



聚乙烯塑料的微生物降解

王佳蕾 霍毅欣 杨宇*

北京理工大学生命学院 分子医学与生物诊疗工业和信息化部重点实验室 北京 100081

摘要: 聚乙烯(polyethylene, PE)是产量最大的通用塑料之一,通常被加工成一次性包装材料(包括塑料袋及容器)和农用薄膜等。PE塑料的广泛应用导致大量PE废弃物的累积,对生态环境造成严重的威胁。自20世纪70年代以来,一些研究陆续报道了PE塑料被微生物降解的现象,并从土壤、海洋、垃圾堆置点及昆虫肠道等生境中分离筛选到了若干种具有一定PE塑料降解能力的菌株,而且发现一些单加氧酶、过氧化物酶和漆酶等氧化还原酶对PE塑料具有氧化降解能力。这些研究为发展PE塑料废弃物生物降解处理技术提供了一定的依据。本文总结和分析了PE塑料降解微生物的分离和筛选方法,以及已报道的PE塑料降解微生物和降解酶的研究进展,以期为进一步研究PE塑料的微生物降解机理和处理技术提供参考。

关键词: 聚乙烯, 微生物降解, 塑料污染, 土壤微生物, 昆虫肠道微生物, 聚乙烯降解酶

Microbial degradation of polyethylene

WANG Jia-Lei HUO Yi-Xin YANG Yu*

Ministry of Industry and Information Technology Key Laboratory of Molecular Medicine and Biotherapy, School of Life Sciences, Beijing Institute of Technology, Beijing 100081, China

Abstract: Polyethylene (PE), one of the most widely used general plastics, is usually processed into disposable packaging materials (including plastic bags and containers) and agricultural mulch films. The widespread utilization of PE plastic products has resulted in the accumulation of large amounts of PE waste, posing a serious threat to the ecological environment. Since the 1970s, several studies show that PE plastic could be degraded by a few of microorganisms isolated from a diversity of niches such as soil, marine ecosystem, garbage dump and insect gut. Additionally, a number of oxidoreductases such as monooxygenase, peroxidase and laccase can oxidize PE plastic. These studies have paved the path for the development of bio-treatment of PE waste. This review summarizes the isolation and screening methods of PE-degrading microorganisms, as well as the reported PE-degrading microorganisms and enzymes. Further

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (31961133015, 51603004); Young Elite Scientist Sponsorship Program of the China Association of Science and Technology (2017QNRC001); Beijing Institute of Technology Research Fund Program for Young Scholars (3160011181804); Fundamental Research Funds for the Central Universities

*Corresponding author: Tel: 86-10-68911329; E-mail: yooyoung@bit.edu.cn

Received: 17-05-2020; Accepted: 17-08-2020; Published online: 04-09-2020

基金项目: 国家自然科学基金(31961133015, 51603004); 中国科学技术协会青年人才托举工程项目(2017QNRC001); 北京理工大学青年人才启动计划(3160011181804); 中央高校基本科研业务费专项资金

*通信作者: Tel: 010-68911329; E-mail: yooyoung@bit.edu.cn

收稿日期: 2020-05-17; 接受日期: 2020-08-17; 网络首发日期: 2020-09-04

perspectives and challenges on the research on biodegradation of PE are also highlighted.

Keywords: Polyethylene, Microbial degradation, Plastic pollution, Soil microbiota, Insect gut microbiota, Polyethylene depolymerases

聚乙烯(polyethylene, PE)是一种以乙烯为原料经加成聚合制得的热塑性树脂。PE 由非极性的饱和高分子量烃链组成,而烃链的对称分子结构又易于有序排列形成结晶态的超分子结构。这些特殊的物理化学结构赋予 PE 优异的机械性能和化学稳定性。自 1944 年, PE 被美国 DuPont 公司实现大规模商业生产以来,其逐渐被广泛应用于生产生活中,并成为最常见的塑料之一。根据聚合方法、分子量高低、链结构之不同, PE 可分为高密度聚乙烯(high density polyethylene, HDPE)、低密度聚乙烯(low density polyethylene, LDPE)及线性低密度聚乙烯(linear low density polyethylene, LLDPE)。2018 年,全球塑料产量达到 3.6 亿 t。其中,中国和欧盟分别占到了 30%和 17%。

PE 的主要用途是一次性包装材料(包括塑料袋及容器)和农用薄膜等。PE 塑料制品的大量消费,必然产生大量的 PE 塑料废弃物。现有的塑料废物处理途径主要是填埋和焚烧^[1]。但是,填埋会占据土地、产生渗滤液及污染地下水;焚烧会产生大量的有毒气体,包括一氧化碳、氯化氢、二氧化硫、二噁英等^[2];热机械回收处理会导致回收塑料性能的下降。大量未被合理处理的塑料进入自然环境中,给环境生态和人类健康构成很大的威胁^[3]。

自 20 世纪 70 年代以来,一些研究陆续报道了 PE 塑料被微生物降解的现象,并且从土壤、垃圾堆置点、海洋、昆虫肠道等不同生境中分离出若干能利用 PE 为唯一碳源生长的菌株^[4-5],为处理 PE 塑料废弃物提供了全新的思路。本文简述目前国内外关于 PE 降解菌株的分离、筛选以及降解酶方面的研究进展,以期为进一步研究 PE 塑料的微生物降解机理和处理技术提供参考。

1 PE 降解微生物的分离与筛选方法

1.1 PE 降解微生物的分离

PE 降解微生物一般使用传统的微生物学方法进行分离,包括富集、分离、纯化和筛选几个步骤(图 1)。选用有 PE 降解微生物发现潜力的环境样品为接种物,将其加入以 PE 为唯一碳源的液体培养基中,在适宜的培养条件下进行微生物的富集。微生物生长旺盛时,将样品梯度稀释涂布在富营养固体培养基上,再选取单个菌落进行单独划线分离。提取纯化的 PE 降解潜力的单菌的 DNA,进行 16S rRNA 基因扩增和测序,确定单菌的分类和进化关系。从分离获得的纯菌中,通过生理化特性和被菌株降解后 PE 的材料性质等两方面的评价分析,筛选 PE 降解菌株^[1,5-8]。

1.2 基于微生物生理生化特性的筛选方法

该方法主要是通过观测菌株在以 PE 为唯一碳源培养条件下的生长动力学、细胞活性和酶活性,判断微生物是否具有降解 PE 的能力。比如,采用细胞计数的方法^[5],观察微生物在以 PE 为唯一碳源的培养基上的生长情况,可作为其是否具有降解 PE 的依据^[9]。

此外,也可以采用 Live/Dead 染色试剂(Thermo Fisher)和荧光显微镜观察鉴定微生物细胞是否存活,以此来判断菌株是否能利用 PE 为唯一碳源生长^[10]。Live/Dead 荧光染色剂主要包括碘化丙啶(propidium iodide, PI)和二乙酸荧光素(fluorescein diacetate, FDA) 2 种化合物。微生物细胞染色以后,如果细胞死亡或细胞膜不完整,导致 PI 进入细胞与 DNA 相结合,在 488 nm 的激光激发下发射波长 660 nm 红色荧光,说明该微生物无法在这种以 PE 为唯一碳源的条件生长;如果细胞具有正常活性,则 FDA 能够进入细胞,在活细胞非特异性

