李泽霖,徐子航,徐露卉,等.聚乙烯高效降解复合菌系的构建及其降解特性研究[J].江西农业大学学报,2024,46(2):481-489.
LI Z L,XU Z H,XU L H,et al.Construction and degradation characteristics of high-efficiency polyethylene degrading composite microbial community[J].Acta agriculturae universitatis Jiangxiensis,2024,46(2):481-489.

聚乙烯高效降解复合菌系的构建及其降解特性研究

李泽霖,徐子航,徐露卉,张庆华*

(江西农业大学 生物科学与工程学院,江西 南昌 330045)

摘要:【目的】聚乙烯塑料的稳定性及与日俱增的使用量为生态环境带来严重"白色污染",其风化形成的微塑料为生物健康安全带来严重威胁的难题亟待解决。【方法】通过选择与纯培养技术分离大蜡螟幼虫消化道内潜在的聚乙烯微生物降解资源,通过菌株比例复配构建高效降解复合菌系,通过质控回收评估其降解能力,使用光镜与扫描电镜验证其降解性能,通过红外光谱、凝胶渗透色谱、气质联用与液质联用等技术手段探究聚乙烯的微生物降解特性。【结果】共分离出13株可降解聚乙烯微生物;首次发现*Debaryomyces hansenii*具有高效降解聚乙烯的能力;构建出一组由真菌与细菌组成的聚乙烯高效降解复合菌系,相较于单菌复合菌系的降解性能提升了3.3倍,其降解效率高达0.936 7 mg/d远高于现有研究水平;光镜与扫描电镜发现聚乙烯薄膜降解后表面存在生物膜附着痕迹与明显孔洞;红外光谱显示降解液中存在多个新官能团,凝胶渗透色谱结果显示降解后聚乙烯微塑料分子量降低;气质与液质联用结果表明降解液中出现了酰胺类、氨基酸类、烯烃类、醇类、酮醛类等生物活性成分,以及大分子烷烃类物质等。【结论】研究挖掘了聚乙烯的微生物降解资源,构建出了高效降解复合菌系,探究了微生物的降解特性,为聚乙烯的微生物降解提供了数据支撑与可行方案。

关键词:大蜡螟幼虫;复合菌系;聚乙烯;生物降解;降解特性
中图分类号:S433.4;Q939.9　　**文献标志码:**A　　**开放科学(资源服务)标识码(OSID):**
文章编号:1000-2286(2024)02-0481-09

Construction and degradation characteristics of high-efficiency polyethylene degrading composite microbial community

LI Zelin,XU Zihang,XU Luhui,ZHANG Qinghua*

(College of Bioscience and Bioengineering,Jiangxi Agricultural University,Nanchang 330045,China)

Abstract:[**Objective**]The The stability of polyethylene plastics and the increasing usage pose a serious threat of "white pollution" to the ecological environment.The generated microplastics from its weathering poses a significant challenge to biological health and safety.These challenges are in need of urgent solution.[**Method**]

收稿日期:2023-12-08　　**修回日期:**2024-01-15
基金项目:国家自然科学基金项目(32160027)和江西省自然科学基金重点项目(20212ACB205003)
Project supported by the National Natural Science Foundation of China(32160027)and The Key Project of Natural Science Foundation of Jiangxi Province,China(20212ACB205003)
作者简介:李泽霖,硕士生,orcid.org/0000-0002-8680-0863,0242021011@stu.jxau.edu.cn;*通信作者:张庆华,教授,博士,主要从事环境微生物降解研究,orcid.org/0000-0003-1067-4343,zqh_net@163.com。
©《江西农业大学学报》编辑部,开放获取CC BY-NC-ND协议

Potential microbial degradation resources for polyethylene in the digestive tract of the greater wax moth larvae were isolated using pure cultivation techniques. An efficient degradation composite microbial community was constructed through the proportional combination of strains. The degradation capacity was assessed through quality control recovery, and its performance was validated by light microscopy and scanning electron microscopy. Microbial degradation characteristics of polyethylene were explored by techniques including infrared spectroscopy, gel permeation chromatography, gas chromatography-mass spectrometry, and liquid chromatography-mass spectrometry. [**Result**] Thirteen strains of polyethylene-degrading microorganisms were isolated. Debaryomyces hansenii was identified for the first time as having the ability to efficiently degrade polyethylene. A polyethylene efficient degradation composite microbial community composed of fungi and bacteria was established. Compared with single strains, the degradation performance of the composite microbial community increased by 3.3 times, with a degradation efficiency of 0.936 7 mg/d, which significantly surpassed previous levels. Light microscopy and scanning electron microscopy revealed the presence of biofilm traces and noticeable pores on the surface of degraded polyethylene films. Infrared spectroscopy showed the presence of multiple new functional groups in the degradation solution, and gel permeation chromatography results indicated a reduction in the molecular weight of polyethylene microplastics after degradation. Gas and liquid chromatography-mass spectrometry results indicated the presence of bioactive components such as amides, amino acids, olefins, alcohols, ketones, and large-molecule alkanes in the degradation solution. [**Conclusion**] The study identified microbial degradation resources for polyethylene by constructing an efficient degradation composite microbial community, and it explored microbial degradation characteristics, thus providing data support and feasible solutions for the microbial degradation of polyethylene.

