은  $\beta$ -oxidation cycle로 들어가서 대사 될 것으로 예측되고 있다. 따라서, 본 고에서는 PE 분해 예상 경로에서 중요 역할을 할 것으로 예상되는 BVMO

를 소개하고, 이 효소의 반응메커니즘, 분류, 효소 공학을 통한 개량과 관련된 최신 연구들을 리뷰하고자 한다. 이와 더불어 PE 분해 공정 개발에 있어서 BVMO의 이용 가능성을 간략히 전망하였다.

### BVMO 효소의 반응 메커니즘

BVMO는 ketone 또는 cyclic ketone의 carbonyl 작용기 다음에 산소 원자를 삽입하여 ester 또는 lactone으로 전환하는 Baeyer-Villiger (BV) oxidation 반응을 촉매하는 flavoenzymes으로 알려져 있다[20]. 이 효소는 보결분자단으로써 flavin adenine dinucleotide (FAD)와 결합되어 있으며 환원제 역할을 하는 NAD(P)H를 보조인자로 필요로 한다(Fig. 2). 이 두 조효소는 BVMO에 의한 기질(케톤 그룹을 가진 alkane 또는 PE)의 산화 반응에서 친핵성 공격을 위한 nucleophile의 형성에 매우 중요한 역할을 한다.

단계별 반응 메커니즘 측면에서, 첫번째와 두번째 반응은 BVMO 효소의 활성화 과정으로 이야기할 수 있다. 첫번째 단계에서는 NAD(P)H가 BVMO와 반응하여 효소와 공유 결합하고 있는 보결분자단 flavin을 환원시켜 flavin semiquinone을 생성하는 것으로 알려져 있다[21,22](Fig. 2). 다음 단계 반응에서 산소 한 분자가 참여하게 되는데, 이 산소 분자는 반응의 첫번째 단계에서 만들어진 flavin semiquinone에 의해서 활성화되는 것으로 알려져 있다(Fig. 2). 이 두번째 반응의 산물으로써 기질을 친핵 공격하기 위한 nucleophile인 flavin C4 $\alpha$ -peroxide 중간체가 생성된다(Fig. 2). 이와 같은 nucleophile인 flavin C4 $\alpha$ -

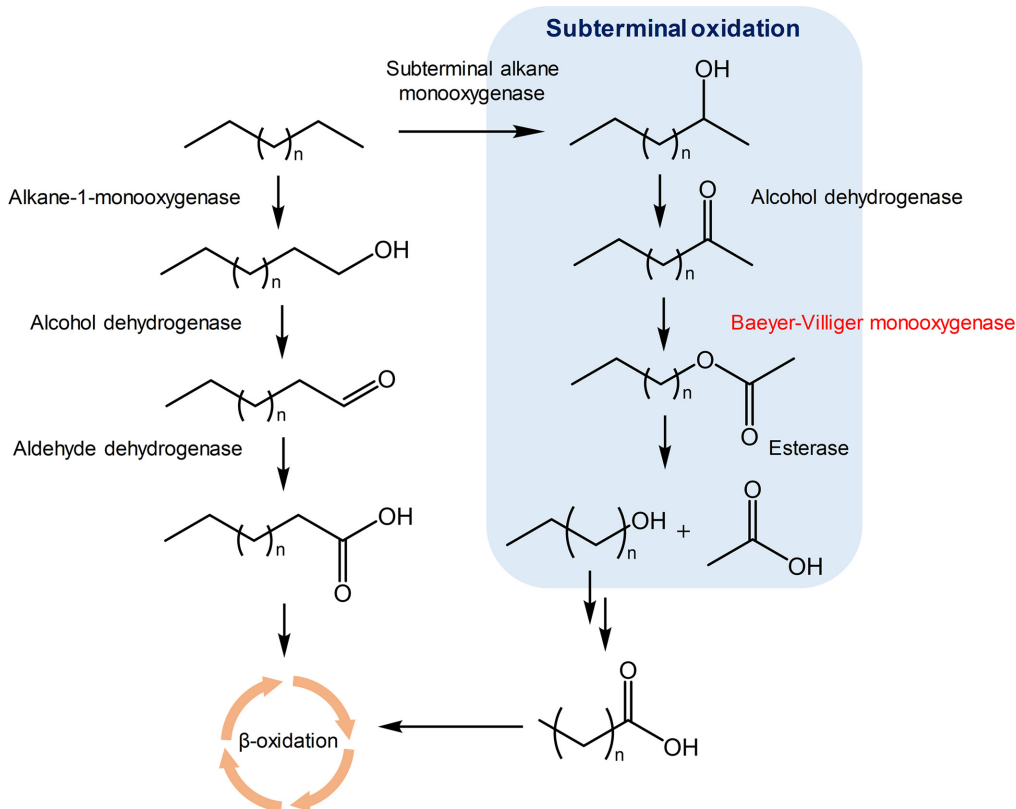


Fig. 1 Predicted pathway for decomposition of long-chain alkane or polyethylene [16]