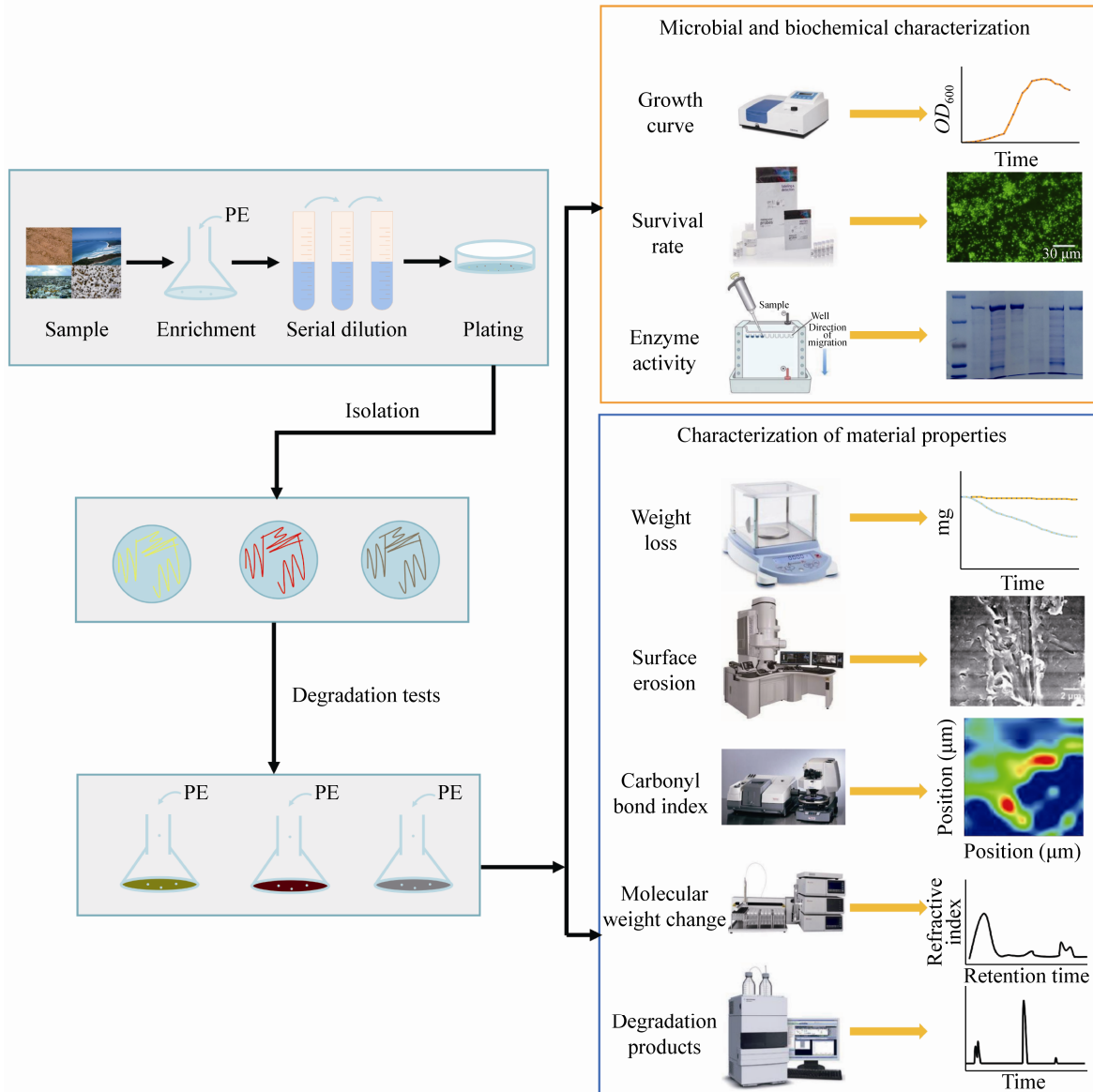


图 1 PE 塑料降解微生物的分离与筛选方法
Figure 1 Isolation and screening methods of PE-degrading microorganisms

脂酶的催化下生成荧光素，后者经 480 nm 激光激发出波长 530 nm 左右的绿色荧光，说明该微生物能够在以 PE 为唯一碳源的条件生长。这种方法的优点是能通过直观的结果判断微生物是否能有效利用 PE 为唯一碳源生长。

基于观察微生物以 PE 为唯一碳源的生长状况，理论上可直观判断该微生物是否具有降解 PE 塑料的能力。但值得注意的是，在当前的研究中，

一般采用的都是包含有机添加剂和低聚物分子的商品化 PE 塑料，导致不能区分微生物生长实际利用的碳源是来自 PE 塑料中的有机添加剂或者低聚物分子还是 PE 塑料本身。因此，在将来的研究中，有必要采取如萃取的办法尽可能去除 PE 塑料中的有机添加剂或者低聚物分子，或者合成制备窄分子量分布且不添加任何助剂的纯 PE 作为实验标准品，这将有利于排除实验中的假阳性。

1.3 基于材料性质表征的筛选方法

另一方面,通过分析 PE 材料本身性质在被微生物降解前后的变化,如重量损失、矿化(转化成 CO₂)、表面物理化学性质变化、分子量分布及大小变化和产物生成等,可评价生物降解的效果(图 1)。

首先,最简单的就是测定材料在降解前后的重量损失,通过重量损失的数据判定生物降解是否有效^[11]。此外,采用 Sturm Test,即在有氧条件下,通过测试微生物以 PE 为唯一碳源产生 CO₂ 的量判断 PE 被微生物降解的效率^[12-13]。与观察微生物以 PE 为唯一碳源的生长状况时面临的问题一样,当前研究中一般采用的都是包含有机添加剂和低聚物分子的商品化 PE 塑料。通常,这些有机添加剂和低聚物的含量并未注明,这使得不能区分 PE 塑料的重量损失以及产生的 CO₂ 是来自有机添加剂或者低聚物的降解还是 PE 塑料本身。通过同位素示踪的方法,用放射性 ¹⁴C 标记 PE 中的 C,利用闪烁计数器测量降解实验过程中产生的 ¹⁴CO₂ 来确定 PE 的降解效果^[14]。这一方法也被认为是判断生物降解效率的金标准。不过,由于制备放射性 ¹⁴C 标记 PE 相对比较复杂且尚无可购买的商业化产品,进行放射性示踪实验也需要相应的防护要求,导致这种方法比较难以推广。采用稳定同位素 ¹³C 标记的 PE 开展示踪实验,虽然能购买到商业化产品(Thermo Fisher),实验中也不需要放射性防护,但是通过同位素质谱检测 ¹³CO₂ 容易做到定性分析却难以定量检测,一般很少采用。

利用凝胶渗透色谱(gel permeation chromatography, GPC)测定材料在被微生物降解前后的分子量分布和平均分子量的变化,可以判断 PE 被微生物降解后,是否发生了长链的解聚^[5]。比如,用 GPC 检测被微生物降解之后的 PE 塑料,与降解前的原样相比,分子量分布往高分子部分偏移且平均分子量增加,这说明被微生物降解的部分是分子量相对较低的寡聚物分子或者是有机小分子添加剂,大分子链并没有发生解聚^[1,5]。反之,