Keywords: *Galleria mellonella* larvae; omposite microbial community; polyethylene; biodegradation; degradation characteristics

【研究意义】伴随着经济的快速增长，世界范围内石油基合成塑料的产量显著增加，自1964年以来，塑料的使用量升高了20倍，如果不加以控制，预计在2035年将再扩大1倍，塑料使用量的显著增加，使日常生活中的“白色污染”日渐严重，对生态环境造成了不可逆的损害[1]。聚乙烯（Polyethylene，PE）是由乙烯为单体经加聚反应而形成，通过添加塑化剂、抗菌剂、热稳定剂等进而具有疏水性高、抗菌、表面活性低的特性[2]。PE塑料由于其价格低廉、化学物理性质稳定以及耐用性等特性被广泛应用于日常生活中，但正是由于PE的这些特性，使其在自然界中难以被降解[3]。未被降解的PE塑料经过风化作用会形成直径小于5 mm的微塑料，微塑料会吸附环境中的有毒有害物质，并通过食物链的放大与累积进而造成更大的环境危害与健康问题[4-5]。为此，如何高效且无害化处理环境中现存的PE塑料已成为当前需要解决的难题之一。【前人研究进展】常规的物理化学处理方式如回收、焚烧、掩埋等存在效率低，产生二次污染且能耗比高的劣势[6-7]。近年来，有研究利用生物法通过生物酶或微生物来达到降解塑料甚至回收塑料的目的，具有环境友好、成本低廉的优点，因此得到广泛关注[8]。目前已报道的可参与降解PE的微生物仅有鲍曼不动杆菌（*Acinetobacte baumannii*）、石蜡节杆菌（*Arthrobacter paraffineus*）等几十种细菌、真菌和放线菌[9]。国内外有关微生物降解塑料的研究大多数采用的是单菌，然而PE塑料的化学结构稳定，单菌难以达到高效降解的目的。现有研究表明微生物共培养技术能有效解决单菌降解污染物效率低下的问题[10]，因此，利用复合菌系降解PE塑料，具有提升塑料生物降解效率的潜能，对环境保护与生物健康安全具有积极意义。

【本研究切入点】大蜡螟（*Galleria mellonella*）幼虫以蜜蜂巢脾为食，损坏的巢脾会导致蜜蜂无法正常羽化进而危害到整个蜜蜂蜂群，巢脾的主要成分为蜂蜡，PE与蜂蜡具有相似的分子结构[11]。近年来，研究人员发现大蜡螟的幼虫可以以PE为食，并将其转化为乙二醇，进一步的研究表明，大蜡螟幼虫降解PE的能力与其消化道中的微生物类型直接相关[12]。【拟解决的关键问题】本研究从大蜡螟幼虫取食PE的现

象出发,通过选择与纯培养技术进行驯化、富集纯化在大蜡螟幼虫消化道中具有PE降解能力的微生物,进一步通过菌株组合和降解性能比较构建高效PE降解复合菌系,通过光镜与扫描电镜验证其降解能力,最后采用红外光谱、凝胶渗透色谱、气质联用与液质联用等技术手段,探讨复合菌系的PE降解特性。为提高PE的生物降解效率提供理论基础与可行的解决方案。

1　材料与方法

1.1　材料

1.1.1　塑料及虫源

PE微塑料(150 μm)与薄膜,购自东莞旺达塑胶原料公司。大蜡螟幼虫,购买自桂林家成昆虫养殖公司,为人工饲养的2~5龄幼虫。

1.1.2　培养基

无碳源基础无机盐培养基(g/L):$CaCL_2·2H_2O$ 0.7g、KCL 0.5g、K_2HPO_4 0.7g、$MgSO_4·7H_2O$ 0.7g、$MnSO_4·H_2O$ 0.01g、NH_4NO_3 1.0g、NaCL 0.005g、$ZnSO_4·7H_2O$ 0.002g,pH 7.1。固体培养基添加2%琼脂。

1.2　方法

1.2.1　降解PE微生物的筛选构建、降解过程生物量监测与微塑料的重量损失测定

将大蜡螟幼虫分组饥饿处理2 d后,置于含PE微塑料的饲养盒中培养10 d。将取食PE的幼虫进行表面灭菌处理,然后将其消化道组织挑选出并接种到无碳源培养基中。在120 r/min、30 ℃条件下进行PE微塑料降解的驯化培养。随后将培养液中的微生物以LB培养基多次划线纯化,得到单菌株。将单菌株培养至对数生长期,在10%接种量条件下以0.2 g灭菌PE微塑料为唯一碳源进行再培养,回收PE微塑料并测定质量变化。选取高效降解微生物等比例构建复合菌系再培养,使用菌落计数法连续测定PE降解过程中生物量变化过程。通过质控计算微塑料失重率[13]。计算公式如下:

$$失重率 = \frac{PE添加量 - PE降解后质量}{PE添加量} \times 100\%$$

1.2.2　微生物降解PE薄膜的形态学变化

将50 mg灭菌PE薄膜加入到基础无机盐培养基中与10%接种量高效降解复合菌系在120 r/min、30 ℃条件下于250 mL锥形瓶中共培养30 d。取出部分共培养的PE薄膜清洗并烘干。使用光学显微镜观察PE薄膜表面微生物定殖情况。取部分降解后的薄膜,进行SDS溶液浸泡、冲洗和喷金处理[14]。通过场发射扫描电镜观察微观变化,均以空白对照组的薄膜为参照。