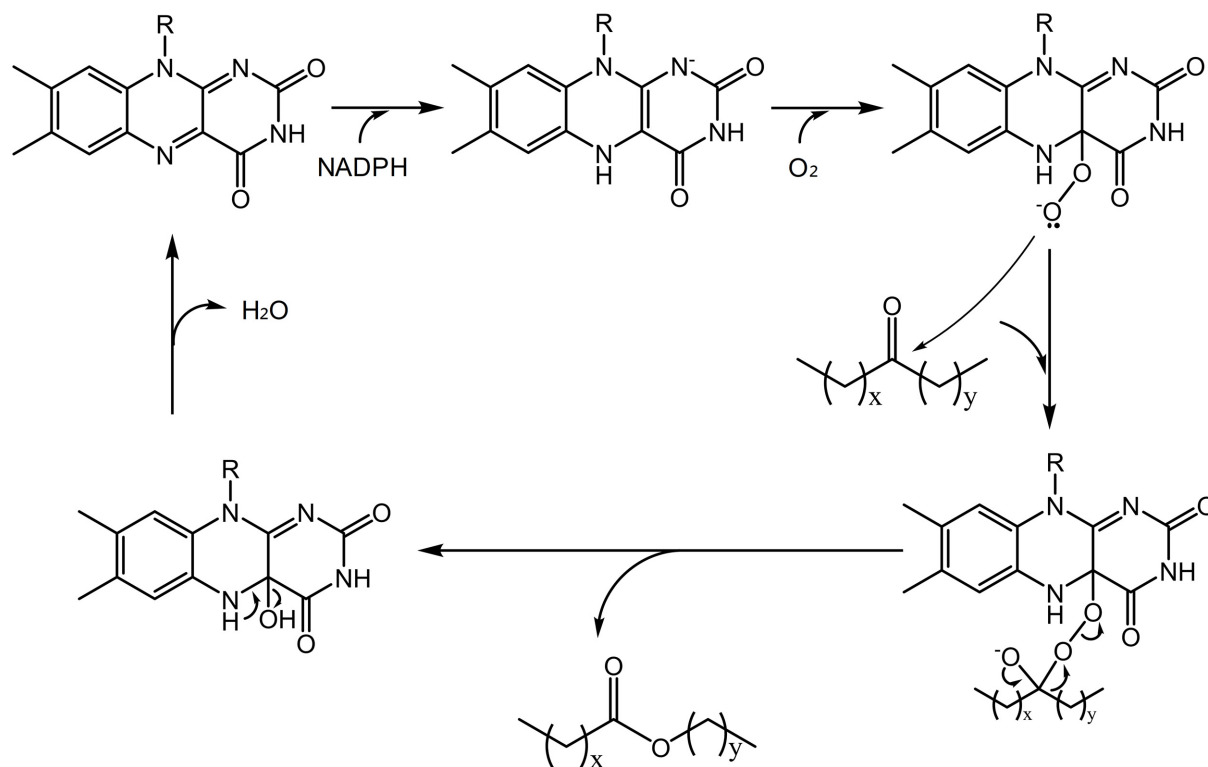


Fig. 2 Schematic presentation of the reaction mechanism of the Baeyer-Villiger monooxygenases

Table 1 Classification of BVMOs [24]

| BVMO type | Prosthetic group | Cofactor | Flavoprotein subclass | Number of polypeptide components | Sources                                    |
|-----------|------------------|----------|-----------------------|----------------------------------|--|
| I         | FAD              | NADPH    | B                     | 1                                | <i>Thermobifida fusca</i>                  |
| II        | FMN (substrate)  | NADH     | C                     | 2                                | <i>Pseudomonas putida</i> ATCC 17453       |
| O         | FAD              | NADPH    | A                     | 1                                | <i>Streptomyces argillaceus</i> ATCC 12956 |

peroxide 중간체 형성 과정에서는 BVMO 효소의 active site에 있는 arginine 잔기가 매우 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다[23]. BVMO 반응의 세 번째 단계에서는 nucleophile인 flavin C4α-peroxide 중간체가 기질의 케톤 그룹 탄소원자를 친핵 공격하는 것으로 알려져 있다(Fig. 3). 따라서, 이 반응의 결과물로서 효소의 active site의 flavin C4α-peroxide와 기질이 결합된 사면체 Criegee 중간체가 형성된다(Fig. 2). 최종 단계인 네 번째 반응에서 이 중간체는 재배열을 통하여 반응산물로서 ester로 전환된다. 이 모든 반응 단계에서 환원 및 hydroxyl화된 flavin은 탈수 반응을 통하여 복원되어 다음 반응에 참여하는 것으로 알려져 있다[24,25](Fig. 2).

