

救え！ プラスチックごみだらけの地球

磐田市立磐田西小学校

5年 落合 晃馬

1 研究の動機

本研究を始めた動機は、2050年には、海の中の魚の重量を、海洋プラスチックごみの重量が超えることをテレビで知ったことである。プラスチックごみを減らすために、僕に何ができるか調べたいと思った。原油が存在する環境で生息している微生物であれば、石油から作られるプラスチックを分解できる可能性があるのではないかと考えた。

2 研究の目的

- (1) 相良油田に生息する微生物の中に、プラスチックを分解する微生物が存在するか調べる。
- (2) プラスチックを分解する微生物が、活発に活動する条件を調べる。
- (3) プラスチックの分解に関わる微生物を特定し、同定する。

3 実験①

疑問：相良油田の土の中に、固有の微生物はいるのか？

実験の方法：採取した相良油田の土について、家の近所にある磐田市かぶと塚公園の土や家庭菜園で使用する有機培養土と性質や生息する微生物を比較した。表1に3種類の土を比べた結果を示す。相良油田の土は、石油の匂いがあり、水分を含みドロドロした状態であった。また、油田周辺は、原油の影響なのか植物が育っていなく、公園の土や有機培養土が植物の根を含むのに対し、油田の土は根が入っていなかった。

表1 3種類の土を比べた結果

	色	匂い	乾燥の度合い	pH	その他
相良油田	濃い灰色	工場現場の油っぽい匂い	水分をふくみドロドロしている	pH7	根が入っていない
かぶと塚公園	濃い茶色	肥料の匂い	乾燥してサラサラしている	pH6	根が混ざっている
ゆうき培養土	濃いこげ茶色	濃い肥料の匂い	乾燥してサラサラしている	pH6	根が混ざっている

表2に、採取した土を水に混ぜ、比較した結果を示す。それぞれの土と容器を同数用意し、容器に土を入れ、水を加えてかき混ぜた。その後、2時間放置したものを比較した。

表2 土を水に混ぜて比べた結果

	相良油田	かぶと塚公園	有機培養土
浮遊物	無し	少しの葉や根	葉や根
沈殿物	石や泥	石や泥	石や泥

表2に示すように、相良油田の土は葉や根などの浮遊物は見られなかった。また、水の層の色は、下の写真に示すように3種類とも異なっていた。



左から、相良油田の土、かぶと塚公園の土、有機培養土

それぞれの土に生息する微生物は、バクテリア用の寒天培地とカビ用の寒天培地を使用して調べた。
実験方法を下に示す。

<方法>

- (1) 15 ml のチューブ（滅菌済み）に各土2 gを入れる。
- (2) 一度沸騰させて滅菌した水 10 ml を（1）のチューブに入れる。
- (3) チューブの中をよく混ぜ、放置して土を沈ませる。
- (4) チューブの中の上の水を2種類（カビ用、バクテリア用）の寒天培地に等量まく。
- (5) 寒天培地を逆さまにして、室温で1週間培養する。
- (6) 毎日培地を観察し、土の種類で生育してくる微生物の違いを確認し、写真で記録する。

<結果と考察>

成育したカビとバクテリアのコロニーの数については、多い順に、有機培養土、かぶと塚公園の土、相良油田の土の順であった。下の写真に示すように、有機培養土のバクテリアは寒天培地一面に生えていたのに比べ、相良油田の土のバクテリアの寒天培地は、プレートの半面しか生えていなかった。カビとバクテリアの種類については、有機培養土とかぶと塚公園の土のカビは、キノコのような形のものがあったり、緑、赤、橙色のものがあったりと種類が多かったのに比べ、相良油田の土は、カビの形や色の違いが見られなかった。その理由は、有機培養土は野菜が元気に育つように、栄養が多く含まれた土であり、かぶと塚公園の土は植木の落ち葉が腐り栄養が土に入るのに比べ、相良油田の土は原油が土に混ざっており、あまり栄養が含まれていなく、いろいろ種類の微生物が育ち難いからではないかと考えた。以上の結果から、それぞれの土の中には異なる微生物が住んでいることが分かった。



有機培養土のバクテリアのプレート



有機培養土のカビのプレート



かぶと塚公園の土のバクテリアのプレート



かぶと塚公園のカビのプレート



相良油田の土のバクテリアのプレート 相良油田の土のカビのプレート

4 実験②

疑問：油田の土に生息する微生物により、プラスチックを分解することはできるのか？

方法：タピオカの素、非生分解性プラスチック、生分解性プラスチックおよびカゼインプラスチックを、公園の土、油田の土、有機培養土、油田の土+有機培養土（混合比1：1）に埋め、実験を行った。