1.2.3　降解液的官能团变化与降解前后微塑料的分子量变化

使用傅立叶红外光谱法(FTIR)测定PE降解液化学官能团的变化,波长扫描范围1 000~3 500 cm^{-1},扫描分辨率为4.0 cm^{-1},扫描次数为100次,经过背景扣除与校正后与空白对照做比对探究降解液官能团变化[14]。采用凝胶渗透色谱法(GPC)测定PE微塑料的分子量,将降解前后的PE微塑料样品分别溶于四氢呋喃中,经过仪器测定其降解前后的分子量变化情况。

1.2.4　PE降解液中低沸点挥发性物质与高沸点极性物质分析

通过气质联用仪测定PE降解液中的低沸点挥发性物质。取PE降解液,离心15 min,收集上清液,过0.22 μm水相过滤膜处理后取20 mL用5 mL乙酸乙酯萃取两次,取1 mL萃取液,经0.22 μm有机相滤膜过滤后用GC-MSD气质联用仪测定,条件为:氦气载气,HP-5MS柱,60~280 ℃升温,EI源,全扫描,扫描范围40~450 m/z[13]。通过质谱数据库比对分析低沸点挥发性物质。

通过液质联用仪分析PE降解液中高沸点极性物质。收集降解液,离心15 min获取上清液,过0.22 μm水相过滤膜后用UPLC-Q/TOF液质联用仪测定,条件为:HSS T3 1.8 μm柱,流动相A为0.1%甲酸水溶液,B为甲醇,柱温30 ℃,流速0.2 mL/min,ESI源,全扫描范围50~3 000 m/z[15]。通过质谱数据库比对分析高沸点极性物质。

1.2.5　高效PE降解微生物的鉴定及系统发育分析

使用细菌基因组DNA提取试剂盒提取细菌全基因组,并对其中的16S rRNA片段进行PCR扩增,PCR引物为27F(AGAGTTTGATCMTGGCTCAG)和1492R(GGTTACCTTGTTACGACTT)。对经形态学鉴

定的真菌使用CTAB法抽提全基因组，并对其中的18S rRNA片段进行PCR扩增，PCR引物为NS1（GTAGTCATATGCTTGTCTC）和NS6（GCATCACAGACCTGTTATTGCCTC）。PCR反应体系（25 μL）：*Taq* DNA Master Mix 12.5 μL，DNA模板1 μL，ddH_2O 9.5 μL。反应条件：94 ℃预变性5 min，94 ℃变性45 s，56 ℃退火45 s，72 ℃延伸1.5 min，30个循环。将PCR产物经检测合格后送至生工生物工程（上海）股份有限公司测序。测序结果拼接验证后上传至NCBI数据库获取登录号，经BLAST核苷酸序列同源性比对后选取高同源性菌株序列。利用MEGA 11.0软件分析构建系统发育树。

1.3 数据分析

采用Origin 2023绘图软件进行图表绘制，使用GraphPad Prism 10软件进行数据统计分析，每组试验3次重复。

2 结果与分析

2.1 可降解PE微生物的筛选、单菌株与复合菌系降解性能比对与降解过程生物量监测结果

共筛选出13株可降解PE微生物，编号PE2、PE3、PE4的失重率均大于1%。将幼虫消化道富集菌悬液（PE Mix）与PE2、PE3、PE4单菌株以及由单菌株构建的复合菌系展开降解性能试验。在单菌株的降解试验中，PE4的失重率最高为（3.51±0.61）%，降解效率为0.25 mg/d。在复合菌系的降解试验中PE2、PE4（1∶1）复合菌系的降解效率最高，其PE微塑料的失重率为（13.3±0.87）%，降解效率为0.936 7 mg/d。结果表明（图1a），由PE2与PE4组成的PE2、PE4（1∶1）复合菌系降解能力相较于单菌来说显著提升。对PE2与PE4单菌株与复合菌系降解过程的菌落计数发现（图1b），在培养起始微生物生物量生长趋势缓慢，在培养第3天增速，培养体系整体生物量菌落数最高接近10^8 CFU/mL水平。结果表明微生物可以利用PE微塑料为唯一碳源进行生长但需有一定的适应过程。