**BVMO 효소의 분류**

BVMO는 최근 PE 분해 과정의 주요 효소로 부각되어 많은 주목을 받고 있는 효소이기도 하지만, 그 이전에는 주로 나일론 원료인 caprolactone의 상온 생산을 위한 공정개발에 있어서 주목 받는 효소 중 하나였다[26]. 이와 같은 산업적 중요성으로 많은 BVMO들이 원핵생물 뿐만 아니라 진핵생물에서도 연구되어 보고되어 있으며, 그 기질 다양성 또한 매우 폭 넓은 것

로 알려져 있다. 일반적인 BVMO의 분류는 효소에 공유결합되어 있는 보결분자단의 종류, flavoprotein으로써의 subclass, 반응에 관여하는 보조인자의 종류 등에 따라 분류되고 있다. 이들의 특징에 따라 type I, II, O로 분류되고 있다(Table 1).

**Type I BVMO**

Type I BVMO는 보결분자단으로 FAD를 가지며, NADPH를 보조인자로 가지는 class B flavoprotein monooxygenase에 속한다[20]. 또한, Type I BVMO는 단일 폴리펩타이드로 구성되어 있는 것으로 알려져 있다(Table 1). Type I BVMO에서 특징적으로 관찰되는 주요 motif는 FXGXXXHXXXW[P/D]와 [A/G]GXWXXXX[F/Y]P[G/M]XXXD가 알려져 있다[27,28]. 전자인 FXGXXXHXXXW[P/D] motif는 type I BVMO의 fingerprinting motif로 불릴 정도로 동일 type에서 매우 높은 보존성을 나타내는 것으로 알려져 있다[27-29]. Fingerprinting motif는 효소활성에 직접 관여하지는 않지만 FAD 및 NADPH 결합도메인 사이를 연결함으로써 촉매작용 동안 변화하는 효소 형태의 안정성 유지에 기여하는 것으로 알려져 있다[27,30]. 후자인 [A/G]GXWXXXX[F/Y]P[G/M]XXXD motif는 active site

에 위치하는 것으로 알려져 있으며, 보조인자인 FAD와 NADPH가 각각 결합하는 자리인 Rossmann 폴드(GxGxx[G/A])들 사이에 위치하는 것으로 알려져 있다[27,28]. Active site에서 이 motif의 aspartate (D) 잔기는 조효소와 직접적인 상호작용을 하는 것으로 알려져 있다[30].

Type I BVMO의 대표적인 예로는 세균 유래의 *Thermobifida fusca*의 phenylacetone monooxygenase (PAMO)[27], *Rhodococcus* sp. HI-31의 cyclohexanone monooxygenase (CHMO)[29], *Rhodococcus rhodochrous*의 steroid monooxygenase (STMO) [25] 등이 알려져 있다. 또한, 곰팡이 유래의 type I BVMO로는 *Aspergillus flavus*의 BVMO<sub>AFL838</sub>가 잘 알려져 있다[31].

### Type II BVMO

Type II BVMO는 type I BVMO와 달리 FMN과 NADH를 보조인자로 사용하는 것이 특징이다[26]. 또한, 두 개의 폴리펩타이드로 구성되어 있는 것도 type II BVMO의 주요 특징이다[26]. 이상의 특징을 가지면서 class C flavoprotein monooxygenases로 분류되면 type II BVMO로 분류한다[32,33]. 이미 언급한 것과 같이 type II BVMO의 경우 폴리펩타이드가 2개로 구성되어 있으며, 첫번째 폴리펩타이드는 보조인자로 NADH를 사용하여 FMN을 환원시키는 역할을 하는 것으로 알려져 있다[26]. 환원된 FMN은 자유 확산을 통하여 나머지 또 다른 폴리펩타이드로 이동하여 산소 활성화 과정에 이용됨으로써 결국 nucleophile 형성에 기여하는 것으로 알려져 있다[34].

