

海洋性細菌による 生分解性プラスチックの生産

愛媛大学附属高等学校 理科部 プラガールズ

2年 二宮妃奈多 門屋知里 森美空

指導：理科部顧問 中川和倫

この研究の目的は2つ！

- ① **海のマイクロプラスチック問題の解決に向けて…**
海洋性細菌に**生分解性プラスチック**をつくらせることが出来たら？
⇒市販の天日塩中に休眠している海洋性細菌を単離して実験
- ② **バイオマスプラスチックは本当に環境にやさしいのか？**
⇒レジ袋に配合される**バイオマスプラスチック**の**生分解性**を調べる



14. 海の豊かさ
を守ろう



12. つくる責任
つかう責任



3. すべての人に
健康と福祉を

SDGsに関連した研究！

その他、
9. 産業と技術基盤の基礎をつくろう
15. 陸の豊かさも守ろう
17. パートナーシップで目標を達成しよう

バイオプラスチックは大きく 2種類

バイオマスプラスチック

(資源循環タイプ)

バイオポリカーボネート

PET

PTT

バイオPE

バイオPP

バイオPET

(両方の性質)

PLA

PHBH

バイオPBS

生分解性プラスチック

(自然分解タイプ)

PCL

PBS

海洋分解性

PLA : ポリ乳酸、PBS : ポリ酪酸サクシネート

PHBH : ポリヒドロキシ酪酸-ヘキサン酸重合体

海に流されるプラスチックごみは 年1千万トン以上



海の生物と人間への健康被害の心配

微生物による生分解性プラスチックの研究は進んでいる
しかし、海洋性細菌による先行研究は少ない

※ **海洋性細菌**がつくる**生分解性プラスチック**なら、
海で分解可能⇒**マイクロプラスチック問題の解決へ**

※ **バイオマスプラスチック**が配合されたレジ袋の普及
⇒配合率は高くない+**生分解性があるとは限らない!**

研究方針：市販の天日塩（世界中の試料）
から海洋性細菌を単離して、培養条件から
ポリ乳酸や**ポリ酪酸**（生分解性プラスチック
の材料）を合成・蓄積or分泌させる。

このレジ袋は
バイオマスプラスチック配合です

配合率は低い

バイオマス ←このマークが目印

環境に配慮した素材で、無料配布が認められております。
※約100×98cmサイズのレジ袋のみ10円で販売させていただきます。ご了承くださいませ。

【1】 海洋性細菌の菌株を得る

実験1 市販の天日塩中から海洋性細菌を培養・単離する

天日塩中で休眠している海洋性細菌をマリネブロス培地で液体培養し、平板寒天培地でコロニーをつくらせ、菌株を得る



使用した天日塩12種類、6月に①～③の3種類から培養を始め、順に増やした。10月までに得た菌株は66種（現在も増加中）



天日塩③から平板寒天培地上で得られた細菌のコロニー

天日塩の産地	菌株	天日塩の産地	菌株
①中国	19種	⑦南アフリカ	6種
②オーストラリア	6種	⑧アルゼンチン	2種
③イタリア	14種	⑨オーストラリア2	2種
④スペイン	4種	⑩南フランス	5種
⑤メキシコ	4種	⑪沖縄	1種
⑥フランス	2種	⑫東京・大島	1種



使用中の天日塩の一部：世界の試料
左から南フランス、オーストラリア、イタリア



細菌の増殖により濁った液体培地(37℃、3日)

【2】 生分解性プラスチックをつくらせる

実験2 生分解性プラスチック産生菌の最適培養条件を見つける

様々な条件の液体培地を作成し、実験1で得られた菌株をそれぞれ培養する

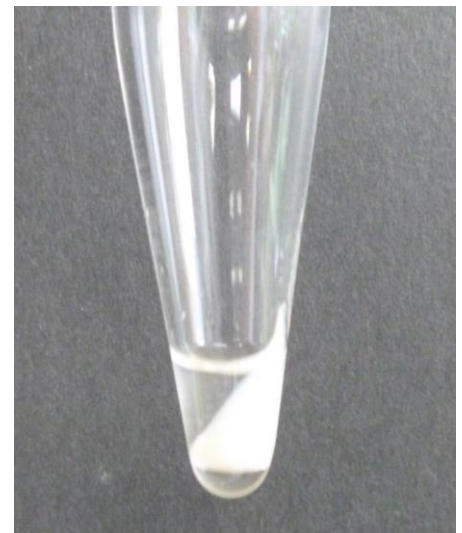
目的は**ポリ乳酸**、**ポリ酪酸**産生・・・酸をつくらせて菌体に貯蔵or分泌

- アルカリ性**の培地なら酸をつくるのでは？→**Na₂CO₃**添加（アルカリ性）
- C/N比**を変えれば酸をつくるのでは？→**糖添加**、**培地希釈**（C増/N減）
- 高浸透圧**にすれば物質を貯蔵するのでは？→**NaCl**増加（塩分濃度上昇）

⇒アルカリ性（pH10）、スクロース5%添加+10倍希釈、塩分10%の培地が有効



- ・**菌体内**の蓄積物質：レフレルメチレンブルーで染色し、顕微鏡観察
- ・**菌体周囲**の分泌物質：墨汁染色で顕微鏡観察（菌体周囲の非染色域）
⇒遠心分離後、**沈殿物**をNaOHで溶解し、エタノールで物質を抽出
- ・**培地中**への分泌物質：遠心分離後、**上澄み**からエタノールで物質を抽出
- ・抽出物は**生分解性プラスチック**か？：タンパク質分解酵素⇒分解なし、ヨウ素デンプン反応⇒反応なし、DNA分解酵素処理後にメチルグリーンピロニン染色⇒反応なし（分解処理前にDNAとRNAの存在あり）
⇒**バイオプラスチックである可能性**が高い⇒研究機関に分析を依頼したい



