

江婷婷, 丁慧平, 冯丽娟, 等. 降解聚乙烯塑料芽孢杆菌 LC-2 的分离鉴定及降解特性研究[J]. 海洋学报, 2021, 43(2): 9–15, doi:10.12284/hyxb2021036

Jiang Tingting, Ding Huiping, Feng Lijuan, et al. Isolation, identification and polyethylene-degrading characteristics of *Bacillus* LC-2[J]. Haiyang Xuebao, 2021, 43(2): 9–15, doi:10.12284/hyxb2021036

# 降解聚乙烯塑料芽孢杆菌 LC-2 的分离 鉴定及降解特性研究

江婷婷<sup>1,2</sup>, 丁慧平<sup>1,2</sup>, 冯丽娟<sup>1,2</sup>, 张大海<sup>1,2</sup>, 李苓<sup>1,2</sup>, 刘彦东<sup>1,2</sup>, 李先国<sup>1,2\*</sup>

(1. 中国海洋大学 化学化工学院, 山东 青岛 266100; 2. 海洋化学理论与工程技术教育部重点实验室, 山东 青岛 266100)

**摘要:** 塑料在环境中不断地积累, 逐渐破碎成为尺寸小于 5 mm 的微塑料, 对环境和人类健康构成严重威胁。本研究从青岛李村河口采集的塑料薄膜上分离出一株能够降解聚乙烯 (PE) 的细菌, 命名为 LC-2, 通过分子生物学结合形态学和生理生化特征分析将其鉴定为芽孢杆菌 (*Bacillus aquimaris*)。在以 PE 为唯一碳源的液体培养基中, 接种该细菌培养 28 d 后, 通过扫描电镜、接触角测定、热重分析以及傅里叶变换红外光谱等手段分析表明, PE 的失重率在 9% 左右, 表面形貌发生变化, 疏水性变小且表面发生氧化, 产生  $-C=O$  官能团, 这些证据足以证明 LC-2 可以降解 PE。

**关键词:** 聚乙烯; 塑料; 降解; 芽孢杆菌

中图分类号: X172

文献标志码: A

文章编号: 0253-4193(2021)02-0009-07

## 1 引言

全世界每年石油基合成塑料的产量超过 3 亿 t, 废弃塑料的环境污染问题已经引起人们的日益关注<sup>[1-2]</sup>。聚乙烯 (Polyethylene, PE) 塑料由于廉价、轻便、耐用的特点被广泛用于人们的日常生活, 但由于 PE 是一种稳定性很好的聚合物, 在环境中难以降解, 容易造成“白色污染”<sup>[3]</sup>。环境中废弃的塑料由于风化和降解作用会破碎成尺寸更小的塑料碎片, 最后形成尺寸小于 5 mm 的微塑料。微塑料广泛存在于环境中<sup>[4-6]</sup>, 其很有可能进入食物链, 还可能吸附和运输各类污染物, 进而成为有毒、有害化学物质的载体, 增强其在生态系统中的累积和放大作用, 加剧环境和健康问题<sup>[7-11]</sup>。当前, 解决塑料污染的方法主要有焚烧、填埋、微生物降解、回收利用<sup>[12]</sup> 以及可降解塑料的开发等。在塑料垃圾治理方面, 焚烧和填埋都会造成比

较严重的二次污染, 微生物降解则被认为是最为环保的有效途径<sup>[13-14]</sup>, 特别是在塑料垃圾集中的区域, 若能找到并高效利用塑料降解菌, 将是一种安全且可行的方法。目前从环境中分离得到的能够降解 PE 材料的微生物, 大多数是细菌和真菌, 主要包括蜡样芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*)、假单胞菌 (*Pseudomonas* spp.)、玫瑰红红球菌 (*Rhodococcus rhodochrous*) 和微杆菌 (*Microbacterium phyllosphaerae*) 等<sup>[15-20]</sup>。这些微生物大多是从土壤、垃圾填埋厂和一些生物的肠道中获得, 极少来源于海洋环境。若能从海洋环境中获得有效降解 PE 的微生物, 对于丰富 PE 降解微生物资源库及促进海洋生态系统的物质和能源循环都具有积极的意义。

