

## 研究报告

## 大麦虫及其肠道微生物对聚乙烯的生物降解

李玮<sup>1</sup>, 王丹丹<sup>2</sup>, 庞诗琪<sup>2</sup>, 陈大印<sup>3</sup>, 王洪凤<sup>3</sup>, 解志红<sup>\*2</sup>, 赵志国<sup>\*1</sup>

1 山西农业大学植物保护学院, 山西 太谷 030800

2 山东农业大学资源与环境学院, 山东 泰安 271018

3 山东蓬勃生物科技有限公司, 山东 泰安 271000

李玮, 王丹丹, 庞诗琪, 陈大印, 王洪凤, 解志红, 赵志国. 大麦虫及其肠道微生物对聚乙烯的生物降解[J]. 微生物学通报, 2023, 50(4): 1422-1431.

LI Wei, WANG Dandan, PANG Shiqi, CHEN Dayin, WANG Hongfeng, XIE Zhihong, ZHAO Zhiguo. Biodegradation of polyethylene by *Zophobas atratus* and its gut microorganisms[J]. Microbiology China, 2023, 50(4): 1422-1431.

**摘要:**【背景】废旧塑料聚乙烯因具有较高的化学惰性, 不易被自然降解而形成长期污染。【目的】探究聚乙烯泡沫塑料对大麦虫生长发育的影响, 为将大麦虫作为降解聚乙烯泡沫塑料的昆虫推广提供理论依据。【方法】以大麦虫幼虫为研究对象, 选用常见的泡沫塑料(聚乙烯), 采用 4 种不同的饲喂方式 T1 (麦麸)、T2 (泡沫塑料)、T3 (泡沫塑料+麦麸)、T4 (不饲喂)进行驯化, 处理 30 d 后对大麦虫进行解剖, 取肠道内容物于 LB 培养基中进行富集培养, 将富集培养后的菌液加入以聚乙烯(polyethylene, PE)为唯一碳源的 LCFBM 培养基进行选择培养, 从中筛选分离得到对 PE 塑料有降解能力的菌株。【结果】取食泡沫塑料 30 d 后, 与单一饲喂 PE 相比, 麦麸和 PE 混合饲喂后大麦虫幼虫的存活率为 76%。采用傅里叶变换红外光谱检测发现虫粪组分中主要官能团中峰值明显变化, 表明 PE 长链有断裂现象, 并从肠道中分离得到 3 株可以对 PE 薄膜边缘造成明显侵蚀的菌株。【结论】大麦虫可取食并消化 PE 塑料, 其肠道内的微生物对 PE 塑料的降解起到关键作用, 研究结果为塑料污染的生物降解提供了科学证据。

**关键词:** 大麦虫; PE 塑料; 肠道微生物; 降解

资助项目: 中国科学院战略性先导科技专项(XDA23050102); 山东省重点研发计划(2021CXGC010804); 山东省自然科学基金(ZR2021QC175)

This work was supported by the Strategic Pioneer Science and Technology Special Project of Chinese Academy of Sciences (XDA23050102), the Key Research and Development Program of Shandong Province (2021CXGC010804), and the Natural Science Foundation of Shandong Province (ZR2021QC175).

\*Corresponding authors. E-mail: XIE Zhihong, zhihongxie211@163.com; ZHAO Zhiguo, nice2me@126.com

Received: 2023-03-13; Accepted: 2023-03-17; Published online: 2023-03-27

## Biodegradation of polyethylene by *Zophobas atratus* and its gut microorganisms

LI Wei<sup>1</sup>, WANG Dandan<sup>2</sup>, PANG Shiqi<sup>2</sup>, CHEN Dayin<sup>3</sup>, WANG Hongfeng<sup>3</sup>, XIE Zhihong<sup>\*2</sup>, ZHAO Zhiguo<sup>\*1</sup>

1 College of Plant Protection, Shanxi Agricultural University, Taigu 030800, Shanxi, China

2 College of Resources and Environment, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, Shandong, China

3 Shandong Pengbo Biotechnology Limited Company, Tai'an 271000, Shandong, China

**Abstract:** [Background] Waste plastic polyethylene (PE) is refractory due to its high chemical inertness, resulting in long-term pollution. [Objective] To investigate the effects of common plastic foam (PE) on the growth and development of *Zophobas atratus* and provide a theoretical basis for the application of *Z. atratus* as an insect in the degradation of PE plastic foam. [Methods] *Z. atratus* larvae were fed with four different diets: T1 (wheat bran), T2 (plastic foam), T3 (plastic foam+wheat bran), and T4 (no diet). After 30 days of feeding, the larvae were dissected and the gut contents were enriched in LB medium. The obtained culture was added to the medium with PE as the only carbon source for selective culture, from which the strains capable of degrading PE plastics were isolated. [Results] After feeding on plastic foam and wheat bran for 30 days, the *Z. atratus* larvae showed a survival rate of 76%. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy detected significant changes in the peaks corresponding to the main functional groups of compounds in the feces, which indicated a break in the long chains of PE. Three strains causing significant erosion on the edges of PE films were isolated from the gut. [Conclusion] *Z. atratus* can feed on and digest PE plastics, and the gut microorganisms play a key role in the degradation of PE plastics. The findings of this study provide scientific evidence for the bioremediation of plastic pollution.