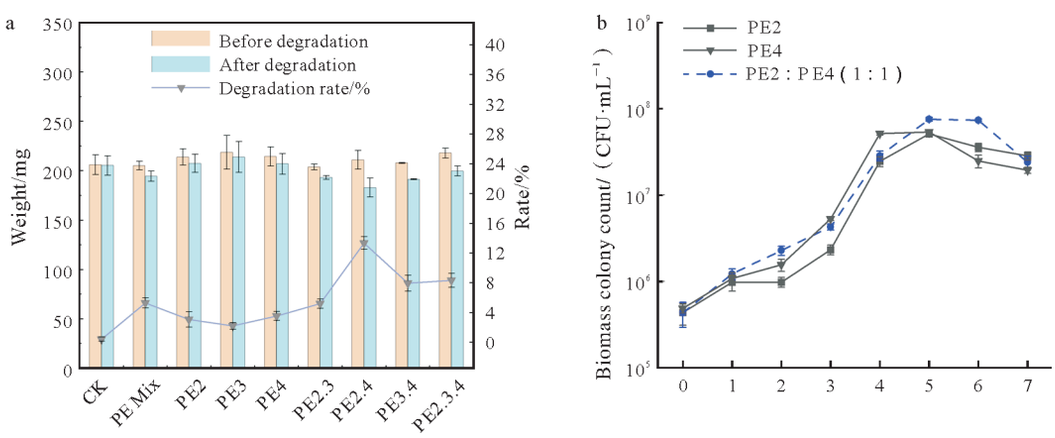


图1 单菌株与复合菌系30日降解效果比对（a）与7日培养体系生物量菌落数监测结果（b）

Fig.1 Comparison of 30 day degradation efficiency between single strain and composite strain（a）and monitoring results of biomass colony count in 7-day culture system（b）

2.2 高效复合菌系对PE薄膜表面微观形态的影响

经30 d复合菌系降解后，PE2和PE4（1∶1）处理的PE薄膜光镜下表面呈现明显微生物定殖和生长痕迹，形成生物膜聚集、裂痕和糊状物导致透光性下降（图2a2、图2a3）。相比之下，未接菌的对照组薄膜保持光滑透明（图2a1）。扫描电镜观察显示，复合菌系处理后的薄膜表面变得粗糙，出现缝隙和孔洞（图2b2、图2b3），而对照组表面保持光滑（图2b1）。这些微观形态变化与微生物降解PE的直接证据相符，为该降解过程提供了观察依据。

2.3 PE降解液的官能团变化与降解前后分子量变化

降解液在746 cm^{-1}出现单个吸收峰，该吸收峰为C-C、C-O、C-H、O-H等官能团的伸缩振动。2 106 cm^{-1}吸收峰位于2 500~2 000 cm^{-1}三键和累积双键伸缩振动区内，这些吸收峰的出现表明降解液中可能存在C≡C、C=C=C等官能团（图3a）。使用GPC测定结果表明，经过降解后的分布曲线发生偏移，分子量（Mw/Mn）降低了约13%（图3b），分子量的降低表明PE的长链结构发生了解聚或裂解。

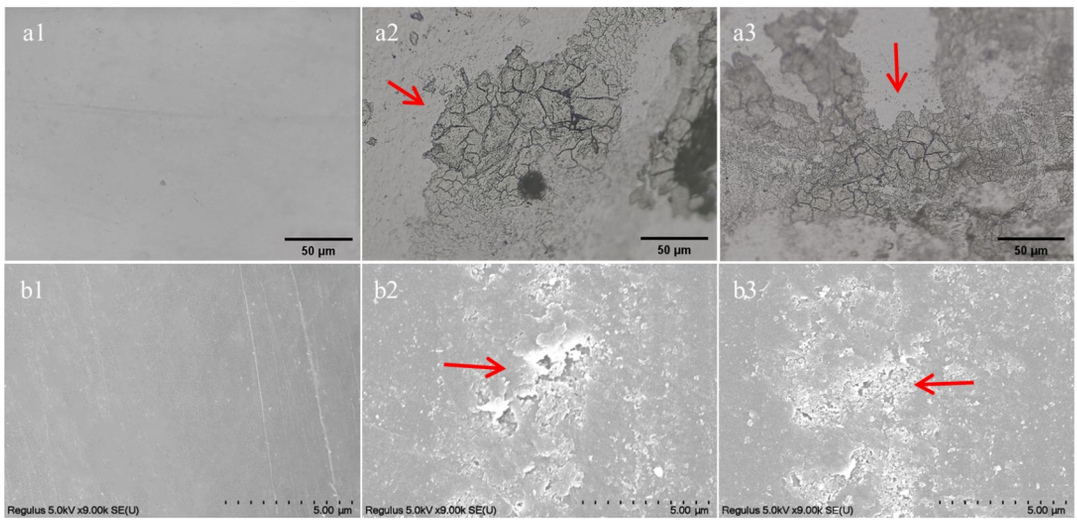


图2　复合菌系处理30 d PE薄膜表面光镜(a)电镜(b)形态特征

Fig.2　Surface light microscopy(a)electron microscopy(b)morphological characteristics of polyethylene film after 30 d treatment with composite bacterial strains

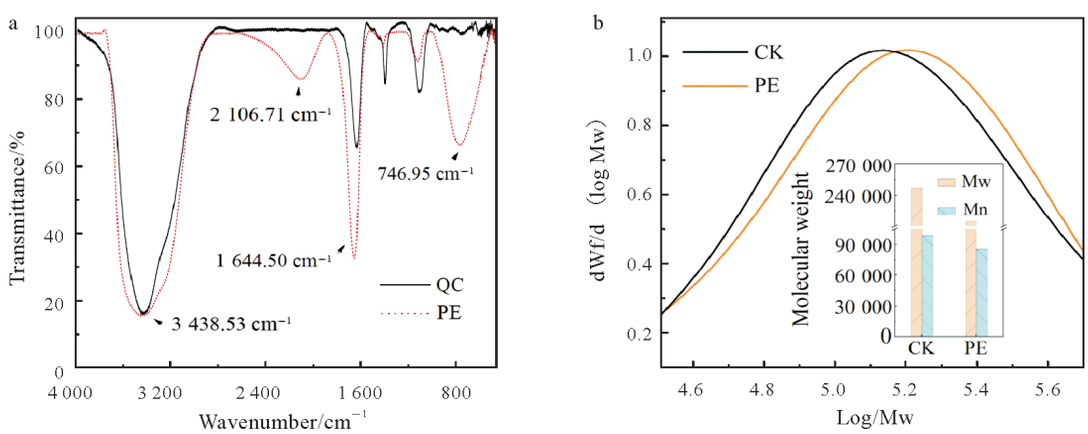


图3　降解液红外光谱图(a)降解前后PE微塑料分子量比对(b)