如果分子量分布往低分子部分偏移且平均分子量降低,这说明大分子链发生了解聚^[5]。因此,采用 GPC 测定分子量分布和分子量大小,应作为不可或缺的证据来评价 PE 塑料降解之后的重量损失或者产生的 CO₂ 是否是来自 PE 塑料高分子长链的解聚和降解^[5]。在证明 PE 长链发生解聚的基础上,利用气相和液相色谱与质谱联用的方法分析降解过程中产生的代谢产物,也是表明降解效果的一个重要的依据^[14]。

利用扫描电子显微镜(scanning electronic microscope, SEM)和原子力显微镜(atomic force microscope, AFM)观测 PE 膜在降解前后表面物理形貌和粗糙度的变化,比如明显的损伤和凹坑等,可以直观地看到生物降解的效果^[5]。通过观测材料表面化学性质的变化也是评定降解效果的方法之一,如采用全反射-傅立叶变换红外光谱(attenuated total reflectance-Fourier transform infrared spectroscopy, ATR-FTIR)可以测定材料中含氧极性基团的产生,采用 X 射线光电子能谱(X-ray photoelectron spectroscopy, XPS)可以检测是否被引入了氧元素,测定表面水接触角来判断 PE 材料表面的亲疏水性变化^[5]。但是,在进行表面物理形貌的观测时,要保证未经微生物降解的 PE 塑料表面处于光滑和无损状态,避免 PE 塑料本身的表面损伤被误判为降解特征。在进行表面化学性质的检测时,要设置好对照实验并做好表面的清洁,避免将吸附在 PE 塑料表面的生物分子如蛋白、脂肪和核酸等物质引入的含氧基团误判为 PE 塑料的降解特征。

如上所述,通过微生物富集和分离纯化,结合微生物生理生化和材料性质表征的筛选方法,可以得到具有 PE 降解能力的微生物。但是,当前的方法也存在一些缺陷,容易导致假阳性降解表型的菌株。

在未来的研究中,首先需要解决的问题是规范降解实验所采用的 PE 塑料底物。目前已经报道的研究中所采用的 PE 塑料底物五花八门,寡聚物分

子或者是有机小分子添加剂含量未知,分子量分布相对较宽。在规范 PE 塑料底物的基础上,重点关注的实验证据应主要包括三方面:(1) 微生物的生长:在以纯 PE 标准品为唯一碳源时,能观测到明显的微生物增长。(2) 重量损失:在以纯 PE 标准品为唯一碳源时,根据聚酯的微生物降解的效率来看,在 28 d 内,建议以重量损失效率达到 15%–20% 以上视为可靠。(3) 同位素示踪:在有条件的情况下,采用 ^{14}C 标记 PE 实验是验证表型的金标准,同样建议在 28 d 内, $^{14}\text{CO}_2$ 损失效率达到 15%–20% 以上视为可靠。其次,应该建立菌株保藏机制。凡是公开发表的 PE 塑料降解菌株,有必要要求在可公共获取的菌株保藏机构中进行保藏并在公开发表的论文中公开保藏号,以便不同的研究人员对菌株降解效果进行比较和参照。此外,以 PE 为唯一碳源的筛选方式也存在微生物生长速率慢、实验周期长的问题。之后的研究可以尝试开发以小分子类似物为底物的高通量筛选方法进行初筛,再用传统的方法进行复筛,提高降解 PE 微生物的筛选效率。

2 不同生境中的 PE 降解微生物

2.1 土壤

土壤中的微生物非常丰富,通常 1 g 土壤中有 10^6 – 10^9 个微生物,其种类和数量随成土环境及其土层深度的不同而变化^[15],所以选用这种资源丰富的生境作为 PE 降解菌的筛选来源之一(表 1)。1978 年,Albertsson^[16]用放射性 ^{14}C 标记合成的 PE 薄膜作为底物,考察了土壤微生物对 PE 的降解能力,在 2 年内,通过闪烁计数器测量释放 $^{14}\text{CO}_2$ 的净值约占测试样品中放射性总量的 0.5%,明显高于老化样品非生物产生的 $^{14}\text{CO}_2$,这证明土壤微生物对 PE 进行了催化转化。1990 年,Albertsson 等^[34]又利用土壤中的真菌测试了微生物降解 PE 的能力,同位素示踪和红外光谱测定数据都表明 PE 在土壤真菌的作用下产生了有效的降解。1999 年,Kawai 等^[35]利用光降解后的 PE 和商业 PE 蜡分别作为唯一碳源和能源培养土壤微生物,通过活细

胞计数、样品重量和 GPC 分析分子量的变化,证实了土壤微生物菌群的生物降解作用。2004 年,Gilan 等^[17]用 PE 薄膜作为唯一碳源,从土壤样本中富集分离了一株细菌 *Rhodococcus ruber*,在液体培养中,该菌在 PE 表面上形成生物膜^[18],并在孵育 30 d 之内产生了 8% 的重量损失。2013 年,Tribedi 等^[19]从土壤中富集分离得到一株 *Pseudomonas* 属细菌,在不需事先氧化预处理 PE 的情况下,45 d 内 PE 的重量损失可达到 4%–6%,降解后 PE 材料的疏水性经测量也有一定降低。2016 年,Kowalczyk 等^[36]从土壤中分离出新的菌株,并通过分析 16S rRNA 基因序列进行了菌种鉴定,还以 PE 薄膜为底物进行降解实验,用 ATR-FTIR 和 SEM 分析了 PE 薄膜样品,结果表明 PE 薄膜的表面物理化学结构产生了明显变化,还检测到了约 9% 的重量损失。2017 年,Peixoto 等^[20]从当地的土壤中发现的塑料碎片中分离了 9 种新型的 PE 降解细菌,在以 PE 为唯一碳源培养 90 d 后,这些来自 *Comamonas*、*Delftia* 和 *Stenotrophomonas* 属的细菌显示出代谢活性和细胞活力;此外,ATR-FTIR 检测表明,生物降解后的 PE 经历了氧化,并新生成了羰基等极性基团。AFM 和 SEM 证实了表面粗糙度的显著变化和 PE 表面的巨大破坏。

2.2 海洋

海洋约占地球表面积的 71%,海洋微生物分布广、数量多,是微生物的资源库之一。2008 年,Sudhakar 等^[11]以不同底物设立 3 个实验组,分别是未经预处理的 LDPE 和 HDPE、热处理后的 LDPE 和 HDPE,以及未经预处理的淀粉共混 LDPE,选择了 2 种海洋微生物 *Bacillus sphericus* 和 *B. cereus*,在 pH 7.5 和温度 30 °C 的条件下利用 3 个实验组的材料作为唯一碳源,进行历时 1 年的降解实验,结果发现,在 *B. sphericus* 的作用下,热预处理的 LDPE 和 HDPE 样品的重量损失分别约为 19% 和 9%,而未经预处理的样品分别为 10%