**Keywords:** *Zophobas atratus*; PE plastics; gut microorganisms; degradation

随着现代社会的发展和科技水平的不断提高,塑料逐渐成为家家户户日常生活不可缺少的一部分,塑料制品因其成本低廉、易于生产而在现代社会得到了广泛的应用。塑料产量在过去50年呈指数增长,全球每年产出和消耗塑料超过3亿t<sup>[1]</sup>。塑料废弃物在土壤中不易分解且易残留,同时还会破坏土壤的理化性状,阻碍植物根系正常生长,从而导致作物产量下降<sup>[2]</sup>。2017年世界卫生组织国际癌症研究机构整理的致癌物清单中,聚乙烯被确认为致癌物质。聚乙烯对皮肤、黏膜有强烈刺激和腐蚀作用,甚至可引起肌

肉无力、胃肠道症状、中枢神经抑制、虚脱、体温下降和昏迷,并可引起肺水肿和肝、肾、胰等脏器损害,最终发生呼吸衰竭<sup>[3-4]</sup>。为解决这一严重的环境污染和健康问题,越来越多的研究者致力于塑料生物降解的研究<sup>[5]</sup>。

近年来,越来越多的研究者证实昆虫对塑料聚合物具有一定的降解能力<sup>[6]</sup>。大麦虫是黄粉虫和黑粉虫的杂交种,在体积和啃食能力上远超黄粉虫,是一种解聚塑料聚合物的潜力昆虫<sup>[7]</sup>。苗少娟<sup>[8]</sup>发现大麦虫与黄粉虫在取食塑料方面具有相似的习性,利用红外光谱法及热分析法对

食用塑料后大麦虫的排泄物进行分析,发现大麦虫可在一定程度上降解塑料。殷涛等<sup>[9]</sup>分别用 expandable polyethylene (EPE)、expanded polystyrene (EPS) 和 expanded polypropylene (EPP) 饲养黄粉虫和大麦虫,发现这 2 种昆虫均偏好 EPS 泡沫塑料。2015 年, Yang 等<sup>[10-11]</sup>首次从啮食聚苯乙烯泡沫塑料的黄粉虫幼虫肠道中分离出一株可降解塑料的细菌。陈冠舟等<sup>[12]</sup>通过高通量测序测定了啮食聚苯乙烯泡沫塑料的黄粉虫幼虫肠道菌群多样性的变化。孔芳等<sup>[13]</sup>从啮食聚苯乙烯泡沫塑料的黄粉虫幼虫肠道中分离出 2 株细菌和 1 株真菌。2019 年, Ekaterina<sup>[14]</sup>研究啮食聚苯乙烯及聚乙烯的大蜡螟幼虫肠道微生物群落时分别发现 2 个优势菌属及 1 个优势菌属。2020 年, 胡亚楠等<sup>[15]</sup>从取食聚乙烯的大蜡螟幼虫的肠道中分离出 3 株细菌,作用于聚乙烯薄膜 30 d 后发现薄膜表面出现明显孔洞及质量下降。但关于大麦虫幼虫降解石油基塑料的研究仍然较少且存在一定争议。

塑料难以降解的原因是其化学结构单一、稳定性高和非极性,然而在外来微生物的作用下引入极性官能团后便可增大其结构的不稳定性,有利于后续微生物的定殖和降解。通常利用傅里叶变换红外光谱 (Fourier transform infrared spectrometer, FTIR) 研究泡沫塑料表面官能团的变化。在分析泡沫塑料和虫粪的红外光谱信息时突出研究羰基( $1\,715\text{ cm}^{-1}$ )、酯( $1\,740\text{ cm}^{-1}$ )、乙烯( $1\,650\text{ cm}^{-1}$ )和双键( $908\text{ cm}^{-1}$ )这些官能团<sup>[16]</sup>。相关研究一致认为,基本上检测到底物表面的活性物质时,这些基团多数就会发生变化<sup>[17]</sup>。通常认为,在微生物作用的条件下,这些表面官能团的浓度会下降,报道中常为酮和酯羰基的减少<sup>[18]</sup>。

针对上述问题,本文选择了常用的石油基泡沫塑料聚乙烯(polyethylene, PE)为单一食物来源饲养大麦虫幼虫,采用傅里叶变换红外光谱

(FTIR)和热重分析(thermogravimetric analysis, TGA)表征虫粪中残留 PE 官能团和失重的变化;通过高通量测序分析了大麦虫幼虫肠道中对降解 PE 发挥作用的细菌种属,对 PE 塑料的生物降解机制进行初步探讨。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

#### 1.1.1 样 品

大麦虫(*Zophobas atratus*)幼虫购于广东省阳江市养殖场。

#### 1.1.2 主要试剂和仪器

聚乙烯发泡板(密度:  $0.026\text{ g/cm}^3$ ), 上海防震包装厂, 数均分子量( $M_n$ )值为  $(40\,400\pm2\,700)\text{ Da}$ ; 重均分子量( $M_w$ )值为  $(173\,400\pm1\,600)\text{ Da}$ 。聚乙烯发泡板中的溴化物和普通增塑剂的含量都低于检测限(溴化物含量 $<1\text{ mg/L}$ , 每种增塑剂 $<25\text{ mg/L}$ ); 聚乙烯塑料薄膜由平板硫化机压制而成; DNA 提取试剂盒购于天根生化科技(北京)有限公司。

