

# 生分解性プラスチックの分解条件

## － 生分解に最適な培地の栄養状態 －

正田 博崇 佐野 凌 北川 あい 濱野 美月  
兵庫県立神戸高等学校 総合理学科 2年

生分解性プラスチックの研究には時間がかかり、それが普及の障害の1つになっている。本研究では、効率的な実験方法を確立する1条件として培地の栄養状態と生分解との関係性を調べることを目的とした。まず、コンポスト環境で普通の培地とPLAを用いて実験したが、分解されなかった。本研究では、前述の方法から、温度と栄養状態を変えることで、生分解の効率が最も良い培地の栄養条件を見つけることに成功した。

## 1. はじめに

### 1.1. 背景

環境への負担軽減が期待されている生分解性プラスチック(以下生プラ)が注目されて久しい。それに伴い生分解速度をコントロールする研究がなされてきた。しかし、その中でもシャーレ上で行う実験は数少なく、その方法は確立されていない。よってシャーレ上の実験方法確立に向けて、今回の研究では培地の栄養状態の条件を調査した。

### 1.2. 先行研究と本研究の特徴

先行研究においてシャーレ上で酵母菌を使用してPLAを14日間の実験期間に分解できたとあった。だが、その実験の条件は決定されていない。<sup>[1]</sup>

そこで酵母菌専用培地(酵母菌が培養する培地、以下専用培地)の上にPLAフィルムを置いて60°Cのインキュベーター内で1か月間実験したが、PLAは分解されなかった。この原因を①温度が高すぎて、酵母菌が死滅してしまったこと。②期間が長すぎて、酵母菌が死滅してしまったこと。③培地に栄養があるため、酵母菌が生プラを分解・吸収してエネルギーを得る必要がなくなったこと、この3つの可能性を考えた。そこで今回は③の培地の栄養状態について研究した。①、②については酵母菌が最も活性化する温度範囲で、培地を一定期間で変更した。

### 1.3. 本研究における定義

専用培地・・・富栄養状態

寒天培地・・・貧栄養状態 1

無機塩類培地・・・貧栄養状態 2

$$\text{分解度}[\%] = \frac{\text{試料の元の面積} - \text{残りの試料の面積}}{\text{試料の元の面積}} \times 100$$

面積測定は lenaraf220b を使用。

酵母菌専用培地(Glucose 10,0g, Peptone 5,0g,

Yeast extract 3,0g, Malt extract 3,0g, Agar 20,0g, Distilled water 1,0L)(JCMより)

寒天培地(Agar 20,0g, Distilled water 1,0L)

無機塩類(Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 205mg, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 111mg, FeCl<sub>3</sub> 0.23mg, MgCl<sub>2</sub> 21mg, CaCO<sub>3</sub> 5mg, Agar 20mg, Distilled water 250mL)

## 2. 実験1：PLAフィルムの分解

現在、よく使用されている<sup>[2]</sup>PLAを用いて実験した。また、PLAフィルムは加水分解の後、生分解が始まる<sup>[3]</sup>ため、今回は加水分解を先に終わらせた。

### 2.1. 試料

酵母菌(*Moesziomyces antarcticus*)

PLAフィルム(ヒサゴ株式会社, 80μm)

### 2.2. 方法

ガラス製のシャーレ内でPLAフィルムを純水に浸し、60°Cのインキュベーター内で加水分解を行った。湿度が変わらないように水を入れたビーカーと一緒に入れた。PLAフィルムが白く変化すれば加水分解を終了した。(※前実験で水だけにPLAフィルムを浸すとPLAフィルムが白く変化したため、それを加水分解終了だと定義した(図1))

PLAフィルムを20mm × 20mmに切り出した。専用培地を10枚、寒天培地を5枚作成した。10枚の専用培地で酵母菌を2日間培養させた。そのうち5枚から寒天培地5枚に酵母菌を移した。その際に酵母菌が粘性をもっているため、1シャーレ当たり200μLの滅菌水でのばした。専用培地にも200μLの滅菌水を入れた。それらの上にPLAフィルムを乗せた。それら10枚を酵母菌が最も活性化する温度範囲内である37°Cのインキュベーター内に入れた。実験期間は3週間で、培地の交換は10日ごとに行った。

### 2.3. 結果

PLA の変化した総枚数は富栄養の方が多かった。しかし、変化の様子が先に現れるのは貧栄養①であった。(図2)また、富栄養より貧栄養①の方が大きな分解度を持っていた。(図3)

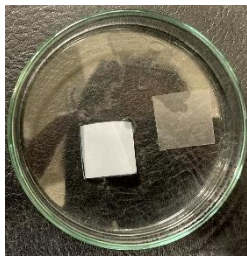


図1 PLAの加水分解  
(左：加水分解後 右：加水分解前)