Fig.3　Infrared spectrogram of degradation solution(a)comparison of molecular weight of polyethylene microplastics before and after degradation(b)

2.4　PE降解液中低沸点挥发性物质与高沸点极性物质分析

降解液的GC-MSD色谱图(图4a)出现多个明显色谱峰。PE经过复合菌系处理后降解液中出现了多种类型化合物(表1),包括氨基酸类物质N-Methylglycine,酰胺类物质2-Amino-Propanediamide,酮类物质2,4-Pentanedione,以及大分子烷烃类物质Decane。降解液的液质TIC总离子流图(图4b)出现多个

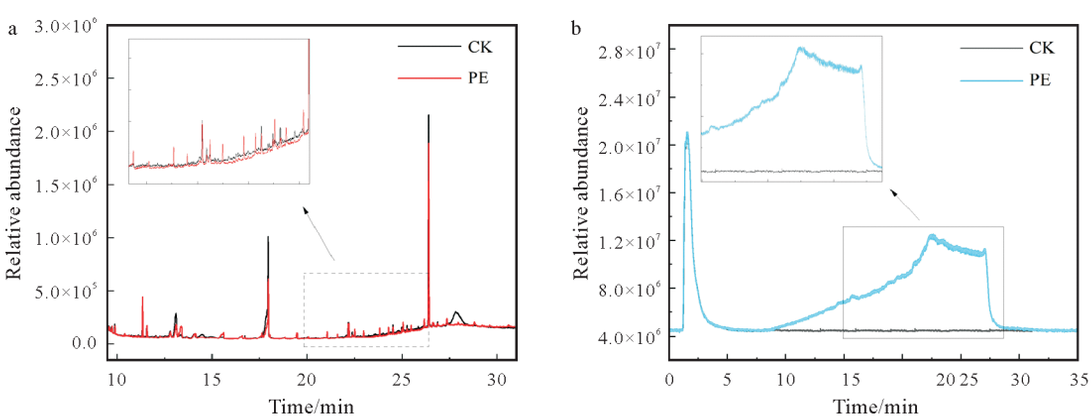


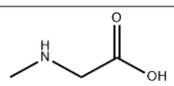
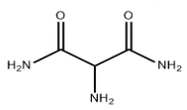
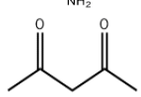
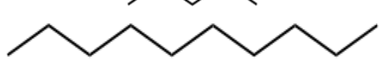
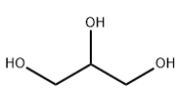
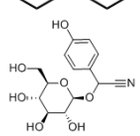
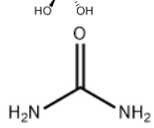
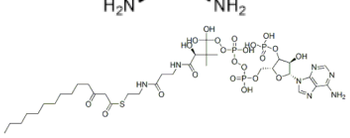
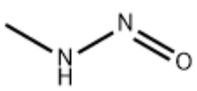
图4　降解液GC-MSD色谱图(a)UPLC-Q/TOF TIC总离子流图(b)

Fig.4　GC-MSD chromatogram of degradation solution (a) UPLC-Q/TOF TIC total ion flow diagram (b)

色谱吸收峰。经过比对后，降解液中检测出多种类型新产生的化合物，其中包括Urea、Glycerol等生物生长代谢的小分子物质以及Dhurrin、3-Oxotetradecanoyl-CoA与N-nitrosomethanamine等生物活性物质（表1）。气质与液质联用结果间接证明了复合菌系的降解能力。

表1 质谱数据库部分化合物比对结果

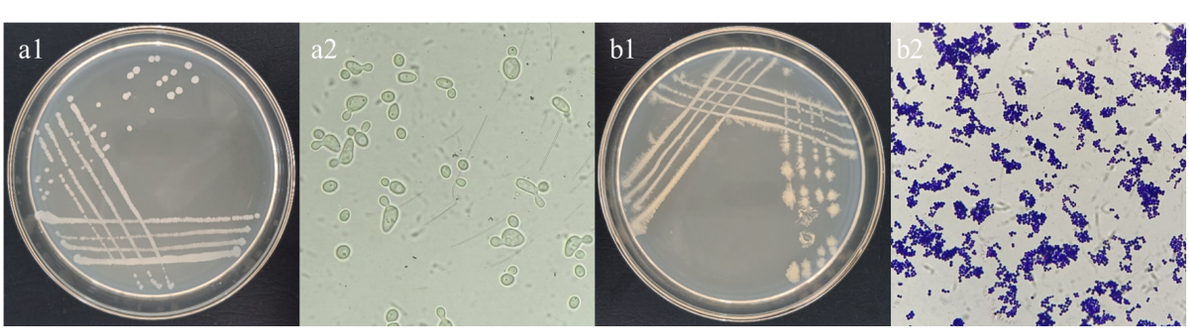
Tab.1 Comparison results of some compounds in the mass spectrometry database