平板硫化机, 锡华机械科技(东莞)有限公司; 傅里叶变换红外光谱仪, 布鲁克公司; 热重分析仪, 岛津公司; 光学接触角测量仪, Data Physics 公司。

#### 1.1.3 培养基

筛选培养基(g/L): LB 培养基参照文献<sup>[19]</sup>配制; LCFBM 培养基(g/L):  $\text{KH}_2\text{PO}_4\ 0.700$ ,  $\text{K}_2\text{HPO}_4\ 0.700$ ,  $\text{FeSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}\ 0.002$ ,  $\text{MnSO}_4\cdot \text{H}_2\text{O}\ 0.001$ ,  $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}\ 0.700$ ,  $\text{ZnSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}\ 0.002$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4\ 1.650$ ,  $\text{NaCl}\ 0.005$ , 蒸馏水补足  $1\text{ L}$ 。

### 1.2 方 法

#### 1.2.1 大麦虫的饲喂

选取 1 500 头五龄大麦虫幼虫, 用不同的饲喂方式[T1: 麦麸 WB; T2: 泡沫塑料 PE; T3: 泡沫塑料+麦麸 PE+WB (1:7, 质量比)<sup>[7]</sup>; T4: 不饲喂]喂养, 每组设置 3 个重复。每个饲养盒

(14 cm×11 cm×6 cm)饲养 50 头大麦虫幼虫, 放入一块 2 g 的泡沫塑料。除不饲喂处理外, 每个试验组补充 14 g 麦麸(每 5 天将饲养盒里面的泡沫塑料和麦麸进行更换), 培养箱的温度控制在 27 °C, 湿度控制在 75%。

### 1.2.2 大麦虫幼虫粪便的收集处理及红外光谱和热重分析

在饲养 30 d 后, 将收集到的虫粪和塑料放在烘箱里去除试样中含有的游离水, 采用溴化钾压片法对先前收集储存的虫粪进行 FTIR 分析。将虫粪和 KBr 粉末按照 1:100 (质量比)混合, 在玛瑙研钵中充分研磨, 在油压机上压成透明薄片, 将样品放入 FTIR 中测试。设置 FTIR 的参数: 光谱的分辨率为 4 cm<sup>-1</sup>、扫描次数为 32、波数为 4 000–400 cm<sup>-1</sup><sup>[20-21]</sup>。利用 OMNIC 软件分析波谱信息, 利用 Origin Pro 2021 进行可视化。

若 PE 泡沫被大麦虫降解, 则其热稳定性降低。通过热重分析仪分析 PE 泡沫原样和各试验组的虫粪样品的热稳定性。取(10±1) mg 的样品加入到坩埚中(样品的体积以不超过测试坩埚的 1/3 为宜), 将坩埚和待测样品共同放入热重分析仪中。设置参数为: 升温速率 10 K/min, 温度范围 30–900 °C, 高纯度氮气(N<sub>2</sub>, 99.999%)以保护测试样品不会被氧化, 气体流速 10 mL/min<sup>[22]</sup>。利用 Origin Pro 2021 进行可视化。

### 1.2.3 大麦虫肠道可培养微生物的分离与纯化

大麦虫以单一泡沫塑料喂养 30 d 后, 在 PE 组中随机挑选大麦虫 10 条, 将虫体浸泡于 95% 酒精 30 s, 然后置于无菌生理盐水 15 s, 之后浸泡于 75%酒精 1 min, 取下幼虫的头部和尾部, 用灭菌后的镊子取出大麦虫的完整肠道装入含有 1 mL 无菌生理盐水的离心管中, 涡旋仪振荡直至肠道内容物全部析出, 取 1 μL 上清液接种至 LB 液体培养基中 37 °C、180 r/min 培养 24 h,

在 LB 固体培养基上划线 37 °C 培养过夜, 挑取单菌落进行划线纯化, 根据菌落形态筛选出不同的菌株, 将筛选得到的菌株于-80 °C 冻存<sup>[19]</sup>。

### 1.2.4 PE 降解菌株的筛选

将 1.2.3 筛选得到的不同菌株接种至 LB 液体培养基中, 37 °C、200 r/min 培养 12 h 后 4 000×g 离心 10 min 收集菌体, 菌体用无菌生理盐水漂洗 3 次后重悬于等体积无菌生理盐水中。取 1 mL 重悬菌液接种于以 PE 塑料薄膜为唯一碳源的 LCFBM 液体培养基中, 37 °C、200 r/min 培养 20 d, 用酶标仪测定 OD<sub>600</sub>, 以确定目的菌生长情况, 进而判断目的菌对 PE 的降解能力<sup>[19]</sup>。

### 1.2.5 PE 降解菌株的鉴定和比对

通过 16S rRNA 基因对 1.2.4 筛选得到的菌株进行分子生物学鉴定。利用 DNA 提取试剂盒提取肠道微生物基因组, 采用细菌通用引物 27F (5'-AGAGTT TGATCCTGGCTCAG-3')和 1492R (5'-TACGGCTACCTTGTTACGACTT-3')PCR 扩增 16S rRNA 基因。PCR 反应体系(50 μL): *Taq* DNA Master Mix 25 μL, 上、下游引物(0.4 μmol/L)各 2 μL, DNA 模板(50 μg/mL) 3 μL, RNase-free H<sub>2</sub>O 18 μL。PCR 反应条件: 95 °C 1 min 30 s; 95 °C 10 s, 58 °C 10 s, 72 °C 1 min 10 s, 35 个循环; 10 °C 保存。PCR 产物经 1%琼脂糖凝胶电泳测其纯度, 然后送睿博兴科生物技术有限公司(青岛测序部)进行测序。