表 1 不同生境中的 PE 塑料降解微生物

Table 1 PE plastic degrading microorganisms in different habitats

生境 Habitat	菌株 Strains	基质 Matrix	时间 Time	重量损失 Weight loss (%)	表面变化 Surface change	分子量变化 M _w change	参考文献 References	
Soil	<i>Fusarium redolens</i>	HDPE	2 a	¹⁴ CO ₂ ↑	—	—	[16]	
	<i>Rhodococcus ruber</i>	—	30 d	8	—	—	[17]	
	<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	HDPE		9	Chemical structure: ↓	—	[18]	
	<i>Pseudomonas</i> sp.	LDPE	45 d	4–6	Hydrophobic: ↓	—	[19]	
	<i>Comamonas</i> sp. <i>Delftia</i> sp.		90 d	—	Keto carbonyl bond index: ↑	—	[20]	
	<i>Stenotrophomonas</i> sp.				Surface erosion			
Marine	<i>Bacillus sphaericus</i>	LDPE	1 a	9–19	Keto carbonyl bond index: ↑	—	[11]	
	<i>Bacillus cereus</i>	HDPE			Hydrophobic: ↓			
	<i>Kocuria palustris</i> M16 <i>Bacillus pumilus</i> M27 <i>Bacillus subtilis</i> H1584	LDPE	30 d	1–1.75	Keto carbonyl bond index: ↑	—	[21]	
	<i>Alcanivorax borkumensis</i>	LDPE	—	—	Biofilm production	—	[22]	
Garbage dump	<i>Pseudomonas</i> sp.	HDPE	3 m	12–15	Ketone carbonyl bond index: ↑	—	[23]	
	<i>Arthrobacter</i> sp.				Keto carbonyl bond index: ↑			
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PAO1	LDPE		—	Keto carbonyl bond index: ↑	↓	[24]	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Pseudomonas putida</i> <i>Pseudomonas syringae</i>							
	<i>Lysinibacillus xylanilyticus</i>	LDPE	126 d	29.5 CO ₂ ↑	—	—	[25]	
	<i>Aspergillus niger</i> <i>Phrmidium lucidum</i>	LDPE	—	—	Functional group changes	—	[26]	
	<i>Oscillatoria subbrevis</i> <i>Bacillus</i> sp.	—	60 d	17.4–22.8	—	—	[27]	
	<i>Paenibacillus</i> sp. <i>Micrococcus hydrolysae</i>	LDPE	30 d	—	Keto carbonyl bond index: ↑	—	[28]	
	<i>Fusarium</i> sp.	—	2 m	—	Surface erosion	—	[12]	
	<i>Aspergillus fumigatus</i> <i>Aspergillus terreus</i> <i>Fusarium solani</i>	LDPE	100 d	—	—	—	[9]	
	Insect gut	<i>Enterobacter asburiae</i> YT1 <i>Bacillus</i> sp. YP1		60 d	6.1–10.7	Hydrophobic: ↓ Keto carbonyl bond index: ↑ Surface erosion	—	[5]
		<i>Microbacterium awajiense</i> , <i>Rhodococcus jostii</i> <i>Mycobacterium vanbaalenii</i> <i>Streptomyces fulvissimus</i> <i>Bacillus simplex</i> <i>Bacillus</i> sp.	LDPE	—	—	—	—	[14]
<i>Enterobacter</i> sp. D1			14 d	—	Surface erosion Keto carbonyl bond index: ↑	—	[29]	
<i>Aspergillus flavus</i>		HDPE	28 d	—	Keto carbonyl bond index: ↑	↓	[30]	
Other		<i>Arthrobacter paraffineus</i>	LDPE	3.5 a	—	Keto carbonyl bond index: ↑	—	[31]
		<i>Staphylococcal</i> sp.	LDPE	—	—	Surface erosion	—	[32]
		<i>Zalerion maritimum</i>	—	—	—	—	↓	[33]

Note: —: Not mentioned in the article.

和 3.5%。之后, Harshvardhan 等^[21]从浮游水域分离出 60 种海洋细菌, 并从中筛选出了 3 种具有降解 LDPE 的能力菌株, 这 3 株菌能够在以 PE 为唯一碳源的培养基中生长; 基于 16S rRNA 基因序列同源性, 3 株菌分别被鉴定为 *Kocuria palustris*、*B. pumilus* 和 *B. subtilis*; 与这 3 株菌共同培养 30 d 后, PE 的失重分别为 1%、1.5%和 1.75%; 通过 ATR-FTIR 光谱测定, 发现酮基羰基键指数(ketone carbonyl bond index, KCBI)、酯基羰基键指数(ester carbonyl bond index, ECBI)和乙烯基键指数(vinyl bond index, VBI)增加, 进一步证实了 PE 的生物降解。2019 年, Delacuvellerie 等^[22]研究了以 LDPE、聚对苯二甲酸乙二酯(polyethylene terephthalate, PET)和聚苯乙烯(polystyrene, PS)塑料为唯一碳源从海洋环境样品中富集潜在的可降解塑料细菌, 在以这几种塑料为唯一碳源的情况下, 结果表明细菌群落组成显然依赖于塑料种类, 诸如 *Alcanivorax* sp.、*Marinobacter* sp.和 *Arenibacter* sp.这些可降解烃的细菌, 在 LDPE 和 PET 中含量非常丰富, 这表明这些细菌是塑料降解的潜在参与者, 试验数据还首次显示了 *Alcanivorax borkumensis* 能够在 LDPE 上形成厚厚的生物膜并降解这种石油基塑料的能力。以上的研究都是从海洋中获得微生物资源, 并证实了这些细菌对 PE 的有效降解。

2.3 垃圾堆置点

2009 年, Shah 等^[12]通过富集从粘附在 PE 碎片表面的污水污泥中分离出一种真菌菌株, 用光学显微镜在塑料片的表面上观察到了到厚厚的真菌菌丝网络, 该真菌菌株被鉴定为 *Fusarium* 属; 在 30 °C 和 150 r/min 的基础盐培养基中共同培养 2 个月, 在 PE 片表面观察到了明显的镰刀菌生长; 通过 SEM 观察 PE 片时, 发现表面产生了凹坑、裂纹和腐蚀; 通过 Sturm Test 检测到降解过程中产生约 1.85 g/L 的 CO₂, 而在对照实验中只产生 0.45 g/L 的 CO₂。2010 年, Zahra 等^[9]从德黑兰一个市政垃圾填埋场采集的样品中分离出了包括