＜方法＞

- （1）植木鉢を用意し、上記4種類の土約3 Lを植木鉢（2個ずつ）に入れる。
- （2）各植木鉢に、タピオカの素1つかみ、非生分解性プラスチック BB 弾 10 粒、生分解性プラスチック BB 弾 10 粒、カゼインプラスチック 1 つを入れる。
- （3）（2）の上に各植木鉢の同じ土をかぶせる。
- （4）温室の中に（3）の植木鉢を入れ、分解実験を開始する。
- （5）土の表面が乾いてきたら、水を加え、スコップで土をかき混ぜる。
- （6）1 ヶ月、3 ヶ月、6 ヶ月後に土を掘り返し、タピオカの素、非生分解性プラスチック、生分解性プラスチック、カゼインプラスチックの状態を確認する。

＜結果と考察＞

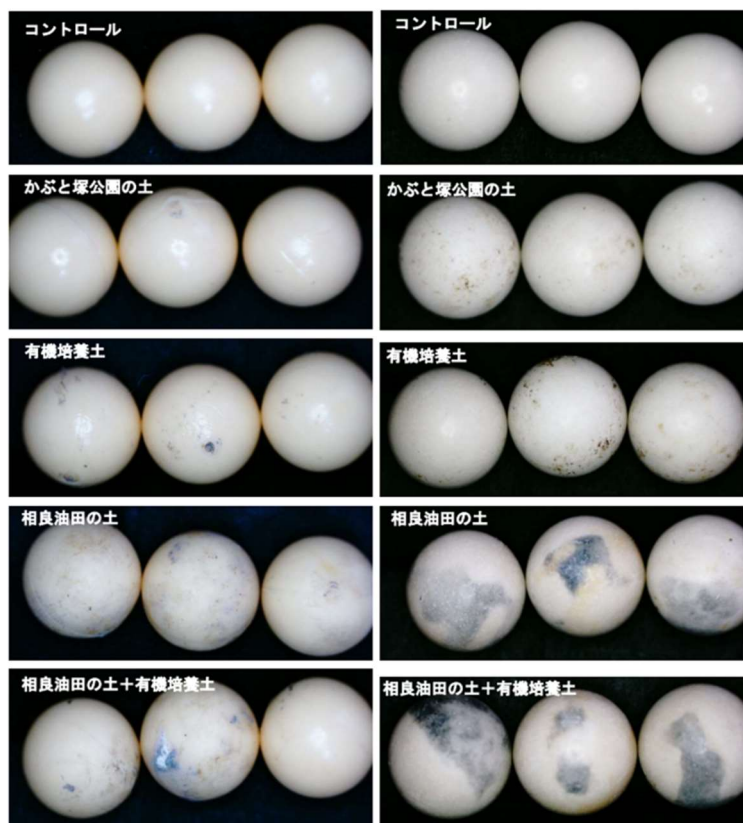
- 1 ヶ月後：カゼインプラスチックはすべての土で完全に消失した。非生分解性プラスチック BB 弾、生分解性プラスチック BB 弾は、すべての土で変化がなかった。
- 3 ヶ月後：油田の土+有機培養土（混合比1：1）に埋めた非生分解性プラスチック BB 弾の色が退色し、表面がざらざらしていた。すべての土で生分解性プラスチック BB 弾の表面が劣化していた。タピオカの素は完全に消失した。
- 6 ヶ月後：油田の土、油田の土+有機培養土（混合比1：1）に埋めた非生分解性プラスチック BB 弾、生分解性プラスチック BB 弾は、つやがなく、黒く変色していた。

表3 埋めたサンプルの3か月後の様子

	タピオカでん粉	カゼインプラスチック	プラスチック製BB弾	生分解性プラスチック製BB弾
有機培養土	完全に分解し無くなった	完全に分解し無くなった	ほとんど変化なし	つやがなく、表面がざらざらしている
かぶとづか公園の土	完全に分解し無くなった	完全に分解し無くなった	ほとんど変化なし	つやがなく、表面がざらざらしている
相良油田の土	完全に分解し無くなった	完全に分解し無くなった	つやがなく、表面がざらざらし、変色している	つやがなく、表面がざらざらし、変色している
相良油田の土+有機培養土	完全に分解し無くなった	完全に分解し無くなった	つやがなく、表面がざらざらし、変色している	つやがなく、表面がざらざらし、変色している
コントロール	変化なし	変化なし	変化なし	変化なし