将公司测得的 16S rRNA 基因序列发送到国家生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, NCBI)的 GenBank 数据库中进行 BLAST 比对、分类和鉴定。

### 1.2.6 PE 降解理化性质的测定

PE 塑料分别在含有和不含有该塑料降解菌的培养基中 37 °C 培养 7 d 后, 取塑料膜片制取生物样品观察其表面生物膜定殖情况。

将降解 1 周后的塑料薄膜清洗除去塑料表面的杂质,通过光学接触角测量仪测定塑料薄膜经不同塑料降解菌降解前后疏水性的变化情况。

## 2 结果与分析

### 2.1 大麦虫啮食 PE 过程分析

在以泡沫塑料 PE 为唯一食物饲喂大麦虫的过程中,大麦虫可以钻入泡沫塑料中进行取食,并在 30 d 内维持正常生长发育。如图 1A 所示,30 d 后无论是单独饲喂泡沫塑料还是混合饲喂,PE 泡沫塑料都有被大麦虫幼虫啮噬的明显孔洞,泡沫塑料面积明显减少。

从图 1B 可知,随着饲喂条件的不同,单一饲喂泡沫塑料的存活率为 68%,显著低于麦麸饲喂条件下的存活率,添加一定量的麦麸之后可以提高大麦虫幼虫的存活率至 76%。该研究结果表明大麦虫幼虫在短暂的时间内可以通过塑料来获得自身所需的营养物质以维持生命,添加正常食物作为辅食有助于丰富食物结构,提高大麦虫的生物活性。

### 2.2 大麦虫幼虫对塑料聚合物进行生物降解和氧化的表征

利用 FTIR 分析 PE 原样和大麦虫幼虫的虫粪验证是否解聚 PE,以此来判断幼虫降解塑料的能力。由图 2 可知,与 PE 塑料原样相比,仅喂食 PE 试验组中虫粪化学结构发生了改变。可以发现与相应的原样相比,波长位于  $1\ 100\text{--}1\ 300\text{ cm}^{-1}$  区域的几个较弱的吸收峰强度增加,这是 C—O—C 基团的伸缩振动的特征<sup>[21]</sup>,表明 PE 被幼虫生物降解后形成了醛、酮、醚或酯基团;而且 PE 泡沫塑料的特征峰强度的降低及羰基功能团的产生( $\text{C}=\text{O}$  伸展,  $1\ 700\text{ cm}^{-1}$ ),也表明了泡沫塑料在大麦虫幼虫的肠道内发生了解聚。在虫粪样品的 FTIR 中,  $2\ 500\text{--}3\ 500\text{ cm}^{-1}$  处的峰宽与羟基或羧酸基团的氢键有关,这也说明泡沫塑料在经大麦虫肠道系统消化后,虫粪中的残留物从疏水性向亲水性表面性质变化,塑料泡沫在经过虫体的降解化学结构中引入了许多新的含氧官能团如羰基、羧基等,说明虫体都具有使泡沫塑料稳定性降低的作用,进一步证实了虫体对泡沫塑料的降解作用。

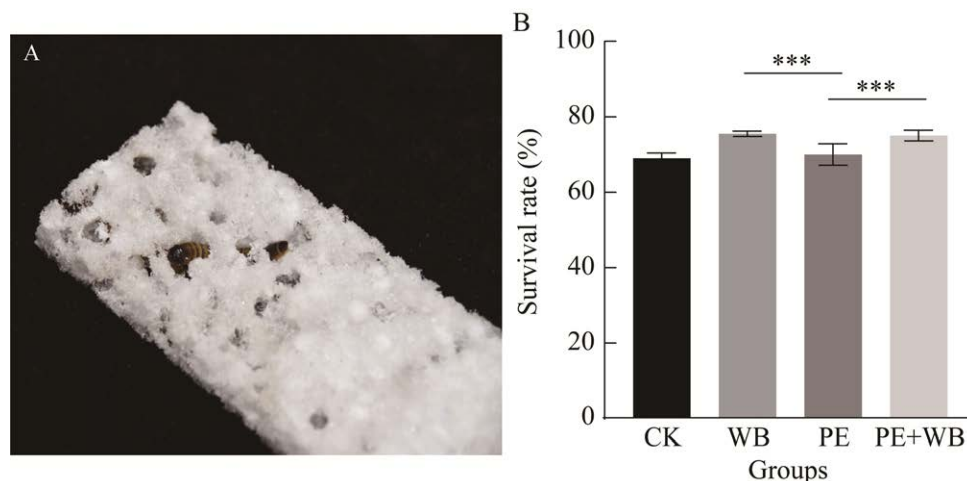


图 1 大麦虫与泡沫塑料的交互作用 A: 大麦虫啮噬 30 d 后的泡沫塑料. B: 不同处理 30 d 后大麦虫的存活率. CK: 对照组; WB: 麦麸

Figure 1 Interaction of *Zophobas atratus* with foam. A: Foam after 30 d of *Zophobas atratus* engagement. B: Survival rate of *Zophobas atratus* after 30 d of different treatments. CK: Control group; WB: Wheat bran. \*\*\*:  $P \leq 0.001$ .