得られた抽出物の沈殿：生分解性プラスチックである可能性

菌種	上澄み	沈殿
I3-3	+	+
I3-1	+	+
SA3-1	-	+
SA3-6	+	+
F3-1	-	+
C10-4	-	+

菌株による抽出物の有無

【3】 バイオマスプラスチックはどこまで分解される？

実験3 バイオマスプラスチック配合レジ袋の土壌中での分解速度を実際に調べる

バイオマスプラスチック配合レジ袋（10～50％）を土壌中に埋めて分解の様子を観察・・・堆肥、木の下、畑など

↓ 8月～10月の2か月

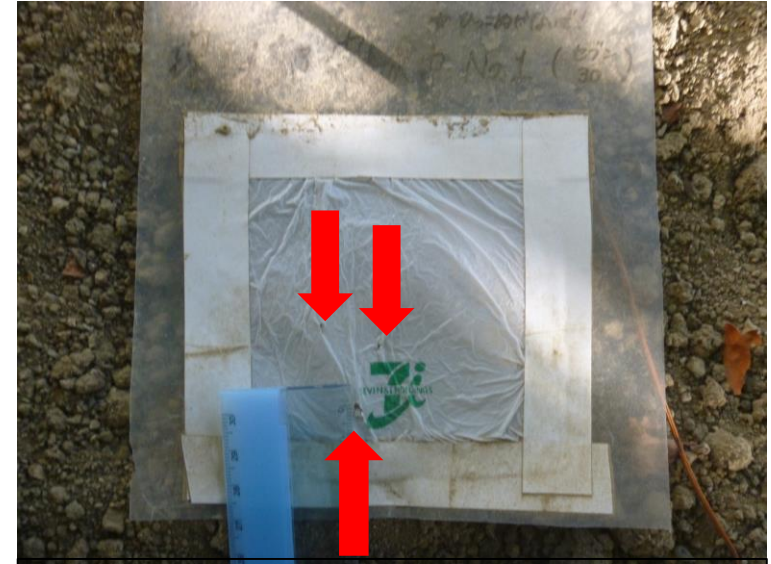
配合率30％のレジ袋が堆肥中2週間で穴、2か月で拡大
※10％と25％のレジ袋は変化なし、堆肥以外も変化なし

- ・バイオマスプラの配合率が高いほど生分解速度が大きい
- ・微生物（分解者）が多い場所ほど生分解速度が大きい

※分解は非常に遅く完全には分解できないのではないか？

↓ ※50％のレジ袋は厚いので分解が遅い？

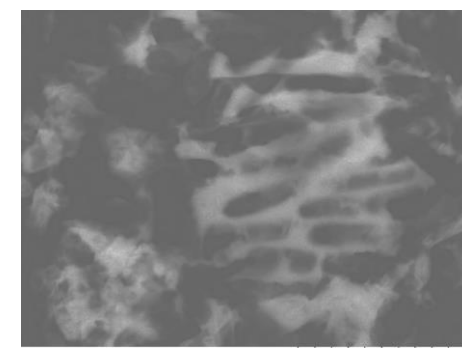
将来的には、この研究で海洋性細菌につくらせた生分解性プラスチックの分解速度を調べたい・・・現在、得られたプラスチックの加工方法を検討中



配合率30％のレジ袋にできた数か所の穴（堆肥中、約2か月、以後も継続観察中）

今後の課題

- ①・菌株の同定と得られた物質の分析（大学や研究機関に依頼予定）
 - ・得られた生分解性プラスチックの生分解実験（土壌中、海水中）
- ②・バイオマスプラスチックの分解実験を継続（分解時間と分解率）
→【予想】分解には1年以上かかり、完全分解はできないのでは？



電子顕微鏡写真(日立ハイテック)：菌体と分泌物(12000倍)

謝辞

- ・本研究は2020年6月「サイエンスキャススル研究費2020アサヒ飲料賞」に採択され、(株)リバネス教育開発事業部の立花智子様、森本けいこ様、アサヒ飲料(株)商品開発研究所の竹内曜様より、7月から毎月1回、リモートで研究へのアドバイスをいただいています。
- ・(株)日立ハイテクノロジーズから2020年6月～8月に小型電子顕微鏡の無償貸与をしていただきました。
- ・愛媛大学教育学部で2020年10月に電子顕微鏡を利用して写真撮影をさせていただきました。

参考資料

特許公報(B2)第5887062号(2016)、「持続可能社会を作るバイオプラスチック」(日本化学会編、化学同人2020)、「図解でわかる14歳からのプラスチック問題と環境問題」(太田出版2019)、「脱プラスチックへの挑戦」(堅達京子、NHK出版2020)、「ど～する海洋プラスチック」(西尾哲茂、信山社2019)、「海洋プラスチック汚染」(中嶋亮太、岩波書店2019)、日本生物工学会誌Vol.85-6(2007)、日本家政学会誌Vol.61-6(2010)、日本農芸化学会誌「化学と生物」Vol.58-2,-3,-4,-6,-8(2020)、経済産業省HP、国立環境研究所HP、理化学研究所HP、JSTnewsHP、日本バイオプラスチック協会HP、教育応援Vol.47(リバネス2020.9)、今治西高生物部H30研究論文集

ご清聴、ありがとうございました