## 2 材料和方法

### 2.1 样品采集

从李村河口随机收集 3 块有严重分解迹象的塑

收稿日期: 2020-08-30; 修订日期: 2020-10-26。

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项 (201861015)。

作者简介: 江婷婷 (1995—), 女, 安徽省马鞍山市人, 主要研究方向为环境分析化学。E-mail: 1871600481@qq.com

\* 通信作者: 李先国 (1965—), 男, 教授, 主要研究方向为海洋有机地球化学及现代有机污染物与生物地球化学。E-mail: lixg@ouc.edu.cn

料, 比如有裂纹、孔洞或者有褪色等现象, 放于无菌塑料袋中, 低温保存带回实验室。

## 2.2 用于细菌筛选和培养的塑料样品的制备

市售 PE 保鲜膜, 将其剪成大小约 3 mm×3 mm(用于降解实验)和 3 cm×3 cm(用于 PE 降解菌的筛选)的块状。降解菌筛选和 PE 降解实验之前, 样品根据文献 [21] 的方法在无水乙醇中浸泡灭菌, 超净台中风干, 室温存放于超净台以备下一步使用。

## 2.3 培养基

培养基的配方参照文献 [17]。液体无碳培养基: 0.7 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 、0.7 g  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ 、0.7 g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、1.0 g  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ 、0.005 g NaCl、0.002 g  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、0.002 g  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、0.001 g  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 、去离子水 1 000 mL, 调节 pH 为 7.0~7.2。固体无碳培养基由液体无碳培养基添加 20 g/L 的琼脂粉制得。营养肉汤培养基: 蛋白胨 10 g、牛肉膏 3 g、NaCl 5 g、去离子水 1 000 mL, 调节 pH 为 7.0~7.2。营养琼脂培养基由营养肉汤培养基添加 20 g/L 的琼脂粉制得。以上培养基均在 121℃ 高压灭菌 30 min。

## 2.4 菌株的分离筛选

将从李村河口采集的塑料样品剪碎, 装于盛有 100 mL 灭菌生理盐水的锥形瓶中, 向其中加入灭菌的玻璃微珠。使用摇床在 180 r/min, 35℃ 条件下恒温振荡 3 h 后静置。吸取 5 mL 悬浮液加入含有 100 mL 液体无碳培养基的锥形瓶中, 并向其中加入 1 g 灭菌的 PE 薄膜作为唯一碳源。为筛选合适的 PE 降解菌, 将锥形瓶放于摇床上, 于 120 r/min, 35℃ 条件下孵育 20 d。20 d 后将锥形瓶中的塑料薄膜弃去, 剩余的培养液用无菌生理盐水梯度稀释后分别取  $10^{-4}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-6}$  的稀释液各 0.2 mL 涂布于营养琼脂平板上, 以获得单一菌落, 用四分区划线法将其转接至新鲜营养的琼脂平板上进行培养, 多次转接, 直至获得菌株的纯培养物。菌株培养温度均为 35℃, 共分离出 52 个单一菌落。

## 2.5 PE 片法验证 PE 降解菌株

将所获得的单一菌落在营养肉汤培养基中富集培养, 然后 6 000 r/min 离心, 弃去上清液, 加入生理盐水洗涤细菌沉淀物 3 次, 再次离心, 弃去上清液, 以确保除去其中的营养物质。将获得的细菌沉淀物重悬于生理盐水中, 吸取 0.2 mL 涂布在固体无碳培养基上, 在平板表面覆盖上 3 cm×3 cm 的无菌 PE 薄膜, 置于恒温培养箱中, 培养几天后通过观察 PE 薄膜周边是否有菌落形成来判断是否是潜在的 PE 降解菌。对获得的 3 株具有潜在降解 PE 能力的菌株进行进一步

的分子生物学鉴定。所有实验均进行 3 次平行实验。

## 2.6 降解菌株的分子生物学鉴定

16SrRNA 测序在青岛睿博兴科生物技术有限公司进行, 所得序列使用美国国家生物技术信息中心的 BLAST 数据库 (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) 进行相似性搜索, 并上传到 GeneBank (gbsub@ncbi.nlm.nih.gov) 获得登录号, 从中选择匹配度为 95% 以上的细菌菌株, 使用 MEGA7.0 软件提供的邻接法构建系统发育树。