Aspergillus fumigatus、*A. terreus* 和 *F. solani* 在内的真菌, 这些真菌可通过在培养基中形成生物膜来降解 LDPE。2010 年, Balasubramanian 等^[23]从马纳尔湾的塑料垃圾场中分离出 15 株细菌 (GMB1–GMB15), 基于它们降解 HDPE 的效率, 选择了 GMB5 和 GMB7 进行进一步研究, 并将它们鉴定为节杆菌(*Arthrobacter* sp.)和假单胞菌(*Pseudomonas* sp.); 孵育 30 d 后, *Arthrobacter* sp.作用的 HDPE 重量损失接近 12%, 而 *Pseudomonas* sp.作用后重量损失 15%; 利用 Live/Dead 染色试剂细菌染色, 发现接种后的 2–5 d 之间, 2 种细菌都显示出了显著的生长; ATR-FTIR 光谱表明, KCBI、ECBI 和 VBI 增加, 证实了 2 种菌对 PE 的生物降解。2012 年, Jeon 等^[37]从堆肥样品中分离出能够降解低分子量 PE (low molecular weight polyethylene, LMWPE)的嗜热细菌, 可将重均分子量(M_w)在 1 700–23 700 范围内的 LMWPE 矿化为 CO₂; LMWPE 的生物降解性随 M_w 的增加而降低。由于降解后 LMWPE 的低分子量分数显著降低, 并伴随 M_w 的增加, 这表明低分子量部分被优先降解了。由于微生物的作用, ATR-FTIR 检测发现了 C–O 的峰, 表明发生了微生物诱导的氧化降解。2012 年, Kyaw 等^[24]研究了 4 种假单胞菌细菌对 LDPE 的生物降解能力, ATR-FTIR 光谱表明 KCBI 均有增加。2013 年, Esmacili 等^[25]从德黑兰的垃圾填埋场中富集筛选出具有出色降解 LDPE 能力的两种微生物, 后续将这两株菌加入土壤中进行生物降解实验, 过程持续 126 d; 在土壤中进行 CO₂ 测量表明, 未接种实验组的生物降解速度很慢, 126 d 后测得降解百分比约为 7.6%和 8.6%; 相反地, 在微生物存在的条件下, 生物降解的百分比分别为 29.5%和 15.8%。2018 年, Sarmah 等^[26]从丢弃在生活污水的 PE 手提袋中分离出 2 种主要的蓝细菌菌种, 它们能够有效降解 LDPE 片材; 通过 FTIR、SEM、NMR 及碳、氢、氮(carbon、hydrogen、nitrogen, CHN)元素含量等分析方法,

了解 PE 的结构、形态和化学变化; CHN 元素分析证实了 PE 中的蓝细菌物种的碳利用率约为 4%, PE 表面上蓝细菌物种的快速生长表明, 微生物可以持续从 PE 中获取能量, 依赖其生存; 经蓝细菌处理后, PE 的层状厚度、重量和结晶度均有降低; SEM 和光学显微镜在表面上显示出大的凹槽, 表明 PE 结构的显著破坏; FTIR 光谱计算得出的键指数变化表明官能团和侧链特征发生变化, 证明了 PE 的生物降解。2019 年, Park 等^[27]调查了从城市垃圾填埋场沉积物中获得的嗜温混合细菌培养分离物对微型 PE 的分解, 其中, *Bacillus* sp. 和 *Paenibacillus* sp. 是最主要起降解作用的菌株, 两种菌株的作用降低了颗粒的干重(60 d 后为 14.7%)和平均粒径(60 d 后为 22.8%, 通过 SEM 分析获得), 在降解后 PE 颗粒的气相色谱-质谱分析中, 从 PE 微塑料中洗脱出来的有机物数量和类型在分解早期较低, 但是在后期阶段有所增加, 表明微塑料通过酶处理作用发生链断裂。2020 年, Li 等^[28]研究了 *Micrococcus hydrolysae* 的生长特性及其在 LDPE 生物降解中的应用, 该菌株从富含木质素的海洋纸浆厂废物中分离得到, 木质素是一种天然复合聚合物, 与 PE 一样也含有饱和碳键; 菌株培养 30 d 后, 通过 SEM 观察到聚合物表面形态变化, ATR-FTIR 表明聚合物链中其他羰基的形成, 可以清楚地证明 LDPE 颗粒的生物降解。上面几种研究的微生物都来源于生活中产生的废弃物和污水等, 这些来源的微生物已经被证明对 PE 有降解效果。

2.4 昆虫肠道

除了以上几种来源的微生物, 学者也在昆虫肠道中发现了大量具有降解塑料能力的微生物资源^[6,38-39]。2014 年, Yang 等^[5]从啮食 PE 塑料薄膜的蜡虫或印度粉蛾(*Plodia interpunctella*)的幼虫肠道中分离出了 2 种能够降解 PE 的细菌, 在 PE 膜上将这 2 个菌株孵育 28 d 后, 形成了生物膜, 而且检测到膜的疏水性降低; 使用 SEM 和 AFM 在 PE 膜的表面观察到明显的损伤, 包括凹坑(深度为

0.3–0.4 μm); 使用 XPS 和 ATR-FTIR 成像显微镜验证了羰基的形成; 两种细菌(10^8 CFU/mL)的悬浮培养物在 60 d 的温育期内能够分别降解约 $6.1\% \pm 0.3\%$ 和 $10.7\% \pm 0.2\%$ 的 PE 膜(100 mg), 而且残留的 PE 膜的分子量较低, 并且还检测到 12 种水溶性产物的释放; 结果证明了在蜡虫肠道中存在降解 PE 的细菌, 并指出昆虫肠道可能是塑料降解菌株的重要来源。2018 年, Lwanga 等^[14]从蜡虫肠道中分离出放线菌门的 *Microbacterium awajiense*、*Rhodococcus jostii*、*Mycobacterium vanbaalenii* 和 *Streptomyces fulvissimus*, 以及硬壁菌门的 *B. simplex* 和 *Bacillus* sp., 将这些细菌接种到经过伽马消毒的含有或不含有 LDPE 微塑料(microplastic, MP)的土壤进行降解实验, 在细菌的存在下, LDPE-MP 的粒径明显减小; 另外, 仅在同时含有细菌和 LDPE-MP 的处理中测量到了几种挥发性化合物, 例如十八烷、二十烷、二十二烷和十三烷, 表明这些长链烷烃是细菌 LDPE-MP 降解的副产物。2019 年, Ren 等^[29]从大蜡螟(*Galleria mellonella*)的肠中分离出一株 *Enterobacter* 属细菌, 经过 14 d 的培养后, PE 膜周围形成了微生物菌落; 通过 SEM 和 AFM 的观察, PE 膜的表面上检测到了粗糙度、凹陷和裂缝; FTIR 显示, 经菌株处理后的 PE 膜上存在羰基官能团和醚基; 液相色谱-串联质谱(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS)还显示, 由于微生物处理, 某些醇、酯和酸的含量增加了, 这表明用细菌处理过的 PE 膜表面发生了氧化反应。这些结果证实 *Enterobacter* sp. 具有降解 PE 的能力。2020 年, Zhang 等^[30]从大蜡螟(*Galleria mellonella*)的肠道内容物中分离出了一株真菌 *Aspergillus flavus* PEDX3, 以 HDPE 为碳源培养 28 d 后, 菌株 PEDX3 将 HDPE 颗粒降解为分子量较低的颗粒; FTIR 结果显示了 MPP 的羰基和醚基的出现, 这也证实了 PE 的降解; 此外, 通过逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)研究了潜在的降解酶; 最后, 2 个漆酶样

多铜氧化酶(LMCOs)基因 AFLA_006190 和 AFLA_053930 在降解过程中显示出上调的表达,这可能是候选的 PE 降解酶。这些结果表明, *Aspergillus flavus* PEDX3 具有降解 PE 的能力。肠道微生物是丰富的微生物资源库,昆虫肠道微生物对 PE 降解研究的进展迅速,更让我们有信心能够从中得到更高效环保的塑料降解方案。