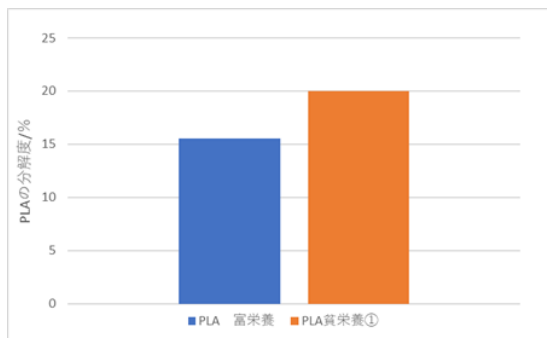


図2 PLAの分解度

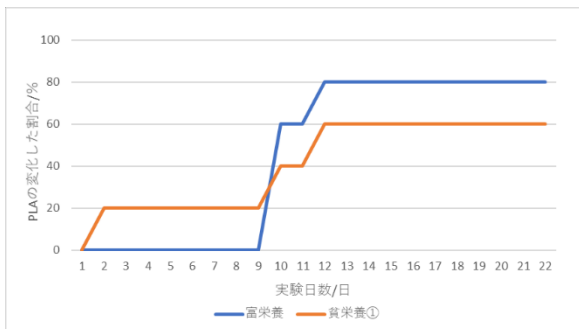


図3 PLAの変化した割合

### 2.4. 考察

図2の分解度の違いから酵母菌は周囲の栄養状態が豊富でない方が分解しやすいことが示唆された。

図3の結果には無機塩類の有無が関係していると考えられる。寒天培地には寒天以外何もないため、エネルギー源としてのPLAはあるが、体内で生成できない無機塩類が不足し、貧栄養①では酵母菌が死滅してしまっただのではないかと考え、無機塩類培地を使用して実験することにした。また、試料が100%PLAフィルムではないことが何か実験に影響があったのではないかと考え、100%PLAフィルムでも実験することにした。

### 3. 実験2：PBSAの分解

酵母菌が一番速く分解するというPBSAを使用して、この実験系がうまく作用するかを確かめた。

### 3.1. 試料

酵母菌(*Moesziomyces antarcticus*)

PBSAフィルム(農業環境技術研究所)

### 3.2. 方法

PBSAを20mm×20mmに切り出した。専用培地を15枚、寒天培地と無機塩類培地を5枚ずつ作成した。専用培地では酵母菌を2日間培養させた。そのうち10枚から寒天培地5枚と無機塩類培地5枚に酵母菌を移した。2.2と同様に酵母菌が粘性をもっているため、1シャーレ当たり200μLの滅菌水でのばした。専用培地にも200μLの滅菌水を入れた。それらの上にPBSAフィルムを乗せた。それら10枚を酵母菌が最も活性化する温度範囲内である37°Cのインキュベーター内に入れた。実験期間は18日間、培地は変更しなかった。

### 3.3. 結果

面積が測定不可のため、分解の様子を図3に示す。

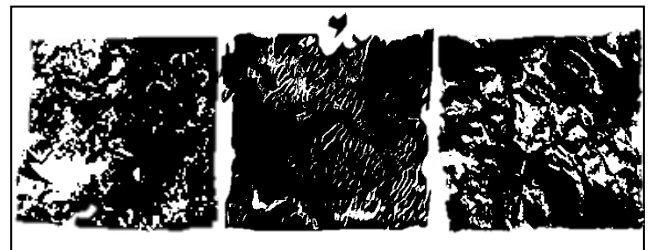


図4 PBSAの実験結果

(左：富栄養，中：貧栄養①，右：貧栄養②)

富栄養状態と貧栄養状態②では大きな分解度の違いは見られなかった。また、貧栄養状態①は他2つと比べて分解度が低かった。

### 3.4. 考察

実験1とは異なり、貧栄養①の分解度は富栄養より小さくなった。これは実験1と同様に貧栄養①の酵母菌は18日間より早く死滅してしまったことが考えられる。また、富栄養と貧栄養②では分解度に大きな差がないことから、貧栄養②では少なくとも18日間は富栄養の酵母菌と同様に生存できることがわかった。

### 4. 実験3：PLAフィルムの作成

100%PLAフィルムを作成した手順をここに記す。

#### 4.1. 材料

PLAフィルム(神戸精化株式会社, 約30μm)

クロロホルム

#### 4.2. 方法

PLAフィルムとクロロホルムを褐色瓶に入れて、容器を軽く振り、PLAフィルムが溶解するまで待った。この溶液をガラス製シャーレに流し込み、クロロホルムを蒸発させた。これらの手順はドラフト内で行