Type II BVMO의 대표적인 예로는 장뇌(camphor, C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>O) 대사에 관여하는 *Pseudomonas putida* ATCC 17453의 diketocamphane monooxygenase (DKCMO)가 알려져 있다[35]. 상기 *P. putida*의 경우는 두개의 서로 다른 DKCMO를 가지는 것으로 알려져 있으며, 각각 2,5- 및 3,6-diketocamphane monooxygenases (2,5-DKCMO 및 3,6-DKCMO)로 보고되어 있다[26]. 두 효소는 라세미 혼합물인 camphor의 이화작용 과정에 각각 참여하며, 2,5-DKCMO와 3,6-DKCMO는 2,5-diketocamphane과 3,6-diketocamphane의 산화 반응을 각각 특이적으로 촉매하는 것으로 알려져 있다[36].

### Type O BVMO

Type O BVMO는 앞서 언급한 type I BVMO 및 type II BVMO와 다소 동떨어진 특징을 보여주고 있다. Type O BVMO에서는 이미 앞서 언급한 type I BVMO에서 발견된 motif가 전혀 발견되지 않을 뿐만 아니라, type I BVMO 및 type II BVMO와 비교에서 구조적 유사성 또한 발견되지 않은 것으로 알려져 있다[24]. 대표적인 type O BVMO는 *Streptomyces argillaceus* ATCC 12956의 MtmOIV이다[37]. Type O BVMO인 MtmOIV는 항암제로 사용되는 polyketide인 mithramycin 생합성 과정에서 산화반응을 촉매하는 것으로 알려져 있다[26]. Type O BVMO인 MtmOIV는 FAD를 보결분자단으로, NADPH를 보조인자로 사용하며, 이 효소는 class A flavoprotein monooxygenase에 속한다[33].

Type O BVMO의 특이점은 MtmOIV의 경우와 같이 단일 BV반응을 촉매 할 수 있지만, 대부분 BV oxidation 외의 다른 반응들을 촉매하는 다기능 효소라는 점이다[38,39] 예를 들자면, 어떠한 BVMO는 산소 삽입, 가수분해, 탈카복실화 세 단계의

cascade 반응을 매개한다고 알려져 있다[39-41]. 따라서 비슷한 기능을 하는 type O BVMO별로 서열의 유사성이 높을 뿐 MtmOIV와 다른 type O BVMO들과는 유사한 서열이 존재하지 않을 수 있다[40].

### 효소공학을 이용한 BVMO의 개량

BVMO는 최근 PE 분해 과정에 필요한 효소로써 주목 받고 있을 뿐만 아니라 이미 산업적으로도 금속 촉매 화학합성에서 조절하기 어려운 반응을 대체하기 위한 생촉매로써 주목 받고 있다. 그럼에도 불구하고, 자연계에 존재하는 야생형 BVMO를 위와 같은 공정에 적용하기 위해서는 개선이 필요한 점도 존재한다. 산업용 효소로 활용하기 위해 일반적으로 요구되는 효소의 안정성 향상을 제외하고도 BVMO의 보조인자 요구성과 관련된 개선이 필요하다는 점에서는 이견이 없다. Type I BVMO 및 type O BVMO의 보조인자로 사용되는 NADPH는 NADH에 비해 10배 이상 비싼 것으로 알려져 있으며, NADP<sup>+</sup>의 재생성(재환원성) 또한 NAD<sup>+</sup>에 비해 낮은 것으로 알려져 있다[42]. 이로 인하여 야생형의 type I BVMO 및 type O BVMO를 이용한 공정은 경제성이 매우 떨어져 실제 공정에서 사용하기에는 어려움이 있다. 이와 같은 이유들 때문에 BVMO의 보조인자인 NADPH의 의존성을 낮추기 위한 연구들이 수행된 바 있다.