2.5 其他生境

其他未标明菌株来源的细菌也具有降解 PE 的能力。1998 年, Albertsson 等^[31]将 *Arthrobacter paraffineus* 作用于经高温处理后的 LDPE, 经过 3.5 年的降解实验后, 通过 GC-MS 在非生物样品中鉴定出一元和二元羧酸和酮酸的同源系列产物, 而在生物环境中则观察到这些酸完全消失; 对样品进行 FTIR 测试后, 在生物降解样品中发现较少的羰基和更多的双键, 这与 PE 的生物降解机理相符。2010 年, Chatterjee 等^[32]将 LDPE 膜高压灭菌后覆盖在营养琼脂平板上, 并接种 *Staphylococcal* sp., 营养琼脂平板在 2-3 d 内显示出菌体的生长, 通过 SEM 观察分析, 支持菌体生长的 PE 膜有孔形成; 在无机盐基本营养培养基中, 切碎的 LDPE 作为其唯一碳源, 可支持表皮葡萄球菌的生长; 即使经过 3 个月的接种, 该生物仍然可以生存, 并且可以观察到切碎的塑料尺寸的逐渐分解。2017 年, Paço 等^[33]评估了在寡营养培养基中 *Zalerion maritimum*

与 PE 颗粒作用不同时间的结果, 通过 ATR-FTIR 和 NMR 评估了材料的分子变化, 结果表明, 在测试条件下, *Z. maritimum* 能够利用 PE, 从而导致 PE 颗粒的质量和尺寸均减少。这表明这种天然存在的真菌可能对微塑料的生物降解有积极贡献, 而且需要的养分最少。

以上研究表明了土壤、海洋和垃圾堆置点这些微生物含量丰富的生境中有降解 PE 微生物的存在, 选择这些生境作为分离源对于能否得到目标微生物可能起着至关重要的作用。不过, 目前可分离培养的微生物只占这些生境中微生物总量的很少一部分^[40], 所以, 从各个生境中获得更多可分离培养微生物, 也是获取更多 PE 降解微生物的重要一步。

3 PE 降解酶

PE 的微生物降解菌株资源在不断地丰富, 对应 PE 降解酶的研究也有一些报道(表 2)。研究早期由于实验条件限制等原因, 使用动物肝脏匀浆等生物材料直接作用于 PE, 后期将各种菌来源的酶进行表达纯化, 再进行有关 PE 的降解研究。

1990 年, Wasserbauer 等^[41]将细菌 *B. brevis* 和 *P. putida* 的菌体及动物肝脏分别制成匀浆, 用匀浆处理了 PE, 经过 FTIR 测定后, 发现材料被引入了含氧极性基团。由于选用的微生物和动物肝脏匀

表 2 PE 塑料降解酶

Table 2 PE plastic degrading enzyme

酶类	来源	时间	表面变化	分子量变化	参考文献
Enzymes	Source	Time (d)	Surface change	M_w change	References
Monoxygenase	Animal liver homogenate	3	Keto carbonyl bond index: ↑	—	[41]
Alkane	<i>Pseudomonas</i> sp. E4	80	Surface erosion	—	[42]
monoxygenases	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> E7	80	Surface erosion	—	[43]
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> E7	50	Surface erosion	—	[44]
Manganese peroxidase	Lignin-degrading fungi IZU-154 <i>Phanerochaete chrysosporium</i> <i>Trametes versicolor</i>	80	Surface erosion	—	[45]
Peroxidase	Soybean	—	Surface erosion Keto carbonyl bond index: ↑ Hydrophobic: ↓	—	[46]
Laccase	<i>Rhodococcus ruber</i>	—	Keto carbonyl bond index: ↑	↓	[47]

Note: —: Not mentioned in the article.

浆都是单加氧酶含量较高的材料,为了证明 PE 的氧化降解是否与单加氧酶有关, Wasserbauer 等又分别在反应体系中加入可以激活和抑制单加氧酶活性的苯巴比妥和细菌内毒素,单加氧酶在受到激活后氧化现象更加明显,而受到抑制之后 PE 被氧化程度减少了,这项实验证明了 PE 的氧化降解是由于微生物和动物肝脏匀浆中的单加氧酶成分。

1992 年, Pometto 等^[48]将 *Streptomyces viridosporus*、*S. badius* 和 *S. setonii* 摇瓶培养后,制备了细胞外产物的浓缩物,将经 10 d 热处理(70 °C)的淀粉-PE 可降解塑料膜与活性或非活性酶一起孵育 3 周(37 °C), FTIR、机械性能和分子量分析结果表明,活性酶的作用能使 PE 薄膜产生降解。

2015 年, Azeko 等^[49]介绍了细菌 *Serratia marcescens* 的上清液胞外酶促进 PE 的降解,并将其与直接暴露于菌液下的降解进行了比较,结果表明,无细胞提取物上清液降解 LLDPE 的速度要快于菌液,还通过 SEM、差示扫描量热法(differential scanning calorimetry, DSC)和 FTIR 阐明了降解机理。这些方法表明 *S. marcescens* 及其上清液均降解 LLDPE, LLDPE 被微生物降解后, KCBI 也有所增加,降解过程还导致了微孔的形成。

一些研究者选用过氧化物酶测定了其在 PE 降解中的功能。1998 年, Iiyoshi 等^[45]在各种营养条件下,研究了木质素降解真菌 IZU-154、*Phanerochaete chrysosporium* 和 *Trametes versicolor* 对高分子量 PE 膜的降解作用,结果发现,在氮或碳限制的培养条件下, IZU-154 在 3 种降解木质素的真菌中显示出最显著的 PE 降解;此外,对于 *P. chrysosporium* 和 *T. versicolor*,向氮或碳限制的培养基中添加 Mn(II)可增强 PE 的降解;这些结果表明 PE 降解与木质素降解真菌的木质素分解酶活性有关;在 Tween-80、Mn(II)和 Mn(III)螯合剂的存在下,用部分纯化的锰过氧化物酶(MnP)处理 PE 膜会导致显著降解。该结果表明, MnP 是木质素

降解真菌降解 PE 的关键酶。

2004 年, Zhao 等^[46]使用过氧化物酶作为催化剂和过氧化氢作为氧化剂进行酶表面改性,通过 XPS、FTIR 和 SEM 表征改性后 HDPE 表面的化学组成和形貌的变化,结果表明,酶处理后 HDPE 表面的 O/C 原子比增加,并且出现了新的官能团,例如-CO-;而且,经处理的 HDPE 膜表面相比未经处理的表面变粗糙,通过紫外可见光谱和接触角测量分析了处理过和未处理过的 HDPE 薄膜亲水性,发现 HDPE 与水的接触角减小,而表面对水溶性染料的吸附能力增强,这清楚地表明,酶处理可以显著提高 HDPE 膜表面的亲水性。