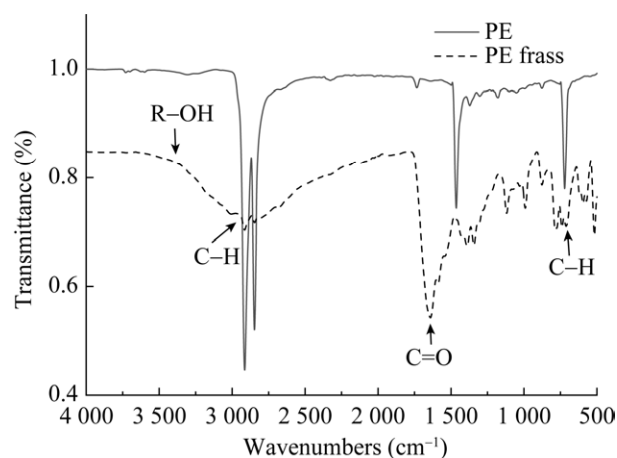


图2 大麦虫粪便提取物 FTIR 分析图

Figure 2 Infrared spectroscopic analysis of *Zophobas atratus* fecal extract.

同时利用 TGA 分析技术测定大麦虫摄食过后的 PE 是否发生了热改性。由图 3 可知,在相同的处理条件下,试验结束后收集的虫粪较 PE 原样分解阶段增多,说明其虫粪中出现了新的组分,这表明 PE 在大麦虫的肠道中发生了热改性。热失重分析结果表明,PE 原样在 380–500 °C 范围质量损失明显,462.54 °C 时出现了最大分解速率。相应地,试验组的幼虫虫粪中出现了多个质量损失明显的分解阶段,在 264.54、329.54、372.54 和 428.54 °C 产生了最大分解速率。

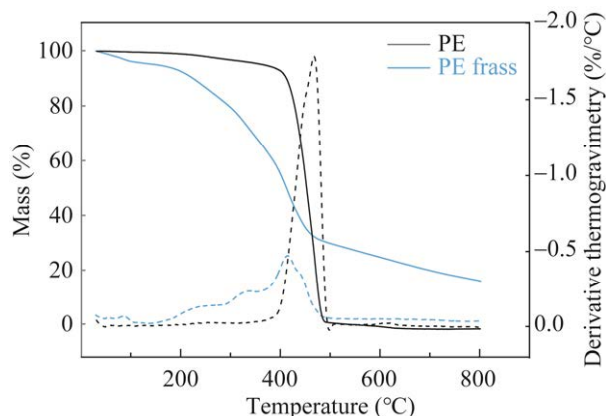


图3 虫粪与 PE 原样的热失重对比分析

Figure 3 Comparative heat loss analysis of frass and PE original samples.

通常挥发类有机物在低于 100 °C 的条件下挥发(如肠道中某些分泌物,羧酸类物质及聚乙烯生物降解后产生的小分子化合物等),在 100–380 °C 温度阶段的热分解是由于幼虫在同化 PE 时产生的其他中间产物和 PE 长链解聚后形成的较小分子 PE,而在各组 380–500 °C 阶段的残留大分子 PE 失重不足 30%,远低于 PE 原样的失重水平,这表明虫粪中 PE 含量明显降低,成分种类增多,这与先前的粉甲属幼虫降解聚烯烃塑料研究中的结果类似<sup>[23–25]</sup>。

### 2.3 大麦虫肠道微生物的分离与鉴定

从饲喂 PE 的大麦虫幼虫肠道中筛选出可以在以塑料为唯一碳源的培养基上形成菌落的肠道细菌共 3 株,对 3 株细菌进行分子生物学鉴定,16S rRNA 基因序列比对后证明 3 株菌分别为解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*)、贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*)和粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*),经 BLAST 比对其相似度的结果如表 1 所示。

将这 3 株菌分别接种在以 PE 为唯一碳源的 LCFBM 培养基中培养 20 d,在此期间,每隔 48 h 通过酶标仪测量其  $OD_{600}$  的变化。试验结果如图 4 所示,表明 E5-1、E5-2 和 E6-1 这 3 株菌均能够在以 PE 塑料为唯一碳源的培养基存活,证明肠道中分离到的菌株在大麦虫降解 PE 的过程中发挥了作用,同时也说明 PE 可以提供大麦虫幼虫生长所需要的一部分营养物质。

表1 分离大麦虫肠道中的细菌

Strain No.	Recent marginal pattern species	Similarity (%)
E5-1	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	99.93
E5-2	<i>Bacillus velezensis</i>	100.00
E6-1	<i>Enterococcus faecalis</i>	100.00



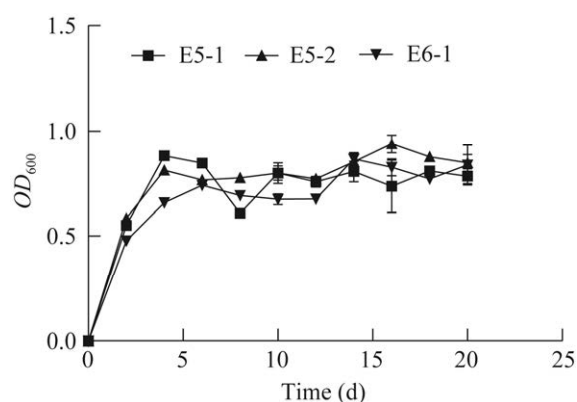


图4 降解菌 20 d 内  $OD_{600}$  变化

Figure 4 Changes in  $OD_{600}$  of degraded bacteria for 20 d.