## 2.7 微生物接种物的制备及 PE 塑料的降解实验

将具有 PE 降解能力的细菌接种到新鲜的营养肉汤培养基中, 在 35℃, 120 r/min 的摇床上振荡培养, 达到指数生长期后, 将细菌培养液在 6 000 r/min 条件下离心, 反复洗涤 3 次。然后将细菌沉淀物重悬于生理盐水中, 向 100 mL 含有 50 mg PE 塑料的液体无碳培养基中接种 2 mL 细菌培养液(接种细菌密度为  $4.9 \times 10^9$  CFU/mL)用于实验, 对照组中则不接种。所有实验均进行 3 次平行实验。

## 2.8 分析过程

### 2.8.1 PE 塑料失重率的测定

为了监测降解过程中 PE 塑料的重量变化, 分别在实验的第 7 天、第 14 天、第 21 天、第 28 天取样测定 PE 塑料的失重率。将培养基中的 PE 塑料用孔径为 0.45  $\mu\text{m}$  的玻璃纤维滤膜过滤分离, 在 2% 的十二烷基硫酸钠溶液中浸泡 4 h, 然后用去离子水反复淋洗干净, 以除去 PE 塑料表面附着的微生物膜, 最后将洗净的 PE 塑料在 50℃ 的烘箱中干燥过夜, 冷却至室温后称重。PE 塑料的失重率由下式计算:

$$\text{失重率}(\%) = \frac{(\text{初始质量} - \text{降解后的质量})}{\text{初始质量}} \times 100\% \quad (1)$$

### 2.8.2 无碳培养基中细菌浓度变化

用稀释涂布平板法测定降解过程中培养基中游离的细菌数, 分别在第 7 天、第 14 天、第 21 天、第 28 天取样, 将培养基中的液体摇匀后, 吸取 50  $\mu\text{L}$  培养液, 用无菌生理盐水梯度稀释后, 涂布在营养琼脂平板上, 培养 24 h 后, 记录菌落数, 所有实验均进行 3 次平行实验。

### 2.8.3 PE 塑料的 SEM 分析

采用 S-4800 台式扫描电子显微镜(日本 Hitachi)对降解前后的 PE 塑料表面形貌进行表征。样品在氩气气氛下溅射喷金, 10 kV 真空条件下观察并拍摄。

### 2.8.4 PE 塑料表面的疏水性变化

使用 JC2000DM 接触角测量仪(上海中晨数字技术设备有限公司)测定降解前后 PE 薄膜表面的水接

触角(室温下使用去离子水测定)。

### 2.8.5 PE 塑料的 FTIR 分析

使用 Nexus 670 FTIR 光谱仪(美国 Nicolet)对样品进行 FTIR 表征,长度范围为  $4\ 000\sim 400\ \text{cm}^{-1}$ ,分辨率为  $4\ \text{cm}^{-1}$ ,扫描次数为 20 次。

### 2.8.6 PE 塑料的分子量变化

使用乌氏黏度计(毛细管直径为 0.5 mm,上海宝山启航仪器厂)测量降解前后 PE 塑料的黏均分子量。十氢萘为溶剂,70℃ 恒温水浴测量。

### 2.8.7 PE 塑料的热重分析

选用 TGA2 热分析仪(梅特勒-托利多)对材料的热稳定性进行表征,升温速率为  $10\ \text{℃}/\text{min}$ ,从 25℃ 开始升温至 600℃,其流速为 20 mL/min,吹扫气为  $\text{N}_2$ ,保护气( $\text{N}_2$ )流速为 15 mL/min。

## 3 结果和讨论

### 3.1 细菌菌株的分离与鉴定

对分离出的 PE 降解菌株 LC-2,选取曲霉菌(*Aspergillus flavipes*)作为外群,基于 16S rRNA 基因序列构建系统发育分析树。如图 1 所示,其 16S rRNA 基因序列与两株典型菌株 *Bacillus* sp. Marseille-Q1617(相似度为 100%)和 *Bacillus aquimaris* strain PBCS1(相似度为 99%)的序列以极高相似度聚在一条进化分支上,确定其为芽孢杆菌属的一个菌株,命名为 LC-2。其 GeneBank 登录号为 MW199054。

### 3.2 PE 塑料的失重率

通过比较 PE 塑料的干重损失(图 2)来评估 PE 塑料的表观降解速率。结果表明,孵育 28 d 后,PE 塑料的重量损失在 9% 左右,直观地说明了 LC-2 对 PE