예를 들면, 효소공학을 통하여 NADPH 의존형 BVMO를 NADH 의존형으로 개량한 것이 대표적인 사례이다[43]. 이를 위해 *Acinetobacter* sp. NCIMB 9871의 cyclohexanone monooxygenase가 이용되었으며, 이 야생형 효소는 NADPH를 보조인자로 요구하는 것으로 알려져 있다[44]. 이들 연구에서는 효소의 3차원 구조에 기반하여 보조인자인 NADPH와 근접하게 상호작용하는 아미노산 잔기들을 면밀히 검토하여 NADPH의 인산염과 상호작용하는 잔기들을 찾아 돌연변이를 유도하여 NADPH 의존도가 낮은 돌연변이를 스크리닝한 것으로 알려져 있다[43]. NADPH의 인산염 결합 부위의 잔기들의 돌연변이 S208D, S208E, Q210N, Q210S, K326H, K326N, K349R은 NADH에 대한 활성이 증가된 것으로 보고되어 있다[43]. 더 나아가 이 돌연변이들을 조합하여 야생형 대비 NADH에 대한 활성을 2,600배 이상 개선시킨 것으로 보고하고 있다[43]. 또한 보조인자 분자에 직/간접적으로 상호작용하는 잔기들의 돌연변이를 추가로 유발하여 L55R, S186P, T187L, V253Y, F284Q, D341C, W490Y의 변이가 NADH에 대한 활성을 향상시킨 것으로도 알려져 있다[43]. 또한, 이들을 조합하여 만든 변이체 중 S186P/S208E/K326H와 S186P/S208E/K326H/K349R은 각각 NADH에 대한 활성이 야생형 효소 대비 1,920배 및 4,170배 향상된 것으로 보고하고 있다[43]. 이들 연구는 특정 잔기의 돌연변이를 통해 NADH의 수용비율을 높이긴 했지만 BVMO의 보조인자 특이성을 완전히 전환한 것은 아닌 것으로 보고되어 있다[43].

### BVMO 효소의 전망

BVMO는 산업용 BV 산화 반응을 위한 주요 효소로써, PE 분해 과정에서 주요한 효소로써 그 역할이 크게 기대되고 있다. 특히, PE 분해에 있어서 다양한 산화/환원 효소들의 작용으로 PE 구조에 carbonyl group이 형성된 뒤, 이들의 추가 분해에 반드시 BVMO에 의한 BV 산화 과정이 필요한 실정이다. 하지만, 이와 같은 BVMO의 반응에는 앞서 언급된 NADPH 및

NADH 보조인자가 제공되어야 한다. PE와 같은 고분자 분해에 있어서는 BVMO 효소가 세포 밖으로 분비되거나 세포 표면에서 외부 환경으로 노출되어야 할 것으로 전망되고 있다. 이와 같은 환경에서 보조인자의 재순환이 용이하지 않을 경우, BVMO의 지속적인 활성을 기대하기는 어려울 것으로 예상된다. BVMO를 이용한 화학공정에서도 이와 같은 문제는 공통된 것으로 일부 보조인자의 재순환을 위한 연구가 시도된 바 있다 [42,45-47]. 즉, BVMO 반응에서 산화된 보조인자를 다른 효소를 이용하여 환원시키는 전략이다. 이는 NADP<sup>+</sup> 의존형 alcohol dehydrogenase를 이용하여 기질로써 *endo*-bicycloheptane-2-아를 산화시키는 과정에서 NADP<sup>+</sup>(BVMO 반응에서 산화된 보조인자)를 다시 환원 시킨 것으로 보고되어 있다[48]. 이와 같은 전략이 보조인자의 완전한 산화/환원 조절에 성공한 것은 아니지만 앞으로 BVMO의 산업적 이용에 있어서 더 나은 보조인자 산화/환원 시스템을 갖추는 것 또한 BVMO 효소의 안정성과 활성을 높여려는 노력과 함께 중요하게 고려되어야 함을 보여주고 있다.

## 초 록

폴리에틸렌은 농업용 필름으로 널리 사용되고 있지만, 이를 친환경적으로 분해하기 위한 기술은 부족한 상황이다. 이에 최근 폴리에틸렌 분해를 위한 친환경 기술 개발에 대한 관심이 높아지고 있다. 폴리에틸렌의 생물학적 분해에는 몇가지 산화 단계가 필요할 것이라고 예상된다. 먼저, 폴리에틸렌 사슬에 2차 알코올이 형성되고, 알코올은 카르보닐기로 산화된다. 이후 과정에서 카르보닐기는 Baeyer-Villiger monooxygenase (BVMO)에 의해 에스터로 전환되고, 이 에스터는 마지막 단계에서 lipase와 esterase에 의해 절단될 것으로 예상된다. 본 연구에서는 폴리에틸렌 분해 과정에 관여하는 중요한 효소 중 하나인 BVMO의 반응 메커니즘, 분류, 효소공학 측면에서 리뷰하였다. 또한 BVMO를 사용한 폴리에틸렌 분해 분야의 향후 연구전망도 간략히 덧붙였다.