## 2.4 大麦虫肠道微生物对 PE 的降解作用

根据 2.3 的富集和筛选情况,得到了 3 株可以有效定殖在 PE 塑料薄膜上的微生物降解菌,

后续对其降解性能进行检验,发现其可以有效地在 PE 塑料薄膜上定殖。3 株降解菌定殖后, PE 塑料薄膜表面呈现不同程度的沟壑、褶皱和凹槽形态,边缘可见明显孔洞(图 5)。

聚合物的表面疏水性由水接触角 (water contact angle, WCA) 来验证<sup>[26]</sup>。3 株降解菌在侵蚀 PE 塑料薄膜(图 6B、6C、6D)后的 WCA 分别为  $(95.1 \pm 0.4)^\circ$ 、 $(90.2 \pm 0.3)^\circ$  和  $(94.6 \pm 0.2)^\circ$  ( $n=3$ ), 显著低于对照组(图 6A)的 WCA  $[(100.1 \pm 0.4)^\circ$  ( $n=3$ ;  $P<0.05$ )]。上述试验结果表明, PE 在经过 3 株降解菌的侵蚀后,聚合物的疏水性降低,亲水性增强,从而耐微生物侵蚀的能力减弱。同时证实了大麦虫取食 PE 后对其疏水性减弱较低,表明幼虫生物降解效率受菌株类型的显著影响<sup>[27]</sup>。

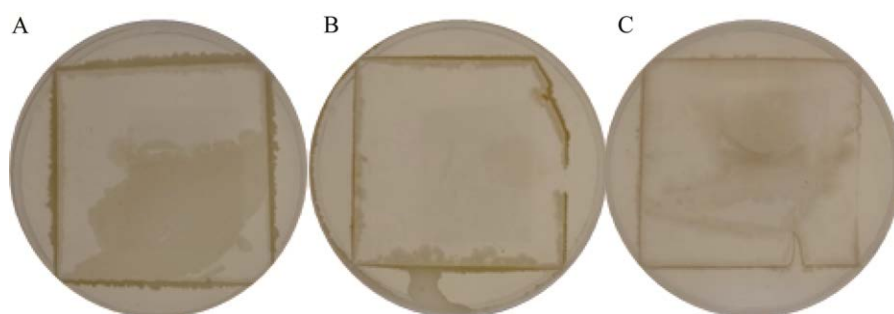


图5 定殖 7 d 的 PE 塑料的变化 A: E5-1. B: E5-2. C: E6-1

Figure 5 Changes in PE plastic at 7 d of colonization. A: E5-1. B: E5-2. C: E6-1.

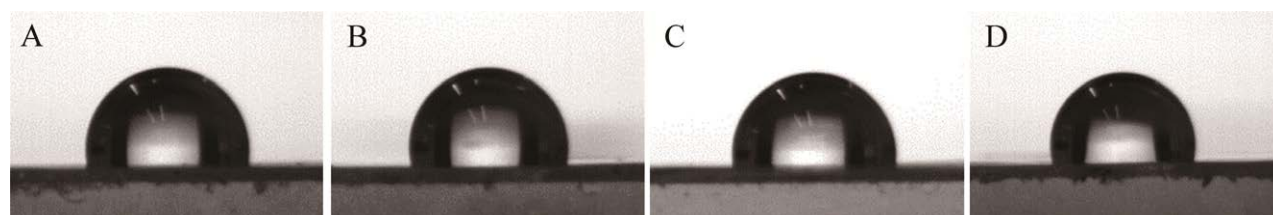


图6 降解菌侵蚀前后 WCA 对比 A: 对照组. B: E5-1. C: E5-2. D: E6-1

Figure 6 Comparison of WCA before and after degradation bacteria erosion. A: Control. B: E5-1. C: E5-2. D: E6-1.

### 3 讨论与结论

大麦虫能够取食塑料并在以塑料为唯一食物的条件下生长的这一现象,为解决“塑料污染”探索出了一条新且环保的道路。

本文通过不同的饲喂方式发现大麦虫在单独啮食塑料的处理下死亡率较高,这可能是长期营养结构不合理导致,取食麦麸和塑料混合饲料的大麦虫生命力显著提高但生长较为缓慢。同时利用傅里叶变换红外光谱图和热重分析对大麦虫粪便提取物进行分析,发现 PE 经过大麦虫幼虫肠道作用后其特征峰强度(C-H)降低并且出现多个质量损失明显的分解阶段,证实了 PE 的解聚。对肠道微生物进行分离和鉴定,从喂养 PE 塑料的大麦虫幼虫肠道中分离出 3 株菌:解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*)、贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*)和粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*)。通过固体平板的降解试验和 WAC 检测,发现经菌株侵蚀后的 PE 塑料薄膜边缘出现缺失和疏水性的降低。研究结果表明大麦虫的肠道分离出的细菌对 PE 有一定的降解能力,这为揭示塑料等“白色污染”的生物降解机制奠定了基础,也为生物治理塑料污染提供了一个新的方法。

本研究仅初步探究了大麦虫肠道微生物的好氧菌和兼性厌氧菌,对其肠道微生物中厌氧菌的分离和筛选也应该是着重研究和探讨的一部分。此外,对本研究中所筛选出的对 PE 有较好降解作用的菌株,还应对其酶学特性进行深入研究,探索高效降解菌所产生的胞外酶对 PE 的降解作用。

### REFERENCES

[1] 张倩楠, 吴思, 孙长龙, 马信, 齐笑萱, 张阳. 昆虫生物降解塑料的研究进展[J]. 山东化工, 2021, 50(1): 82-84.