塑料的降解。对照组在第 7 天后的少量重量损失可能与 PE 塑料在洗涤转移中的损失有关。

### 3.3 培养基中的细菌浓度变化

从图 3 结果可以看出,在培养的前 7 天,细菌浓度增长缓慢,可能是细菌对环境有一个适应过程;在第 7~21 天,细菌开始大量增长,说明细菌可以利用 PE 塑料作为唯一碳源来进行自身的生长繁殖;在第 21~28 天,培养基中的细菌数开始下降,主要是因为培养基中的无机盐被消耗殆尽,也有可能是细菌产生的代谢物对自身的生长繁殖起了抑制作用,或者是更多的细菌附着在了 PE 塑料的表面,导致培养基中的细菌浓度降低。

### 3.4 PE 塑料的扫描电镜观察

PE 塑料表面形貌的变化是被 LC-2 降解的间接证据。未接种 LC-2 的 PE 薄膜表面完整光滑、没有裂痕(图 4a);降解 28 d 后的 PE 塑料表面出现了明显的孔洞(图 4b)、裂痕(图 4c)和凹坑(图 4d)。这说明 LC-2 可以附着在 PE 塑料表面,形成生物膜,并利用 PE 塑料作为碳源,对其表面产生了破坏。

### 3.5 PE 塑料的表面疏水性变化

PE 材料与水的接触角大小是其亲疏水性的体现。接触角越小,其亲水性越高,越有利于微生物的定植和附着。表面亲水性的增强是微生物附着在 PE 塑料表面并形成生物膜的关键。图 5 结果表明,经过 28 d 的孵育,经 LC-2 降解后 PE 的水接触角为  $71.72^\circ$ ,对照组为  $93.54^\circ$ 。降解后的 PE 水接触角变小,说明其表面疏水性降低,亲水性提高;也说明 PE 塑料表面在 LC-2 的作用下很有可能被氧化产生了亲水基团。亲水基团的产生有利于菌株大量附着

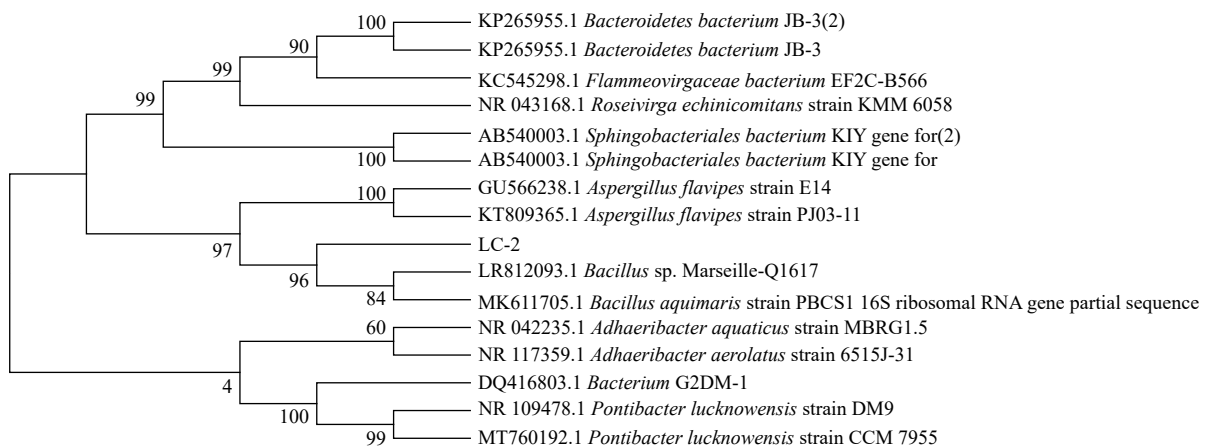


图 1 基于 16S rRNA 基因序列构建的菌株 LC-2 系统发育树

Fig. 1 Neighbor-Joining tree of strain LC-2 constructed based on 16S rRNA gene sequence

只展示自展值大于 50% 的节点数据,邻接法重复取样 1 000 次

Numbers at nodes indicate bootstrap values (>50%) based on a neighbor-joining analysis of 1 000 resampled datasets