**Keywords** 메커니즘 · 폴리에틸렌 · 효소공학 · Baeyer-Villiger monooxygenases

**감사의 글** This study was supported by Rural Development Administration, Republic of Korea through the “Cooperative Research Program for Agricultural Science & Technology Development (Project No. PJ01492601)”

## References

- Ghatge S, Yang Y, Ahn J-H, Hur H-G (2020) Biodegradation of polyethylene: a brief review. *Appl Biol Chem* 63: 1–14. doi: 10.1186/s13765-020-00511-3
- Geyer R, Jambeck JR, Law KL (2017) Production, use, and fate of all plastics ever made. *Sci Adv* 3: e1700782. doi: 10.1126/sciadv.1700782
- Jambeck JR, Geyer R, Wilcox C, Siegler TR, Peryman M, Andrady A, Narayan R, Law KL (2015) Plastic waste inputs from land into the ocean. *Science* 347: 768–771. doi: 10.1126/science.1260352
- Danso D, Chow J, Streit WR (2019) Plastics: environmental and biotechnological perspectives on microbial degradation. *Appl Microbiol Biotechnol* 85: e01095-01019. doi: 10.1128/AEM.01095-19
- Restrepo-Flórez J-M, Bassi A, Thompson MR (2014) Microbial degradation and deterioration of polyethylene-A review. *Int Biodeter Biodegr* 88: 83–90. doi: 10.1016/j.ibiod.2013.12.014
- Hadad D, Geresh S, Sivan A (2005) Biodegradation of polyethylene by the thermophilic bacterium *Brevibacillus borstelensis*. *J Appl Microbiol* 98: 1093–1100. doi: 10.1111/j.1365-2672.2005.02553.x
- Yamada-Onodera K, Mukumoto H, Katsuyaya Y, Saiganji A, Tani Y (2001) Degradation of polyethylene by a fungus, *Penicillium simplicissimum* YK. *Polym Degrad Stab* 72: 323–327. doi: 10.1016/S0141-3910(01)00027-1
- Tribedi P, Sil AK (2013) Low-density polyethylene degradation by *Pseudomonas* sp. AKS2 biofilm. *Environ Sci Pollut Res* 20: 4146–4153. doi: 10.1007/s11356-012-1378-y
- Otake Y, Kobayashi T, Asabe H, Murakami N, Ono K (1995) Biodegradation of low-density polyethylene, polystyrene, polyvinyl chloride, and urea formaldehyde resin buried under soil for over 32 years. *J Appl Polym Sci* 56: 1789–1796. doi: 10.1002/app.1995.070561309
- Lee H-S, Hwang I-S, Park S-W, Choi G-H, Ryu S-H (2020) Identification of reduced plant uptake and reduction effects of azoxystrobin, procymidone and tricyclazole by biochars and quicklime. *J Appl Biol Chem* 63: 275–282. doi: 10.3839/jabc.2020.037
- Lee S-H, Kwak S-Y, Hwang J-I, Kim H-J, Kim T-H, Kim J-E (2019) Correlation between physicochemical properties and biological half-life of triazole fungicides in perilla leaf. *J Appl Biol Chem* 62: 407–415. doi: 10.3839/jabc.2019.056
- Kim S-H, Kim J-A, Im M-H (2020) Residual characteristics of pesticide in banana from international pesticide residue monitoring data. *J Appl Biol Chem* 63: 9–22. doi: 10.3839/jabc.2020.002
- Hadad D, Geresh S, Sivan A (2005) Biodegradation of polyethylene by the thermophilic bacterium *Brevibacillus borstelensis*. *J Appl Microbiol* 98: 1093–1100. doi: 10.1111/j.1365-2672.2005.02553.x
- Singh B, Sharma N (2008) Mechanistic implications of plastic degradation. *Polym Degrad Stab* 93: 561–584. doi: 10.1016/j.polymdegradstab.2007.11.008
- Whyte LG, Hawari J, Zhou E, Bourbonnière L, Inniss WE, Greer CW (1998) Biodegradation of variable-chain-length alkanes at low temperatures by a psychrotrophic *Rhodococcus* sp. *Appl Environ Microbiol* 64: 2578–2584. doi: 10.1128/AEM.64.7.2578-2584.1998
- Van Beilen JB, Li Z, Duetz WA, Smits TH, Witholt B (2003) Diversity of alkane hydroxylase systems in the environment. *Oil Gas Sci Technol* 58: 427–440. doi: 10.2516/ogst:2003026
- Sen SK, Raut S (2015) Microbial degradation of low density polyethylene (LDPE): A review. *J Environ Chem Eng* 3: 462–473. doi: 10.1016/j.jece.2015.01.003
- Pathak VM, Navneet (2017) Review on the current status of polymer degradation: a microbial approach. *Bioresour Bioprocess* 4: 1–31. doi: 10.1186/s40643-017-0145-9
- Kirschner A, Altenbuchner J, Bornscheuer UT (2007) Design of a secondary alcohol degradation pathway from *Pseudomonas fluorescens* DSM 50106 in an engineered *Escherichia coli*. *Appl Microbiol Biotechnol* 75: 1095–1101. doi: 10.1007/s00253-007-0902-3
- Leisch H, Morley K, Lau PC (2011) Baeyer-Villiger monooxygenases: more than just green chemistry. *Chem Rev* 111: 4165–4222. doi: 10.1021/cr1003437
- Chaiyen P, Fraaije MW, Mattevi A (2012) The enigmatic reaction of flavins with oxygen. *Trends Biochem Sci* 37: 373–380. doi: 10.1016/j.tibs.2012.06.005
- Palfey BA, McDonald CA (2010) Control of catalysis in flavin-dependent monooxygenases. *Arch Biochem Biophys* 493: 26–36. doi: 10.1016/j.abb.2009.11.028
- Kamerbeek NM, Fraaije MW, Janssen DB (2004) Identifying determinants of NADPH specificity in Baeyer-Villiger monooxygenases. *Eur J Biochem* 271: 2107–2116. doi: 10.1111/j.1432-1033.2004.04126.x