- ZHANG QN, WU S, SUN CL, MA X, QI XX, ZHANG Y. Research progress of insect biodegradable plastics[J]. Shandong Chemical Industry, 2021, 50(1): 82-84 (in Chinese).
- [2] 刘明华, 李小娟. 废旧塑料资源回收利用技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2013.
- LIU MH, LI XJ. Recycling Technology of Waste Plastic Resources[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2013 (in Chinese).
- [3] 巢维. 低密度聚乙烯(LDPE)膜光—生物降解的研究[D]. 长沙: 湖南大学硕士学位论文, 2006.
- CHAO W. The research on UV-irradiation and biodegradation of low density polyethylene (LDPE) film[D]. Changsha: Master's Thesis of Hunan University, 2006 (in Chinese).
- [4] 周辉. 废塑料制品对土壤环境的影响及防治[J]. 化工设计通讯, 2016, 42(4): 243.
- ZHOU H. On soil environment and prevention of waste plastic products[J]. Chemical Engineering Design Communications, 2016, 42(4): 243 (in Chinese).
- [5] 张娟, 王海芳, 李颖, 苏慧, 常琦敏. 我国土壤中多溴联苯醚污染分布特征及其风险评估[J]. 环境工程, 2018, 36(11): 166-171.
- ZHANG J, WANG HF, LI Y, SU H, CHANG QM. Distribution characteristics and risk assessment of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in soils of China[J]. Environmental Engineering, 2018, 36(11): 166-171 (in Chinese).
- [6] 郭鸿钦, 罗丽萍, 杨宇航, 王宇萌, 陆遥力, 赵鑫, 胡筱敏. 利用昆虫取食降解塑料研究进展[J]. 应用与环境生物学报, 2020, 26(6): 1546-1553.
- GUO HQ, LUO LP, YANG YH, WANG YM, LU YL, ZHAO X, HU XM. Research progress on plastic degradation by worms[J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2020, 26(6): 1546-1553 (in Chinese).
- [7] 李琛静, 王哲, 张雅林. 大麦虫幼虫取食塑料的研究[J]. 应用昆虫学报, 2022, 59(1): 93-103.
- LI CJ, WANG Z, ZHANG YL. Research on the consumption and degradation of plastics by *Zophobas atratus* larvae[J]. Chinese Journal of Applied Entomology, 2022, 59(1): 93-103 (in Chinese).
- [8] 苗少娟. 大麦虫 *Zophobas morio* 的生物学特性及其对塑料降解作用的研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学硕士学位论文, 2010.