プラスチック製BB弾

生分解性プラスチック製BB弾



※コントロールは土に埋めずの温室内に6か月間放置したもの

この結果より、油田の土には、プラスチックを分解する微生物が存在すると考えた。

次の実験では、油田の土に生息する微生物が、活発に活動する条件を探すため、再度プラスチック分解実験を行った。

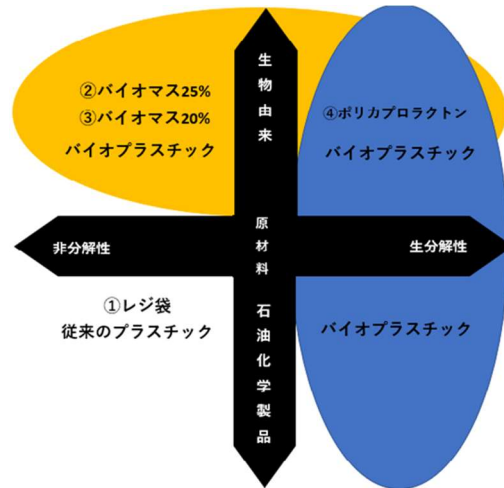
5 実験③

疑問：油田の土に生息する微生物がプラスチックを分解する条件とは何か？

実験の方法：油田の土に生息する微生物が、もっとも活発に活動する条件を考えたところ、実験①において、相良油田の微生物を培養した際、常温にて寒天培地上で培養できたので、極限（高温・低温）環境の微生物ではなく、一般的な微生物の生育条件と同じであると考えた。そこで、一般的な微生物の生育条件を調べて、その条件と合うように実験環境を下表の通り整えた。

微生物の生育条件		
条件	通常の微生物	油田の土がより元気になるためにやっていること
温度	15℃－45℃	ミニ温室に入れる
水分	水分活性>0.9	ジョーロで水をかける
塩濃度	1.2%以下で良好	
pH	5.5－8.5	
栄養分	適度	液肥を入れたり、油田の土に腐葉土を加える
酸素	酸素20%	油田の土を乾燥させてサラサラにしてから使用する

また、バイオプラスチックの方が、普通のプラスチックより早く分解が進むのではないかと考え、本で調べたところ、バイオプラスチックという言葉は、下図の4つの分類のうちの3つの分類において使用されていることがわかった。



このことから、今回の実験で使用するプラスチックは、先に挙げた表のそれぞれ3つの分類に属するバイオプラスチック3種類と普通のプラスチックの合計4種類を使用することにした。詳細は、以下に示す。

《プラスチック》

- (1) レジ袋 低密度ポリエチレン
- (2) バイオマス 25% サトウキビ由来の原料を 25%配合したポリエチレン
- (3) バイオマス 20% サトウキビ由来の原料を 20%配合したポリエチレン
- (4) 生分解性プラスチック ポリカプロラクトンを配合したもの
(なお、ペレット状のものを加熱し加工したものを使う)

使用する土については、実験②で、油田の土と野菜の土を混ぜた土に埋めた生分解性プラスチックにおいて、最も変化があったので、今回は、油田の土と野菜の土の割合を変えて混ぜた土と、さらに液肥を加えた土を使うこととした。詳細を以下に示す。

《土》

- (1) 油田の土のみ (2) 野菜の土のみ (3) 油田の土：野菜の土 1：1
- (4) 油田の土：野菜の土 (5) 油田の土：野菜の土 1：2 (6) 油田の土のみ+液肥
- (7) 野菜の土のみ+液肥 (8) 油田の土：野菜の土+液肥 1：1

普通のレジ袋、生分解性プラスチック、バイオマス 25%、バイオマス 20%のフィルムを、油田の土のみ、野菜の土のみ、油田の土：野菜の土 1：1、油田の土：野菜の土 2：1、油田の土：野菜の土 1：2、油田の土のみ+液肥、野菜の土のみ+液肥、油田の土：野菜の土 1：1+液肥のそれぞれの土に埋めて分解実験を行う。

- ア 植木鉢を8個用意する。
- イ 8個の植木鉢に、それぞれの土を入れる。
- ウ 3 cm の正方形に切った、フィルムに穴をあけ、ひもを通して結ぶ。実験②で使ったBB弾は、水をかける際に鉢から流れ出てしまい、掘り返すときにすぐに見つけ難いことから、ひもを結び付けたフィルムを使用することに変更した。
- エ それぞれの土が入った植木鉢に、それぞれのフィルムについて3枚ずつひもを出した状態で埋め、ミニ温室に入れる。
- オ 土の表面が乾いてきたら、水を加え、4ヶ月後、6ヶ月後に土を掘り返して、普通のレジ袋、生分解性プラスチック、バイオマス 25%、バイオマス 20%のフィルムの状態を確認する。

予想：どの土とプラスチックの組み合わせが1番プラスチックを分解するのかを予想した。

- ・土⇒油田の土：野菜の土 1：1+液肥

理由 油田の土の中に、プラスチックを分解する微生物がいると思うから、油田の土は必要だと思った。
野菜の土と液肥は、微生物の活動を活発化させると思うからあった方がよいと思った。