保留时间 RT	化合物名称 Compound name	CAS号 CAS No	分子式 Formula	化合物结构式 Compound structure
GC:6.268	N-Methylglycine	107-97-1	$C_3H_7NO_2$	
GC:7.895	2-Amino-Propanediamide	62009-47-6	$C_3H_7N_3O_2$	
GC:10.496	2,4-Pentanedione	123-54-6	$C_5H_8O_2$	
GC:11.543	Decane	124-18-5	$C_{10}H_{22}$	
LC:0.522	Glycerol	56-81-5	$C_3H_8O_3$	
LC:1.422	Dhurrin	499-20-7	$C_{14}H_{17}NO_7$	
LC:16.899	Urea	57-13-6	CH_4N_2O	
LC:17.703 LC:25.162	3-Oxotetradecanoyl-CoA	122364-86-7	$C_{35}H_{60}N_7O_{18}P_3S$	
LC:24.660	N-nitrosomethanamine	64768-29-2	CH_4N_2O	

2.5 高效降解PE微生物的鉴定

2.5.1 微生物的形态学观察

直接镜检发现编号PE2的菌体成椭圆形球状，存在细胞壁与细胞核结构，有出芽生殖的现象（图5a2），初步判断PE2为酵母菌。编号PE4菌体较小，无明显细胞核等细胞器，经过革兰氏染色后结果为阳性菌体呈球状（图5b2），初步判断PE4为细菌。



a1：菌株PE2；a2：直接镜检；b1：菌株PE4；b2：革兰氏染色。

a1：strain PE2；a2：direct microscopic examination；b1：strain PE4；b2：gram staining.

图5 菌株（PE2）与菌株（PE4）的形态

Fig.5 Morphology of strain PE2 and strain PE4

2.5.2　菌株的分子生物学鉴定与系统进化关系

将PE2菌株的测序结果进行拼接,将上述序列上传至NCBI Genbank数据库中,获得PE2 18S rRNA序列登录号OP164162。通过构建系统发育树(图6a)发现菌株PE2与*Debaryomyces hansenii*同属于一个进化分支。将PE4菌株的测序结果拼接后上传至NCBI Genbank数据库中,获得PE4 16S rRNA序列登录号OP108436,通过构建系统发育树(图6b)发现菌株PE4与*Staphylococcus* sp.同属于一个进化分支。将PE2菌株鉴定为*Debaryomyces hansenii*,将PE4菌株鉴定为*Staphylococcus* sp.。

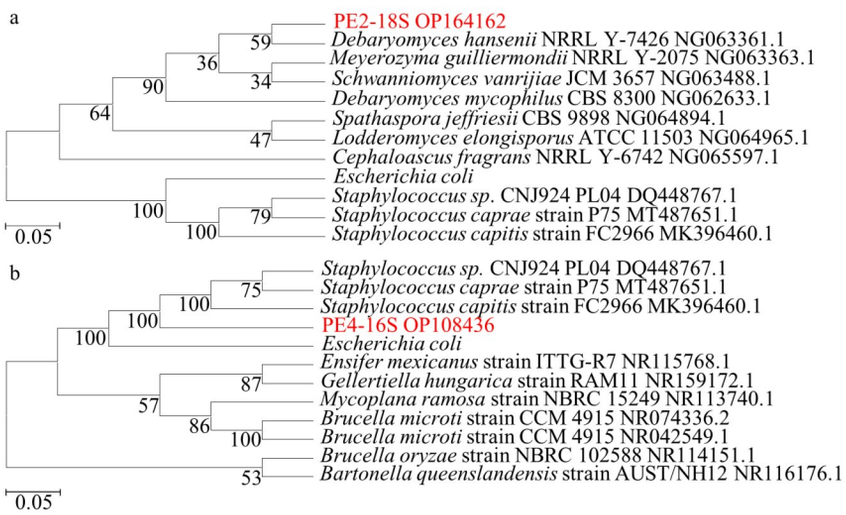


图6　PE2菌株的系统进化树(a)及PE4菌株的系统进化树(b)

Fig.6　Phylogenetic tree of PE2 strain(a)phylogenetic tree of PE4 strain(b)

3　讨论与结论

目前发现可降解PE的真菌主要包括曲霉属[16]、青霉菌属[17]等,细菌包括假单胞菌属[18]、葡萄球菌属[19]、肠杆菌属[20]等。研究发现昆虫存在啮食PE塑料现象,其降解能力与体内微生物有关。Lwangga等[21]从蜡虫肠道中分离出*Mycobacterium vanbaalenii*、*Bacillus* sp.等多种降解PE微生物。相较于在海洋与土壤等广泛的自然环境中,在昆虫体内筛选具有效率高、专一性强的特性。本研究经过选择与纯培养等步骤在大蜡螟幼虫消化道中分离出13株降解PE微生物,证实了在昆虫消化道分离可降解PE微生物的可行性。