った。その後ピンセットを使ってゆっくりはがした。PLA フィルムとクロロホルムの量は参考文献より決定した。<sup>[4]</sup>この時なるべく水平な所かつ無風状態で実験して厚さの均一化をめざした。先行研究と異なる点は、真空状態で行うことによって気泡を防止する点である。

#### 4.3. 結果

真空状態で乾燥を行うと白いムラはなくなった。(図5)また、シャーレから生成した PLA フィルムをはがすとき、シャーレに水を入れて、ピンセットを使うと綺麗にはがれることを発見した。(図6)

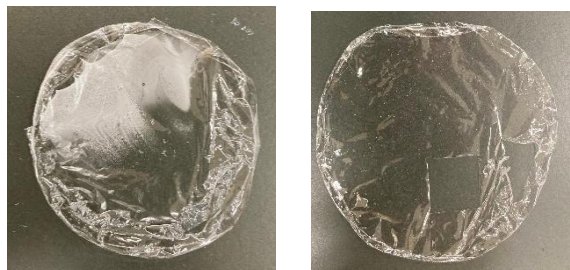


図5 生成したPLA(左：常圧 右：真空)



図6 PLAのはがし方(左：水なし 右：水あり)

### 5. 実験4：PLAフィルムの分解2

#### 5.1. 試料

酵母菌 (*Moesziomyces antarcticus*)

PLA フィルム(実験3で作成したもの、16 $\mu$ m)

#### 5.2. 方法

実験2と同様に行った。実験期間は4日間。

#### 5.3. 結果

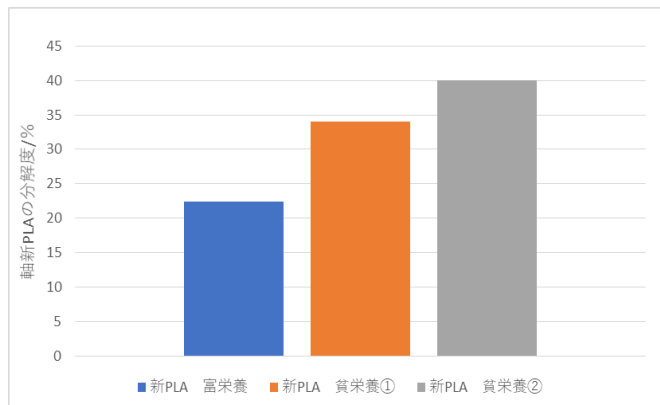


図7 新PLAの分解度

貧栄養②が最も分解度が大きかった。(図7)富栄養と貧栄養②には約2倍の差があった。

#### 5.4. 考察

実験1と実験2より短い4日間の実験では貧栄養①と②の分解度が富栄養の分解度を大きく上回った。つまり、周囲の栄養状態が富栄養の時、酵母菌はPLAを分解しにくいことがわかった。これは酵母菌にとってPLAは周囲の栄養がないときに限られた、特定の条件下においてエネルギー源となりやすいことが考えられる。また、貧栄養①と②では分解度の差があるが、これは無機塩類の有無により酵母菌の生存期間と活性期間に差が生じたためだと考えられる。

#### 6. 今後の展望

今回の実験では酵母菌において、周囲の栄養状態が貧栄養であると生分解がより進むことが実証された。酵母菌のみで実験したため、他の微生物を使用しても同様の結果が得られることが検証されれば、栄養状態がどの生分解においても決定的な要素になることが明らかになるだろう。

#### 謝辞

本校教諭の岡田和彦先生、辻佳樹先生、繁戸克彦先生、本校サイエンスアドバイザーの皆様には本研究についてご指導頂いたことに心から感謝の意を表します。また、試料を提供して頂いた国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構農業環境研究部門様、ヒサゴ株式会社様、神戸精化株式会社様、東レ株式会社様、カネカ株式会社様には深く感謝いたします。

#### [参考文献・参考URL]

- [1]Phyllosphere yeasts rapidly break down biodegradable plastics.  
<https://amb-express.springeropen.com/articles/10.1186/2191-0855-1-44>
- [2]PLA市場シェア | ポリ乳酸市場の概要 2028年  
<https://www.emergenresearch.com/industry-report/poly-lactic-acid-market>
- [3]PLAの生分解メカニズムについて  
[https://nature3d.net/explanation/pla\\_biodegradation\\_mechanism.html](https://nature3d.net/explanation/pla_biodegradation_mechanism.html)
- [4]浅田さくら, 池内翔哉, 砂川優樹, 東瀬戸翔大, 松江梨々子, 路次圭吾, 生分解性プラスチックの普及をめざして