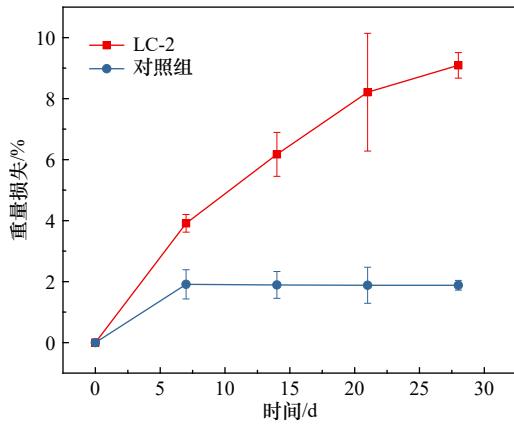


图 2 PE 塑料的失重率曲线  
Fig. 2 Weight loss curve of PE plastic

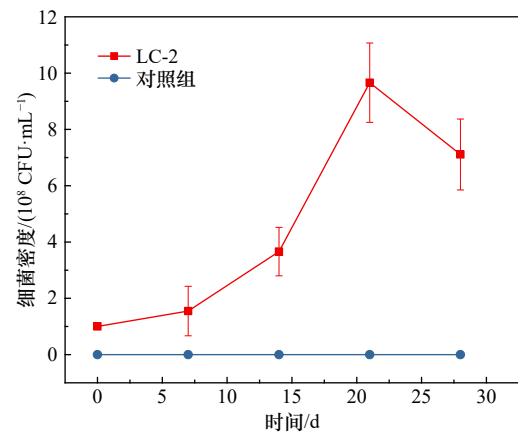


图 3 培养基中游离的细菌数  
Fig. 3 The number of free state bacteria in the medium

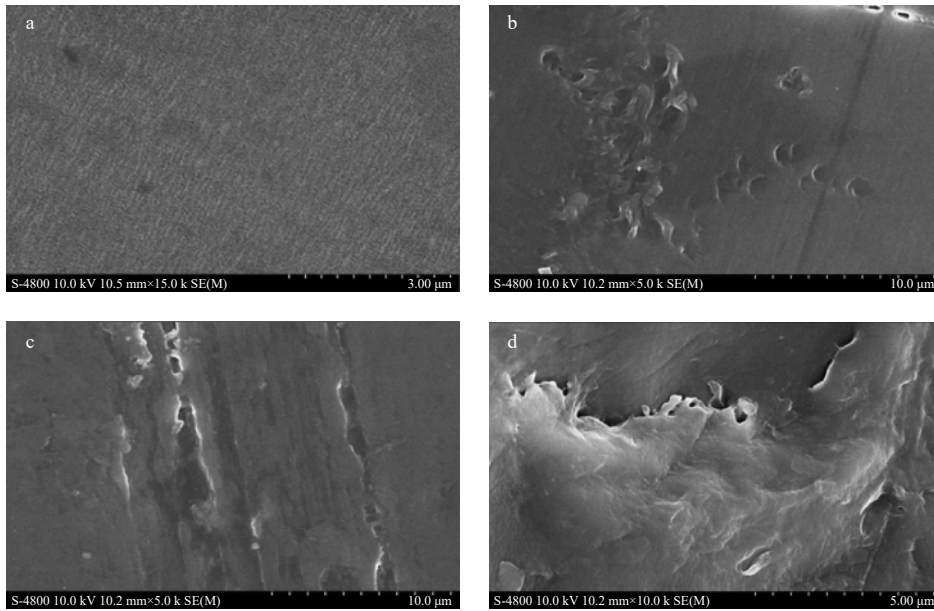


图 4 PE 塑料的扫描电镜照片

Fig. 4 Scanning electron microscopy photographs of PE plastic

a. 未接种 LC-2 的 PE 培养 28 d 后; b-d. 接种 LC-2 的 PE 培养 28 d 后, 显示出明显的孔洞(b)、裂痕(c)和凹坑(d)  
a. After 28 days in culture medium without LC-2 inoculated; b-d. after 28 days in culture medium with LC-2 inoculated showing the appearance of holes (b), cracks (c) and pits (d)