来源于假单胞菌的烷烃降解酶基因也被用于研究 PE 降解。2012 年, Yoon 等^[42]将 *Pseudomonas* sp. E4 的烷烃羟化酶基因(*alkB*)在大肠杆菌 BL21 中表达,而重组大肠杆菌 BL21 在 37 °C 的堆肥中进行 80 d 的生物降解期间,将 LMWPE 的 19.3% 的碳矿化为 CO₂,而非重组宿主细胞大肠杆菌 BL21 对 LMWPE 完全没有活性生物降解,表明来自假单胞菌属物种的 *alkB* 在 LMWPE 降解中起着核心作用。在之后的 2015^[43]和 2016 年^[44],这个团队又将 *P. aeruginosa* E7 来源的 *alkB* 在大肠杆菌中进行了表达,降解实验分别进行了 80 d 和 50 d,降解后材料表面有不同程度的蚀刻,以上成果表明了 *alkB* 对低分子量的 PE 降解的能力。

漆酶也被报道可能是一种具有 PE 降解能力的酶。2012 年, Santo 等^[47]报道了细菌铜结合酶漆酶在 PE 降解菌株 *Rhodococcus ruber* 氧化和降解 PE 中的作用,发现铜显著影响漆酶的诱导和活性,导致 PE 降解;通过 RT-PCR 进行的 mRNA 定量显示,与未处理的对照相比,铜处理的培养物中漆酶 mRNA 水平增加了 13 倍;与未修饰的对照相比,向含有 PE 的 *R. ruber* 培养物中添加铜可将 PE 的生物降解率提高 75%;此外,当从铜诱导的细胞培养基中收集到漆酶的胞外亚型时,将其与 PE 一起温育,该聚合物的重均分子量(M_w)和数均分

子量(M_n)分别降低 20%和 15%;用细胞外漆酶孵育的类似 PE 薄膜的 FTIR 分析显示羰基峰增加,表明漆酶的酶促氧化作用在 PE 的生物降解中起主要作用。

4 结论与展望

已有报道分别从土壤、海洋、废弃物堆置点、昆虫肠道等微生物种类丰富的生境中分离得到了大量的 PE 降解微生物资源,并发现一些单加氧酶、过氧化酶和漆酶具有氧化降解 PE 的能力。这些研究为进一步研究 PE 的生物降解机制和发展 PE 的微生物降解处理技术提供了依据。不过,要进一步推进 PE 微生物降解的研究,还需要在以下方面有所突破:

(1) 完善 PE 降解菌株分离和筛选方法,确认菌株的降解表型。当前研究中一般采用的都是包含有机添加剂和低聚物分子的商品化 PE 塑料,导致不能区分 PE 塑料的重量损失以及产生的 CO_2 是来自有机添加剂或者低聚物的降解还是塑料本身。所以应该规范降解实验 PE 塑料底物为窄分子量分布且不添加任何助剂的纯 PE 标准品,在此基础上,根据微生物生长、重量损失及同位素示踪实验(建议 28 d 降解率大于 15%以上)等实验证据,完全确认降解表型。

(2) PE 在常温下是以半结晶型的凝聚态存在,结晶域的有序结构限制了分子链的运动能力,从而降低接触酶的机率和降解反应速率。要研究调控凝聚态结构的方法,突破分子链运动的限制,进而大幅提高生物降解效率。

(3) 在上述工作取得突破的基础上,以确认的高效降解菌株为对象,借助高通量组学技术并结合微生物分子生物学方法,将有望逐步阐明 PE 降解过程的微生物代谢网络特点,明确关键功能基因或蛋白质。

(4) 借助蛋白质工程和合成生物学技术手段,通过改造 PE 降解酶和代谢途径设计,构建高效的人工合成微生物。同时应进一步探索更适合微生物

生长和降解的条件,尝试多菌种复合降解,以提高降解效率。

REFERENCES

- [1] Ru JK, Huo YX, Yang Y. Microbial degradation and valorization of plastic wastes[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 442
- [2] Shima M. Biodegradation of plastics[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2001, 12(3): 242-247
- [3] Peng RT, Xia ML, Ru JK, et al. Microbial degradation of polyurethane plastics[J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2018, 34(9): 1398-1409 (in Chinese)
彭瑞婷, 夏孟丽, 茹家康, 等. 聚氨酯塑料的微生物降解[J]. *生物工程学报*, 2018, 34(9): 1398-1409
- [4] Restrepo-Flórez JM, Bassi A, Thompson MR. Microbial degradation and deterioration of polyethylene—A review[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2014, 88: 83-90
- [5] Yang J, Yang Y, Wu WM, et al. Evidence of polyethylene biodegradation by bacterial strains from the guts of plastic-eating waxworms[J]. *Environmental Science & Technology*, 2014, 48(23): 13776-13784
- [6] Yang Y, Chen JW, Wu WM, et al. Complete genome sequence of *Bacillus* sp. YP1, a polyethylene-degrading bacterium from Waxworm's gut[J]. *Journal of Biotechnology*, 2015, 200: 77-78
- [7] Yang Y, Yang J, Wu WM, et al. Biodegradation and mineralization of polystyrene by plastic-eating mealworms: part 1. Chemical and physical characterization and isotopic Tests[J]. *Environmental Science & Technology*, 2015, 49(20): 12080-12086
- [8] Yang Y, Yang J, Wu WM, et al. Biodegradation and mineralization of polystyrene by plastic-eating mealworms: part 2. Role of gut microorganisms[J]. *Environmental Science & Technology*, 2015, 49(20): 12087-12093
- [9] Zahra S, Abbas SS, Mahsa MT, et al. Biodegradation of low-density polyethylene (LDPE) by isolated fungi in solid waste medium[J]. *Waste Management*, 2010, 30(3): 396-401
- [10] Nocker A, Sossa-Fernandez P, Burr MD, et al. Use of propidium monoazide for live/dead distinction in microbial ecology[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73(16): 5111-5117
- [11] Sudhakar M, Doble M, Murthy PS, et al. Marine microbe-mediated biodegradation of low- and high-density polyethylenes[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2008, 61(3): 203-213
- [12] Shah AA, Hasan F, Hameed A, et al. Isolation of *Fusarium* sp. AF4 from sewage sludge, with the ability to adhere the surface of polyethylene[J]. *African Journal of Microbiology Research*, 2009, 3(10): 658-663
- [13] Calil MR, Gaboardi F, Guedes CGF, et al. Comparison of the biodegradation of poly(ϵ -caprolactone), cellulose acetate