微生物降解PE能力的评测主要为计算PE被微生物降解后的失重率与降解效率[22]。Harshvardhan等[23]从海洋中分离出的*Bacillus subtilis*可在30 d内降解50 mg PE的1.75%,降解效率为0.029 2 mg/d。Awasthi等[24]从试验室分离得到的*Rhizopus oryzae*可在30 d内降解0.028 5 g PE的(8.4±3)%,降解效率为0.079 8 mg/d。Yang等[25]从印度谷螟幼虫的肠道中分离出的*bacillus* sp. YP1可在60 d内降解100 mg PE的(10.7±0.2)%,降解效率为0.178 3 mg/d。本研究分离得到3株可高效降解PE微生物,其中被鉴定为*Debaryomyces hansenii*的PE2单菌可在30 d内降解0.21 g PE的(3.05±1.03)%,降解效率为0.216 7 mg/d。本研究首次发现*Debaryomyces hansenii*真菌具有高效降解PE的能力。

研究表明,混菌的构建可以显著提升PE的降解效率。Park等[26]从城市垃圾掩埋场沉积物中分离得到的*Bacillus* sp.& *Paenibacillus* sp.复合菌系可在60 d内降解100 mg PE微塑料的14.7%,降解效率为0.245 mg/d。Kunlere等[27]从掩埋塑料的垃圾堆中分离出的*Bacillus* sp. MMP10 & *Bacillus* sp. MGP1复合菌群可在6周内降解0.4 g PE微塑料的3.75%,降解效率为0.357 1 mg/d。本研究构建的复合菌系降解效率高达0.936 7 mg/d,相较于单菌提升了3.3倍,其降解性能远超目前已报道的PE微塑料降解菌株。

PE薄膜表面形态的测定可以更加直观的验证微生物的降解能力,扫描电镜可以通过观察其表面形成的空隙和空洞反应塑料的降解程度[28]。胡亚楠等[29]的研究表明,接种XJDLM-3等菌株共培养30 d后的PE膜片表面变得粗糙不平出现明显的侵蚀孔洞和清晰的裂痕。本研究使用光学显微镜和扫描电镜观察降解后的PE薄膜表面。光学镜检结果表明,降解后的薄膜表面出现了明显的微生物定殖痕迹,扫

描电镜结果表明，降解后的薄膜相较于空白样品出现了明显的缝隙与孔洞。

微生物对PE的降解特性研究主要包括降解液的分子官能团测定、微塑料降解前后分子量测定以及降解产物的测定等。Muhonja等[30]研究发现经过FTIR测定，PE的降解液中出现了醛、醚和羧基等新的官能团。本研究在700~800 cm^{-1}区域出现吸收峰，在三键和累积双键伸缩振动区也出现吸收峰，推测可能是由于菌株降解PE作用从而产生了具有相应官能团的物质。Yang等[14]的研究结果表明降解前后的PE分子量发生曲线偏移且Mw/Mn分子量减少，本研究的PE微塑料降解后Mw/Mn降低了约13%。研究人员通常利用质谱分析技术来监测PE降解过程中间体的变化。高超等[13]使用气质联用分析发现PE被*Enterobacter hormaechei* LB-1降解的过程中有酰胺类、有机酸类等新物质产生。Ren等[31]使用液质联用发现PE经过*Enterobacter* sp.D1处理后降解液中某些醇、酯和酸的含量增加。本研究使用气质联用技术检测发现，降解液中酰胺类、氨基酸类、烷烃类、烯烃类、醇类、酮醛类等物质含量增加；使用液质联用技术检测发现降解液中出现了脲素、甘油、醇类等小分子物质和酰胺类、葡萄糖苷等生物活性物质。在Fukuda等[32]的报道中指出，多类酵母菌可以利用正构烷烃作为唯一的碳源和能源来源，正烷烃被内质网中CYP52家族的细胞色素P450羟基化为脂肪醇，进而在过氧化物酶体中被氧化成脂肪醛酸，并通过β-氧化代谢用于脂质合成。本研究分离得到的*Debaryomyces hansenii* PE2为酵母属微生物，气质和液质结果表明，PE经降解后出现了大量的Decane正构烷烃以及脂肪转化过程中的辅酶A过程产物和N-nitrosomethanamine，其中N-nitrosomethanamine在KEGG数据库中的注释编号为C19568，注释结果为细胞色素P450代谢异生素，与上述报道中的结论吻合，这可能是构成微生物降解PE代谢通路的重要组成部分。

致谢：江西省高层次高技能领军人才项目和江西省研究生创新专项资金（YC2022-S401）同时对本研究给予了资助，谨致谢意！

参考文献 References：

[1] VELIS C A.Global recycling markets-plastic waste：a story for one player-China[R].Vienna：international solid waste association，2014.

[2] BRIASSOULIS D，BABOU E，HISKAKIS M，et al.Analysis of long-term degradation behaviour of polyethylene mulching films with pro-oxidants under real cultivation and soil burial conditions[J].Environmental science and pollution research，2015，22(4)：2584-2598.

[3] YAO Z，SEONG H J，JANG Y S.Environmental toxicity and decomposition of polyethylene[J].Ecotoxicology and environmental safety，2022，242：113933.

[4] PAÇO A，DUARTE K，DA COSTA J P，et al.Biodegradation of polyethylene microplastics by the marine fungus *Zalerion maritimum*[J].Science of the total environment，2017，586：10-15.

