

生分解性プラスチックの普及に向けて -シャーレで行う簡易評価実験-

兵庫県立神戸高校総合理学科2年 浅田さくら 池内翔哉 砂川優樹 東瀬戸翔大 松江梨々子 路次吾吾

着想・動機 生分解性プラスチック(以下生プラ)の普及に向けて、結晶化度の操作による生分解性の制御方法を研究しようと試みたが、複雑な生分解度の評価方法に苦慮し十分に実験を行えなかった。

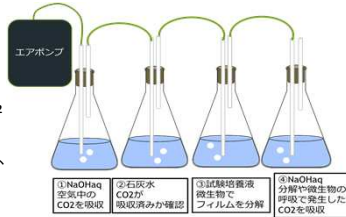
本研究の目的 高校のような小さな実験室で、短期間で行うことができる生分解性評価方法を確立させる。

結果 高校生でも生分解度を評価できる実験系を作成した。また、独自の「生分解進行指数」について考察した。

予備実験

(JIS規格に沿った生分解度評価)

右図の装置をインキュベーター内で保管し、試験培養液中のフィルムを生分解させた。その後、④のフラスコで吸収されたCO₂量から生分解度を算出した。(試験培養液の植種源は第一回にコンポスト、第二回以降は活性汚泥を使用した。)



【実験結果】各回の生プラの生分解度

	第一回	第二回	第三回	第三回
条件	40°C/50°C 2週間	35°C 2週間	25°C 2ヶ月	35°C 2ヶ月
生分解度	算出なし	1.02%	55.2%	-96.9%

・装置の不具合が起こった
・実験期間が短いと十分に生分解されない

より簡単に生分解性の評価が行える実験系を作りたい

本実験・結果

【農研機構による従来の方法】

撥水スライドガラス上で色素入り生プラフィルムを作成し、酵素溶液を滴下して生分解させる。

24時間後色素が溶出した酵素溶液を分光分析し、生分解度を確認する。

【イメージ】
— プラスチック ● ナイルブルー(色素)
● 酵素
生分解によって溶出

溶け出したナイルブルーの量(濃度)を分光光度計で比較(Lambert-Beer lawより)

【独自に考案した方法】

① 振盪させながら溶解させる

生プラ 0.20g ナイルブルー染色液 400μl

その後、溶液をシャーレに等分し、ジクロロメタンを揮発させてフィルムを作成する

② フィルムをNaOHaqで加水分解する

酵素分解が促進された

③ 酵素溶液をシャーレ内に滴下し、パラフィンフィルムでふたをする

ふたをV字状に凹ませることで、水の蒸発による濃度の変化を防ぐ

④ 37°Cのインキュベーター内で③のシャーレを24時間保管した後溶液の吸光度を測定する

シャーレを使い安価な蓋の凹みで濃度の誤差の少ない加水分解でより生分解しやすい 評価実験を可能にした

しかし...

- ・分光分析に用いる器具が高価
 - ・農研機構が用いた酵素は入手不可
- ⇒高校の実験室では再現できない

考察・今後の展望

【生分解性の評価方法】

	試験シャーレ (Sample)	対照試験 (Control)	酵素溶液 (Enzyme)
Mclvaine緩衝液	●	●	×
自然に染み出したナイルブルー	●	●	×
分解で溶出したナイルブルー	●	×	●
酵素	●	●	●

対照試験(Control)：Sampleと同試料に緩衝液のみを滴下した対照試料の溶液
酵素溶液(Enzyme)：分解に用いた酵素緩衝液

① Control + Enzyme (1:1) ● + ● = ●●

② Sample + 緩衝液 (1:1) ●● + ● = ●●●

③ ①をベースラインにし、②の吸光度を測定する ●●● - ●● = ●●

➡ 分解で溶出したナイルブルーの吸光度が得られる

【生分解進行指数の算出】(検討中)

- ・分解で溶出したナイルブルー(nb)
- ・自然に染み出したナイルブルー(NB)
- ・ナイルブルーの検量線

のグラフにより算出可能か

$$\text{生分解進行指数} = \frac{\text{(nb濃度)}}{\text{(最大ナイルブルー濃度)-(NB濃度)}}$$

今後の課題

- ・上式の確立
- ・精度の検証
- ・温度の操作による加水分解の促進
- ・吸光度のスケールを大きくする→ナイルブルー色素の増量

参考文献・参考URL

- [1]生分解性プラスチック研究会, 入門 生分解性プラスチック技術, オーム社, 2006
[2]生分解性プラスチック-環境技術解説 | 環境展望台 : 国立環境研究所 環境情報メディア
<http://tenbou.nies.go.jp/science/description/detail.php?id=54>
(2018/12/28 現在)
[3]Yukiko Shinozaki et al., Rapid and simple colorimetric assay for detecting the enzymatic degradation of biodegradable plastic films, Journal of Bioscience and Bioengineering 2013, VOL. 115 No. 1, 111-114
[4]JIS K 6951:2000 プラスチック-水系培養液中の好氣的究極生分解度の求め方-発生二酸化炭素量の測定による方法, <http://kikakurui.com/k6/k6951> 2000-01.html (2019/1/28 現在)
[5]J. Biol., A BUFFER SOLUTION FOR COLORIMETRIC COMPARISON, 1920