24. Fürst MJ, Gran-Scheuch A, Aalbers FS, Fraaije MW (2019) Baeyer–Villiger monooxygenases: tunable oxidative biocatalysts. *ACS Catal* 9: 11207–11241. doi: 10.1021/acscatal.9b03396
25. Franceschini S, van Beek HL, Pennetta A, Martinoli C, Fraaije MW, Mattevi A (2012) Exploring the structural basis of substrate preferences in Baeyer–Villiger monooxygenases: insight from steroid monooxygenase. *J Biol Chem* 287: 22626–22634. doi: 10.1074/jbc.M112.372177
26. Schmidt S, Bornscheuer UT (2020) Baeyer–Villiger monooxygenases: From protein engineering to biocatalytic applications. In: *The Enzymes*, vol 47. Elsevier, pp 231–281. doi: 10.1016/bs.enz.2020.05.007
27. Malito E, Alfieri A, Fraaije MW, Mattevi A (2004) Crystal structure of a Baeyer–Villiger monooxygenase. *Proc Natl Acad Sci USA* 101: 13157–13162. doi: 10.1073/pnas.0404538101
28. Orru R, Dudek HM, Martinoli C, Pazmiño DET, Royant A, Weik M, Fraaije MW, Mattevi A (2011) Snapshots of enzymatic Baeyer–Villiger catalysis: oxygen activation and intermediate stabilization. *J Biol Chem* 286: 29284–29291. doi: 10.1074/jbc.M111.255075
29. Mirza IA, Yachnin BJ, Wang S, Grosse S, Bergeron H, Imura A, Iwaki H, Hasegawa Y, Lau PC, Berghuis AM (2009) Crystal structures of cyclohexanone monooxygenase reveal complex domain movements and a sliding cofactor. *J Am Chem Soc* 131: 8848–8854. doi: 10.1021/ja9010578
30. Riebel A, Dudek H, De Gonzalo G, Stepniak P, Rychlewski L, Fraaije M (2012) Expanding the set of rhodococcal Baeyer–Villiger monooxygenases by high-throughput cloning, expression and substrate screening. *Appl Microbiol Biotechnol* 95: 1479–1489. doi: 10.1007/s00253-011-3823-0
31. Ferroni FM, Tolmie C, Smit MS, Opperman DJ (2016) Structural and catalytic characterization of a fungal Baeyer–Villiger monooxygenase. *PLoS One* 11: e0160186. doi: 10.1371/journal.pone.0160186
32. Huijbers MM, Montersino S, Westphal AH, Tischler D, van Berkel WJ (2014) Flavin dependent monooxygenases. *Arch Biochem Biophys* 544: 2–17. doi: 10.1016/j.abb.2013.12.005
33. Van Berkel W, Kamerbeek N, Fraaije M (2006) Flavoprotein monooxygenases, a diverse class of oxidative biocatalysts. *J Biotechnol* 124: 670–689. doi: 10.1016/j.jbiotec.2006.03.044
34. Willetts A (2019) Characterised flavin-dependent two-component monooxygenases from the CAM plasmid of *Pseudomonas putida* ATCC 17453 (NCIMB 10007): ketolactonases by another name. *Microorganisms* 7: 1. doi: 10.3390/microorganisms7010001
35. Iwaki H, Grosse S, Bergeron H, Leisch H, Morley K, Hasegawa Y, Lau PC (2013) Camphor pathway redux: functional recombinant expression of 2-, 5- and 3-, 6-diketocamphane monooxygenases of *Pseudomonas putida* ATCC 17453 with their cognate flavin reductase catalyzing Baeyer–Villiger reactions. *Appl Environ Microbiol* 79: 3282–3293. doi: 10.1128/AEM.03958-12
36. Kadow M, Loschinski K, Saß S, Schmidt M, Bornscheuer UT (2012) Completing the series of BVMOs involved in camphor metabolism of *Pseudomonas putida* NCIMB 10007 by identification of the two missing genes, their functional expression in *E. coli*, and biochemical characterization. *Appl Microbiol Biotechnol* 96: 419–429. doi: 10.1007/s00253-011-3859-1