[5] VIVEKANAND A C，MOHAPATRA S，TYAGI V K.Microplastics in aquatic environment：challenges and perspectives[J].Chemosphere，2021，282：131151.

[6] FRIAS J，SOBRAL P，FERREIRA A M.Organic pollutants in microplastics from two beaches of the portuguese coast[J].Marine pollution bulletin，2010，60(11)：1988-1992.

[7] AMBRIÈRES W.Plastics recycling worldwide：current overview and desirable changes[J].Field actions science reports，2019 (S19)：12-21.

[8] PRIYANKA N，ARCHANA T.Biodegradability of polythene and plastic by the help of microorganism：a way for brighter future[J].Journal of environmental & analytical toxicology，2011，1(4)：1000111.

[9] 李真，何文清，刘恩科，等.聚乙烯地膜降解过程与机理研究进展[J].农业环境科学学报，2019，38(2)：268-275；
LI Z，HE W Q，LIU E K，et al.A review on polyethylene mulch film degradation[J].Journal of agro-environment science，2019，38(2)：268-275.

[10] PICCARDI P，VESSMAN B，MITRI S.Toxicity drives facilitation between 4 bacterial species[J].Proceedings of the national academy of sciences，2019，116(32)：15979-15984.

[11] RESTREPO-FLÓREZ J M，BASSI A，THOMPSON M R.Microbial degradation and deterioration of polyethylene-a review[J].International biodeterioration & biodegradation，2014，88：83-90.

[12] BOMBELLI P，HOWE C J，BERTOCCHINI F.Polyethylene bio-degradation by caterpillars of the wax moth *Galleria mel-*

lonella[J].Current biology,2017,27(8):292-293.

[13] 高超,郝孔利,赵宇婷,等.一株能够降解聚乙烯的霍氏肠杆菌的鉴定及分析[J].生物技术通报,2020,36(10):99-104.
GAO C,HAO K L,ZHAO Y T,et al.Identification and analysis of a strain of *Enterobacter hormaechei* capable of degrading polyethylene[J].Biotechnology bulletin,2020,36(10):99-104.

[14] YANG Y,YANG J,WU W M,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.

[15] FLORES P,HELLÍN P,FENOLL J.Determination of organic acids in fruits and vegetables by liquid chromatography with tandem-mass spectrometry[J].Food chemistry,2012,132(2):1049-1054.

[16] MATHUR G,MATHUR A,PRASAD R.Colonization and degradation of thermally oxidized high-density polyethylene by *Aspergillus niger* (ITCC No.6052) isolated from plastic waste dumpsite[J].Bioremediation journal,2011,15(2):69-76.

[17] ZAHRA S,ABBAS S S,MAHSA M T,et al.Biodegradation of low-density polyethylene(LDPE)by isolated fungi in solid waste medium[J].Waste management,2010,30(3):396-401.

[18] 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.

[19] 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.

[20] SEKHAR V C,NAMPOOTHIRI K M,MOHAN A J,et al.Microbial degradation of high impact polystyrene(HIPS),an e-plastic with decabromodiphenyl oxide and antimony trioxide[J].Journal of hazardous materials,2016,318:347-354.

[21] LWANGA E H,THAPA B,YANG X,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.

[22] SHAH A A,HASAN F,HAMEED A,et al.Biological degradation of plastics:a comprehensive review[J].Biotechnology advances,2008,26(3):246-265.

[23] 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.

[24] AWASTHI S,SRIVASTAVA N,SINGH T,et al.Biodegradation of thermally treated low density polyethylene by fungus *Rhizopus oryzae* NS 5[J].3 Biotech,2017,7:1-8.

[25] YANG J,YANG Y,WU W M,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.

[26] PARK S Y,KIM C G.Biodegradation of micro-polyethylene particles by bacterial colonization of a mixed microbial consortium isolated from a landfill site[J].Chemosphere,2019,222:527-533.

[27] KUNLERE I O,FAGADE O E,NWADIKE B I.Biodegradation of low density polyethylene (LDPE) by certain indigenous bacteria and fungi[J].International journal of environmental studies,2019,76(3):428-440.

[28] NOWAK B,PAJĄK J,DROZD-BRATKOWICZ M,et al.Microorganisms participating in the biodegradation of modified polyethylene films in different soils under laboratory conditions[J].International biodeterioration & biodegradation,2011,65(6):757-767.

[29] 胡亚楠,贺旭,亚森·沙力,等.大蜡螟和黄粉虫肠道菌中聚乙烯地膜降解细菌的筛选及其降解性能[J].微生物学通报,2020,47(12):4029-4041.
HU Y N,HE X,SHALI Y S,et al.Screening of polyethylene film-degrading bacteria from gut microbiota of *Galleria mellonella* and *Tenebrio molitor*[J].Microbiology China,2020,47(12):4029-4041.

[30] MUHONJA C N,MAKONDE H,MAGOMA G,et al.Biodegradability of polyethylene by bacteria and fungi from Dandora dumpsite Nairobi-Kenya[J].PloS one,2018,13(7):e0198446.

[31] REN L,MEN L,ZHANG Z,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.

[32] FUKUDA R,OHTA A.Enzymes for aerobic degradation of alkanes in yeasts[M]//ROJO F.Aerobic utilization of hydrocarbons,oils and lipids.Cham,Switzerland:Springer,2017:1-14.