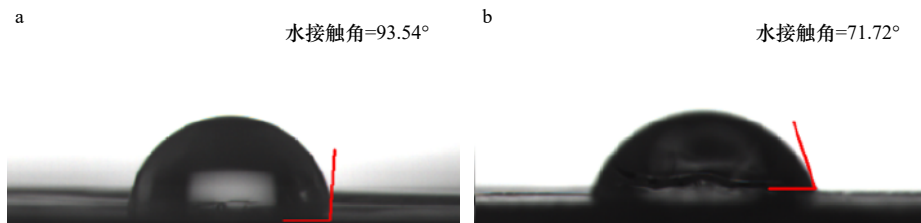


图 5 PE 塑料的水接触角图片

Fig. 5 The photographs of water contact angles of PE plastic

a. 对照组 28 d 后; b. 实验组 28 d 后  
a. Control group after 28 days; b. experimental group after 28 days

在其表面,为菌株进一步降解 PE 塑料提供了条件。

### 3.6 LC-2 降解前后 PE 塑料表面化学结构的变化

通常来说,羰基等基团的出现被认为是 PE 氧化降解的直接证据。由降解前后 PE 塑料的红外光谱图(图 6)可以看出,对照组可以观察到波数在  $2918\text{ cm}^{-1}$  和  $2851\text{ cm}^{-1}$  的 PE 的特征峰,分别归属于  $\text{CH}_2$ -的不对称和对称伸缩振动; $1468\text{ cm}^{-1}$  和  $725\text{ cm}^{-1}$  的吸收峰则分别对应于 C-H 键的伸缩振动和摇摆振动,与前人结果一致<sup>[22-24]</sup>。孵育 28 d 后的 PE 塑料,其红外光谱在  $1712\text{ cm}^{-1}$  处显示出羰基的伸缩振动峰是 PE 氧化降解的标志<sup>[17]</sup>。

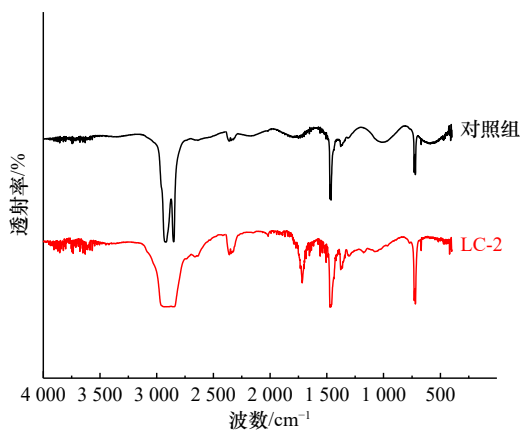


图 6 PE 塑料降解前后的红外光谱图

Fig. 6 FTIR spectra of PE plastic before and after degradation

### 3.7 PE 塑料的分子量变化

聚合物主链长度的下降是其降解的一个重要指标。链长影响所有的降解类型,不论是物理、化学还是生物降解。链长越长,越难于降解。本文的结果表明,降解前 PE 塑料黏均分子量的平均值是  $74\,131 \pm 1\,007$ ,降解 28 d 后的分子量平均值是  $60\,255 \pm 775$ ,降低了约  $(18.7 \pm 1.1)\%$ 。黏均分子量的降低表明 LC-2 能够利用 PE 塑料,并引起链的断裂,导致形成较短的片段。据报道<sup>[25-27]</sup>,细菌释放到培养基中的胞外酶可以攻击聚合物的主链,导致的聚合物分子量的降低,是聚合物链降解的证据。

### 3.8 PE 塑料的热重分析

塑料材料的热稳定性主要取决于聚合物链的类型、结构和长度。图 7 热重曲线表明,降解后的 PE 薄膜热稳定性有所提高,其失重起始温度( $435.9^\circ\text{C}$ )