37. Gibson M, Nur-e-alam M, Lipata F, Oliveira MA, Rohr J (2005) Characterization of kinetics and products of the Baeyer–Villiger oxygenase MtmOIV, the key enzyme of the biosynthetic pathway toward the natural product anticancer drug mithramycin from *Streptomyces argillaceus*. *J Am Chem Soc* 127: 17594–17595. doi: 10.1021/ja055750t
38. Tolmie C, Smit MS, Opperman DJ (2019) Native roles of Baeyer–Villiger monooxygenases in the microbial metabolism of natural compounds. *Nat Prod Rep* 36: 326–353. doi: 10.1039/c8np00054a
39. Huang S, Tabudravu J, Elsayed SS, Travert J, Peace D, Tong MH, Kyeremeh K, Kelly SM, Trembleau L, Ebel R (2015) Discovery of a single monooxygenase that catalyzes carbamate formation and ring contraction in the biosynthesis of the legonmycins. *Angew Chem Int Ed* 54: 12697–12701. doi: 10.1002/anie.201502902
40. Schimming O, Challinor VL, Tobias NJ, Adihou H, Grün P, Pöschel L, Richter C, Schwabe H, Bode HB (2015) Structure, biosynthesis, and occurrence of bacterial pyrrolizidine alkaloids. *Angew Chem Int Ed* 54: 12702–12705. doi: 10.1002/anie.201504877
41. Rix U, Remsing LL, Hoffmeister D, Bechthold A, Rohr J (2003) Urdamycin L: A novel metabolic shunt product that provides evidence for the role of the *urdM* gene in the urdamycin A biosynthetic pathway of *Streptomyces fradiae* Tu 2717. *ChemBioChem* 4: 109–111. doi: 10.1002/cbic.200390002
42. Weckbecker A, Gröger H, Hummel W (2010) Regeneration of nicotinamide coenzymes: principles and applications for the synthesis of chiral compounds. In: *Biosyst Eng*. Springer, pp 195–242. doi: 10.1007/10\_2009\_55
43. Beier A, Bordewick S, Genz M, Schmidt S, Van Den Bergh T, Peters C, Joosten HJ, Bornscheuer UT (2016) Switch in cofactor specificity of a Baeyer–Villiger monooxygenase. *ChemBioChem* 17: 2312–2315. doi: 10.1002/cbic.201600484
44. Kelly DR, Knowles CJ, Mahdi JG, Taylor IN, Wright MA (1996) The enantioselective oxidation of sulfides to sulfoxides with *Acinetobacter* sp. NCIMB 9871, *Pseudomonas* sp. NCIMB 9872, *Xanthobacter autotrophicus* DSM 431 (NCIMB 10811) and the black yeast NV-2. *Tetrahedron Asymmetry* 7: 365–368. doi: 10.1016/0957-4166(96)00007-9
45. Dascier D, Kambourakis S, Hua L, Rozzell JD, Stewart JD (2014) Influence of cofactor regeneration strategies on preparative-scale, asymmetric carbonyl reductions by engineered *Escherichia coli*. *Org Process Res Dev* 18: 793–800. doi: 10.1021/op400312n
46. Hummel W, Gröger H (2014) Strategies for regeneration of nicotinamide coenzymes emphasizing self-sufficient closed-loop recycling systems. *J Biotechnol* 191: 22–31. doi: 10.1016/j.jbiotec.2014.07.449
47. Wang X, Saba T, Yiu HH, Howe RF, Anderson JA, Shi J (2017) Cofactor NAD(P)H regeneration inspired by heterogeneous pathways. *Chem* 2: 621–654. doi: 10.1016/j.chempr.2017.04.009
48. Willetts AJ, Knowles CJ, Levitt MS, Roberts SM, Sandey H, Shipston NF (1991) Biotransformation of *endo*-bicyclo[2.2.1]heptan-2-ols and *endo*-bicyclo[3.2.0]hept-2-en-6-ol into the corresponding lactones. *J Chem Soc Perkin Trans I*: 1608–1610. doi: 10.1039/P19910001608