- MIAO SJ. Study on biological characteristics of *Zophobas morio* and its function on plastic degradation[D]. Yangling: Master's Thesis of Northwest A&F University, 2010 (in Chinese).
- [9] 殷涛, 周祥, 王艳斌, 黄方巧. 泡沫塑料的取食对黄粉虫和大麦虫生长的影响[J]. 甘肃农业大学学报, 2018, 53(2): 74-79.
- YIN T, ZHOU X, WANG YB, HUANG FQ. Effects of plastic foam feeding on the growth of *Tenebrio molitor* L. and *Zophobas morio* Fabricius[J]. Journal of Gansu Agricultural University, 2018, 53(2): 74-79 (in Chinese).
- [10] YANG Y, YANG J, WU WM, ZHAO J, SONG YL, GAO LC, YANG RF, JIANG L. 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.
- [11] YANG Y, YANG J, WU WM, ZHAO J, SONG YL, GAO LC, YANG RF, JIANG L. Biodegradation and mineralization of polystyrene by plastic-eating mealworms: part 2. role of gut microorganisms[J]. Environmental Science & Technology, 2015, 49(20): 12087-12093.
- [12] 陈冠舟, 张白鹭, 纪梦梦, 吴晓刚, 周君仪, 陈家楠, 王芸, 田浩, 张晓君. 高通量测序探究嗜食聚苯乙烯泡沫塑料黄粉虫的肠道菌群结构[J]. 微生物学通报, 2017, 44(9): 2011-2018.
- CHEN GZ, ZHANG BL, JI MM, WU XG, ZHOU JY, CHEN JN, WANG Y, TIAN H, ZHANG XJ. Gut microbiota of polystyrene-eating mealworms analyzed by high-throughput sequencing[J]. Microbiology China, 2017, 44(9): 2011-2018 (in Chinese).
- [13] 孔芳, 洪康进, 徐航, 赵世光, 王幼平. 基于嗜食泡沫塑料黄粉虫肠道菌群中聚苯乙烯生物降解的探究[J]. 微生物学通报, 2018, 45(7): 1438-1449.
- KONG F, HONG KJ, XU H, ZHAO SG, WANG YP. Evidence of polystyrene biodegradation by gut microbiota of Styrofoam-feeding yellow mealworms (larvae of *Tenebrio molitor* Linnaeus)[J]. Microbiology China, 2018, 45(7): 1438-1449 (in Chinese).
- [14] Ekaterina Pererva. 大蜡螟降解塑料及其肠道微生物组研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学硕士学位论文, 2019.
- EKATERINA P. Biodegradation of polystyrene and polyethylene by the greater wax moth larvae and the effect on their gut microbiome[D]. Harbin: Master's Thesis of Harbin Institute of Technology, 2019 (in Chinese).
- [15] 胡亚楠, 贺旭, 亚森·沙力, 罗明, 张宇宏, 张帅. 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 YN, HE X, ARSENE S, LUO M, ZHANG YH, ZHANG S. Screening of polyethylene film-degrading bacteria from gut microbiota of *Galleria mellonella* and *Tenebrio molitor*[J]. Microbiology China, 2020, 47(12): 4029-4041 (in Chinese).
- [16] 刘亚飞. 大蜡螟幼虫肠道中聚乙烯降解菌株的筛选、鉴定及其降解特性研究[D]. 金华: 浙江师范大学硕士学位论文, 2019.
- LIU YF. Screening, identification and degradation characteristics of polyethylene degrading strains in the intestinal tract of larva of greater wax moth[D]. Jinhua: Master's Thesis of Zhejiang Normal University, 2019 (in Chinese).
- [17] NOWAK B, PAJAK J, DROZD-BRATKOWICZ M, RYMARZ G. Microorganisms participating in the biodegradation of modified polyethylene films in different soils under laboratory conditions[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2011, 65(6): 757-767.
- [18] BALASUBRAMANIAN V, NATARAJAN K, HEMAMBIKA B, RAMESH N, SUMATHI CS, KOTTAIMUTHU R, RAJESH KANNAN V. 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] 曹沁, 林毅博, 陈军, 肖明. 黄粉虫及其肠道微生物对聚氯乙烯的生物降解作用[J]. 微生物学通报, 2020, 47(2): 390-400.
- CAO Q, LIN YB, CHEN J, XIAO M. Biodegradation of polyvinyl chloride by *Tenebrio molitor* and its intestinal microorganisms[J]. Microbiology China, 2020, 47(2): 390-400 (in Chinese).
- [20] 张叶. 黄粉虫降解秸秆废弃物及其粪便生物炭对重金属的吸附研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学硕士学位论文, 2020.
- ZHANG Y. Study on degradation of straw waste by yellow mealworm and sorption of heavy metal by biochar made from worm frass[D]. Harbin: Master's Thesis of Harbin Institute of Technology, 2020 (in

- Chinese).
- [21] 杨莉. 黄粉虫和大麦虫肠道微生物对塑料多聚物的降解研究[D]. 北京: 北京林业大学硕士学位论文, 2020.
- YANG L. Study on degradation of plastics polymers by intestinal microbes of *Zophobas morio* and *Tenebrio molitor*[D]. Beijing: Master's Thesis of Beijing Forestry University, 2020 (in Chinese).
- [22] YANG SS, DING MQ, HE L, ZHANG CH, LI QX, XING DF, CAO GL, ZHAO L, DING J, REN NQ, WU WM. Biodegradation of polypropylene by yellow mealworms (*Tenebrio molitor*) and superworms (*Zophobas atratus*) via gut-microbe-dependent depolymerization[J]. The Science of the Total Environment, 2021, 756: 144087.
- [23] YANG L, GAO J, LIU Y, ZHUANG GQ, PENG XW, WU WM, ZHUANG XL. Biodegradation of expanded polystyrene and low-density polyethylene foams in larvae of *Tenebrio molitor* Linnaeus (*Coleoptera: Tenebrionidae*): broad versus limited extent depolymerization and microbe-dependence versus independence[J]. Chemosphere, 2021, 262: 127818.
- [24] PENG BY, SU YM, CHEN ZB, CHEN JB, ZHOU XF, BENBOW ME, CRIDDLE CS, WU WM, ZHANG YL. Biodegradation of polystyrene by dark (*Tenebrio obscurus*) and yellow (*Tenebrio Molitor*) mealworms (*Coleoptera: Tenebrionidae*)[J]. Environmental Science & Technology, 2019, 53(9): 5256-5265.
- [25] PENG BY, CHEN ZB, CHEN JB, ZHOU XF, WU WM, ZHANG YL. Biodegradation of polylactic acid by yellow mealworms (larvae of *Tenebrio molitor*) via resource recovery: a sustainable approach for waste management[J]. Journal of Hazardous Materials, 2021, 416: 125803.
- [26] ZHANG Y, PEDERSEN JN, ESER BE, GUO Z. Biodegradation of polyethylene and polystyrene: from microbial deterioration to enzyme discovery[J]. Biotechnology Advances, 2022, 60: 107991.
- [27] FONTANELLA S, BONHOMME S, KOUTNY M, HUSAROVA L, BRUSSON JM, COURDAVAULT JP, PITTERI S, SAMUEL G, PICHON G, LEMAIRE J, DELORT AM. Comparison of the biodegradability of various polyethylene films containing pro-oxidant additives[J]. Polymer Degradation and Stability, 2010, 95(6): 1011-1021.