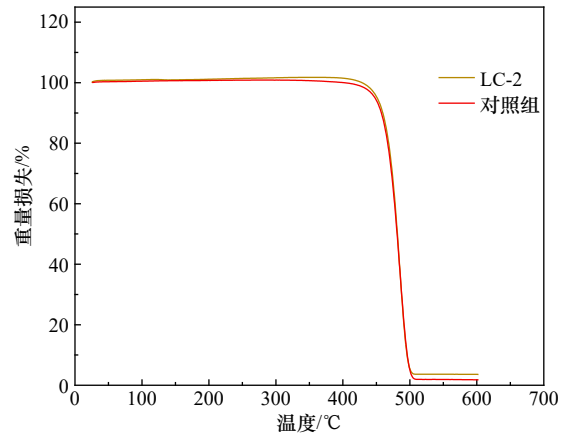


图 7 PE 塑料的热重曲线

Fig. 7 Thermogravimetric curve of PE plastic

较对照组( $424.7^\circ\text{C}$ )拖后,总失重率( $96.42\%$ )较对照组( $98.21\%$ )略有降低,可能与聚合物的结晶度增大有关。结晶度增大是因为 PE 作为半结晶的高聚物,其晶区的结构较为规整密实,在 LC-2 降解 PE 的过程中,可能引起分子链的断裂,破坏了缠结网络,产生的小分子链段具有较强的活动性,会沿着原有的晶粒外缘发生二次结晶,使结晶度提高<sup>[28]</sup>。因此热稳定性提高可能与较短聚合物链的形成有关,表明微生物可以利用 PE 塑料,并形成低分子量的聚合物。

但是,显著性检验( $p > 0.05$ )结果表明,实验组和对照组并无显著性差异,可能是由于塑料降解的时间不长,降解程度不高(重量损失 9% 左右,见 3.2 节),热稳定性变化不显著。

## 4 结论

本研究从李村河口采集的塑料薄膜上分离出细菌 LC-2,根据形态学特征、生理生化特征和分子生物学方法对其进行鉴定,鉴定为芽孢杆菌(*Bacillus aquimaris*)。LC-2 在实验室控制条件下可以加速 PE 塑料的降解,并且该细菌可以在以 PE 塑料为唯一碳源的液体无碳培养基中生长良好。经过 LC-2 降解后的 PE 塑料,其表面水接触角变小,亲水性增加;表面形貌发生了变化,产生了孔洞、裂痕和凹坑;表面被氧化产生了羰基;降解后的 PE 塑料的热重损失及黏均分子量下降。所有证据都表明了 LC-2 可以降解 PE 塑料。

### 参考文献:

- [1] Green D S, Boots B, Blockley D J, et al. Impacts of discarded plastic bags on marine assemblages and ecosystem functioning[J]. Environmental Science & Technology, 2015, 49(9): 5380-5389.
- [2] Thompson R C, Moore C J, Vom Saal F S, et al. Plastics, the environment and human health: current consensus and future trends[J].

- Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2009, 364(1526): 2153–2166.
- [3] Geyer R, Jambeck J R, Law K L. Production, use, and fate of all plastics ever made[J]. *Science Advances*, 2017, 3(7): e1700782.
- [4] Xu Xiyuan, Wang Shuai, Gao Fenglei, et al. Marine microplastic-associated bacterial community succession in response to geography, exposure time, and plastic type in China's coastal seawaters[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2019, 145: 278–286.
- [5] McCormick A, Hoellein T J, Mason S A, et al. Microplastic is an abundant and distinct microbial habitat in an urban river[J]. *Environmental Science & Technology*, 2014, 48(20): 11863–11871.
- [6] Kalogerakis N, Karkanorachaki K, Kalogerakis G C, et al. Microplastics generation: onset of fragmentation of polyethylene films in marine environment mesocosms[J]. *Frontiers in Marine Science*, 2017, 4: 84.
- [7] Chang Xiaoru, Xue Yuying, Li Jiangyan, et al. Potential health impact of environmental micro- and nanoplastics pollution[J]. *Journal of Applied Toxicology*, 2020, 40(1): 4–15.
- [8] Ma Jie, Zhao Jinghua, Zhu Zhilin, et al. Effect of microplastic size on the adsorption behavior and mechanism of triclosan on polyvinyl chloride[J]. *Environmental Pollution*, 2019, 254: 113104.
- [9] Qiao Ruxia, Deng Yongfeng, Zhang Shenghu, et al. Accumulation of different shapes of microplastics initiates intestinal injury and gut microbiota dysbiosis in the gut of zebrafish[J]. *Chemosphere*, 2019, 236: 124334.
- [10] Tourinho P S, Koci V, Loureiro S, et al. Partitioning of chemical contaminants to microplastics: sorption mechanisms, environmental distribution and effects on toxicity and bioaccumulation[J]. *Environmental Pollution*, 2019, 252: 1246–1256.
- [11] Camacho M, Herrera A, Gómez M, et al. Organic pollutants in marine plastic debris from Canary Islands beaches[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 662: 22–31.
- [12] Shen Maocai, Song Biao, Zeng Guangming, et al. Are biodegradable plastics a promising solution to solve the global plastic pollution?[J]. *Environmental Pollution*, 2020, 263: 114469.
- [13] Hadad D, Geresh S, Sivan A. Biodegradation of polyethylene by the thermophilic bacterium *Brevibacillus borstelensis*[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2005, 98(5): 1093–1100.
- [14] Sivan A. New perspectives in plastic biodegradation[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2011, 22(3): 422–426.
- [15] Raddadi N, Fava F. Biodegradation of oil-based plastics in the environment: existing knowledge and needs of research and innovation[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 679: 148–158.
- [16] 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.
- [17] Yang Jun, Yang Yu, Wu Weimin, 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.
- [18] Paco 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.
- [19] Zhang Junqing, Gao Danling, Li Quanhao, 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.
- [20] Lwanga E H, Thapa B, Yang Xiaomei, 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.
- [21] 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.
- [22] Mehmood C T, Qazi I A, Hashmi I, et al. Biodegradation of low density polyethylene (LDPE) modified with dye sensitized titania and starch blend using *Stenotrophomonas pavarii*[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2016, 113: 276–286.
- [23] Gulmine J V, Janissek P R, Heise H M, et al. Polyethylene characterization by FTIR[J]. *Polymer Testing*, 2002, 21(5): 557–563.
- [24] Rajandas H, Parimannan S, Sathasivam K, et al. A novel FTIR-ATR spectroscopy based technique for the estimation of low-density polyethylene biodegradation[J]. *Polymer Testing*, 2012, 31(8): 1094–1099.
- [25] Pometto III A L, Lee B T, Johnson K E. Production of an extracellular polyethylene-degrading enzyme(s) by streptomyces species[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1992, 58(2): 731–733.
- [26] Fujisawa M, Hirai H, Nishida T. Degradation of polyethylene and Nylon-66 by the laccase-mediator system[J]. *Journal of Polymers and the Environment*, 2001, 9(3): 103–108.
- [27] Ren Liu, Men Li'na, Zhang Zhiwei, 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.
- [28] 代军, 晏华, 郭骏骏, 等. 低密度聚乙烯热氧化特性[J]. *塑料*, 2016, 45(6): 54–58, 68.
- Dai Jun, Yan Hua, Guo Junjun, et al. Characterization of the degradation behavior of LDPE after artificial thermo-oxidative aging[J]. *Plastics*, 2016, 45(6): 54–58, 68.

## Isolation, identification and polyethylene-degrading characteristics of *Bacillus* LC-2

Jiang Tingting<sup>1,2</sup>, Ding Huiping<sup>1,2</sup>, Feng Lijuan<sup>1,2</sup>, Zhang Dahai<sup>1,2</sup>, Li Ling<sup>1,2</sup>, Liu Yandong<sup>1,2</sup>, Li Xianguo<sup>1,2</sup>

(1. College of Chemistry and Chemical Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266100, China; 2. Key Laboratory of Marine Chemistry Theory and Technology, Ministry of Education, Qingdao 266100, China)

**Abstract:** Plastics accumulate in the environment and gradually break into microplastics (MPs, size below 5 mm). It poses a serious threat to the environment and human health. In this study, a strain LC-2 capable of degrading polyethylene (PE) was isolated from plastic films collected from the Licun Estuary of Qingdao. It was identified as *Bacillus aquimaris* by using a combination of molecular biological technique with morphological, physiological and biochemical characteristics. After the strain was isolated, it was cultured in a liquid medium for 28 days with PE as the sole carbon source. The polyethylene was subsequently separated and examined with a scanning electron microscopy, a contact angle test, a thermogravimetric analysis and a Fourier transform infrared spectrum analysis. The results showed that the weight loss of PE was about 9% after the degradation, with apparent morphologic changes on the surface of PE. It was also showed that the hydrophobicity of PE became smaller, with surface oxidation to produce  $-C=O$  functional groups. These evidences are sufficient to prove that the strain LC-2 can degrade PE.

**Key words:** polyethylene; plastic; degradation; *Bacillus aquimaris*