- and their blends by the Sturm test and selected cultured fungi[J]. *polymer testing*, 2006, 25(5): 597-604
- [14] Lwanga EH, Thapa B, Yang XM, et al. Decay of low-density polyethylene by bacteria extracted from earthworm's guts: a potential for soil restoration[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 624: 753-757
- [15] Shen P, Chen XD. *Microbiology*[M]. 2nd ed. Beijing: Higher Education Press, 2006: 2 (in Chinese)
沈萍, 陈向东. *微生物学*[M]. 2 版. 北京: 高等教育出版社, 2006: 2
- [16] Albertsson AC. Biodegradation of synthetic polymers. II. A limited microbial conversion of ^{14}C in polyethylene to $^{14}\text{CO}_2$ by some soil fungi[J]. *Journal of Applied Polymer Science*, 1978, 22(12): 3419-3433
- [17] Gilan I, Hadar Y, Sivan A. Colonization, biofilm formation and biodegradation of polyethylene by a strain of *Rhodococcus ruber*[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2004, 65(1): 97-104
- [18] Sivan A, Szanto M, Pavlov V. Biofilm development of the polyethylene-degrading bacterium *Rhodococcus ruber*[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2006, 72(2): 346-352
- [19] Tribedi P, Sil AK. Low-density polyethylene degradation by *Pseudomonas* sp. AKS2 biofilm[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2013, 20(6): 4146-4153
- [20] Peixoto J, Silva LP, Krüger RH. Brazilian Cerrado soil reveals an untapped microbial potential for unpretreated polyethylene biodegradation[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2017, 324: 634-644
- [21] Harshvardhan K, Jha B. Biodegradation of low-density polyethylene by marine bacteria from pelagic waters, Arabian Sea, India[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2013, 77(1/2): 100-106
- [22] Delacuvellerie A, Cyriaque V, Gobert S, et al. The plastisphere in marine ecosystem hosts potential specific microbial degraders including *Alcanivorax borkumensis* as a key player for the low-density polyethylene degradation[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2019, 380: 120899
- [23] Balasubramanian V, Natarajan K, Hemambika B, et al. High-density polyethylene (HDPE)-degrading potential bacteria from marine ecosystem of Gulf of Mannar, India[J]. *Letters in Applied Microbiology*, 2010, 51(2): 205-211
- [24] Kyaw BM, Champakalakshmi R, Sakharkar MK, et al. Biodegradation of Low Density Polythene (LDPE) by *Pseudomonas* species[J]. *Indian Journal of Microbiology*, 2012, 52(3): 411-419
- [25] Esmaeili A, Pourbabaee AA, Alikhani HA, et al. Biodegradation of Low-Density Polyethylene (LDPE) by mixed culture of *Lysinibacillus xylanilyticus* and *Aspergillus niger* in soil[J]. *PLoS One*, 2013, 8(9): e71720
- [26] Sarmah P, Rout J. Efficient biodegradation of low-density polyethylene by cyanobacteria isolated from submerged polyethylene surface in domestic sewage water[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2018, 25(33): 33508-33520
- [27] Park SY, Kim CG. Biodegradation of micro-polyethylene particles by bacterial colonization of a mixed microbial consortium isolated from a landfill site[J]. *Chemosphere*, 2019, 222: 527-533
- [28] Li ZY, Wei R, Gao MX, et al. Biodegradation of low-density polyethylene by *Microbulbifer hydrolyticus* IRE-31[J]. *Journal of Environmental Management*, 2020, 263: 110402
- [29] Ren L, Men LN, Zhang ZW, et al. Biodegradation of polyethylene by *Enterobacter* sp. D1 from the guts of wax moth *Galleria mellonella*[J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2019, 16(11): 1941
- [30] Zhang JQ, Gao DL, Li QH, et al. Biodegradation of polyethylene microplastic particles by the fungus *Aspergillus flavus* from the guts of wax moth *Galleria mellonella*[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 704: 135931
- [31] Albertsson AC, Erlandsson B, Hakkarainen M, et al. Molecular weight changes and polymeric matrix changes correlated with the formation of degradation products in biodegraded polyethylene[J]. *Journal of Environmental Polymer Degradation*, 1998, 6(4): 187-195
- [32] Chatterjee S, Roy B, Roy D, et al. Enzyme-mediated biodegradation of heat treated commercial polyethylene by *Staphylococcal* species[J]. *Polymer Degradation and Stability*, 2010, 95(2): 195-200
- [33] Paço A, Duarte K, da Costa JP, et al. Biodegradation of polyethylene microplastics by the marine fungus *Zalerion maritimum*[J]. *Science of the Total Environment*, 2017, 586: 10-15
- [34] Albertsson AC, Karlsson S. The influence of biotic and abiotic environments on the degradation of polyethylene[J]. *Progress in Polymer Science*, 1990, 15(2): 177-192
- [35] Kawai F, Shibata M, Yokoyama S, et al. Biodegradability of Scott-Gelead photodegradable polyethylene and polyethylene wax by microorganisms[J]. *Macromolecular Symposia*, 1999, 144(1): 73-84
- [36] Kowalczyk A, Chyc M, Ryszka P, et al. *Achromobacter xylooxidans* as a new microorganism strain colonizing high-density polyethylene as a key step to its biodegradation[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2016, 23(11): 11349-11356
- [37] Jeon HJ, Kim MN. Isolation of a thermophilic bacterium capable of low-molecular-weight polyethylene degradation[J]. *Biodegradation*, 2013, 24(1): 89-98
- [38] Yang Y, Wang JL, Xia ML. Biodegradation and mineralization of polystyrene by plastic-eating superworms *Zophobas atratus*[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 708: 135233
- [39] Xia ML, Wang JL, Huo YX, et al. *Mixta tenebrionis* sp. nov., isolated from the gut of the plastic-eating mealworm

- Tenebrio molitor* L.[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2020, 70(2): 790-796
- [40] Steen AD, Crits-Christoph A, Carini P, et al. High proportions of bacteria and archaea across most biomes remain uncultured[J]. The ISME Journal, 2019, 13(12): 3126-3130
- [41] Wasserbauer R, Beranová M, Vancurová D, et al. Biodegradation of polyethylene foils by bacterial and liver homogenates[J]. Biomaterials, 1990, 11(1): 36-40
- [42] Yoon MG, Jeon HJ, Kim MN. Biodegradation of polyethylene by a soil bacterium and *alkB* cloned recombinant cell[J]. Journal of Bioremediation & Biodegradation, 2012, 3(4): 145
- [43] Jeon HJ, Kim MN. Functional analysis of alkane hydroxylase system derived from *Pseudomonas aeruginosa* E7 for low molecular weight polyethylene biodegradation[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2015, 103: 141-146
- [44] Jeon HJ, Kim MN. Comparison of the functional characterization between alkane monooxygenases for low-molecular-weight polyethylene biodegradation[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2016, 114: 202-208
- [45] Iiyoshi Y, Tsutsumi Y, Nishida T. Polyethylene degradation by lignin-degrading fungi and manganese peroxidase[J]. Journal of Wood Science, 1998, 44(3): 222-229
- [46] Zhao JC, Guo ZA, Ma XY, et al. Novel surface modification of high-density polyethylene films by using enzymatic catalysis[J]. Journal of Applied Polymer Science, 2004, 91(6): 3673-3678
- [47] Santo M, Weitsman R, Sivan A. The role of the copper-binding enzyme – laccase – in the biodegradation of polyethylene by the actinomycete *Rhodococcus ruber*[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2013, 84: 204-210
- [48] Pometto III AL, Lee BT, Johnson KE. Production of an extracellular polyethylene-degrading enzyme(s) by *Streptomyces* species[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1992, 58(2): 731-733
- [49] Azeko ST, Etuk-Udo GA, Odusanya OS, et al. Biodegradation of linear low density polyethylene by *Serratia marcescens* subsp. *marcescens* and its cell free extracts[J]. Waste and Biomass Valorization, 2015, 6(6): 1047-1057