- ・プラスチック⇒バイオマス 25%（サトウキビ由来の原料を 25%配合したポリエチレン）

理由 サトウキビ由来の原料(自然界にもともと存在したもの)が入っている方が分解されやすいと思うから。そして、その割合が多い方がさらに分解されやすいと考えた。生分解性プラスチックの可能性もあると思った。

以上のことから、油田の土：野菜の土 1：1＋液肥の土に埋めた、バイオマス 25%（サトウキビ由来の原料を 25%配合したポリエチレン）のフィルムが、シートに穴が開くくらい分解されていると予想する。

<結果>

約4か月後と約6か月後に、それぞれの土に埋めたプラスチックについて土を掘り返し、状態観察した。

4か月後と6か月後に土を掘り返してみた結果					
	4か月後の結果				
	6か月後の結果				
	バイオマス20%のフィルム	バイオマス25%のフィルム	生分解性のフィルム	プラスチック製レジ袋	糸
油田の土のみ	変化なし	変化なし	表面がざらざらしていた	変化なし	変化なし
	変化なし	表面がつるつるになっていた	表面がざらざらしていた	変化なし	1部ちぎれてしまっていた
野菜の土のみ	変化なし	変化なし	変化なし	変化なし	ちぎれてしまっていた
	変化なし	表面がつるつるになっていた	表面がざらざらしていた	変化なし	ちぎれてしまっていた
油田の土のみ＋液肥	変化なし	変化なし	変化なし	変化なし	変化なし
	変化なし	表面がつるつるになっていた	表面がざらざらしていた	変化なし	1部ちぎれてしまっていた
野菜の土のみ＋液肥	変化なし	変化なし	変化なし	変化なし	ちぎれてしまっていた
	変化なし	表面がつるつるになっていた	変化なし	変化なし	ちぎれてしまっていた
油田の土 1:1 野菜の土＋液肥	変化なし	変化なし	変化なし	変化なし	ちぎれてしまっていた
	変化なし	表面がつるつるになっていた	変化なし	変化なし	ちぎれてしまっていた
油田の土 1:1 野菜の土	変化なし	変化なし	変化なし	変化なし	ちぎれてしまっていた
	変化なし	表面がつるつるになっていた	変化なし	変化なし	ちぎれてしまっていた
油田の土 2:1 野菜の土	変化なし	変化なし	表面がざらざらしていた	変化なし	変化なし
	変化なし	表面がつるつるになっていた	表面がざらざらしていた	変化なし	ちぎれてしまっていた
油田の土 1:2 野菜の土	変化なし	変化なし	変化なし	変化なし	ちぎれてしまっていた
	変化なし	表面がつるつるになっていた	変化なし	変化なし	ちぎれてしまっていた

【約4か月後に掘り返した結果】

分解が進んでいたのは、油田の土のみと油田の土：野菜の土 2：1の割合の土に埋めた生分解性プラスチックだけだった。野菜の土と野菜の土＋液肥の割合の土は、それぞれのフィルムに結び付けた糸が劣化してちぎれてしまっていた。このことから、油田の土と野菜の土には、それぞれ違う性質の微生物が住んでいて、プラスチックを分解する微生物は、油田の土の中にいることが分かった。また、油田の土の微生物を活性化するために、液肥は必要ではないことが分かった。

【約6か月後に掘り返した結果】

普通のプラスチック製レジ袋とバイオマス 20%のフィルムはどの土に埋めたものでも劣化が見られなかった。バイオマス 25%のフィルムはどの土に埋めたものでもつるつるになっていて劣化が見られた。生分解性プラスチックは、油田の土のみや野菜の土のみ、油田の土のみ＋液肥、油田の土：野菜の土 2：1の試験区で劣化が見られたが、油田の土のみと油田の土：野菜の土 2：1の油田の土の割合が多い試験区の方が他の試験区のフィルムより早く劣化が見られた。このことから、野菜の土は、油田の土と同量または、油田の土より多く入れるよりも油田の土より少ない方がよいと考えた。

<考察>

液肥を加えた試験区では、劣化が見られなかった。このことから、液肥はあくまでも植物に対しての栄養だから相良油田の微生物を活性化させる力はないことが分かった。野菜の土でも劣化が見られたが、油田の土の方が早く劣化が見られた。このことから、野菜の土にもプラスチックを分解する微生物がいる可能性はあるが、油田の土を使ってプラスチックの分解を行った方が効率的に分解できることが分かった。また、野菜の土を混合する場合、その量は油田の土より少ない方がよいと考えた。

6 実験④

疑問：相良油田の土の中に住んでいる微生物の中から、プラスチックを分解していると思われる微生物だけを取り出すことはできるのか。

実験の方法：プラスチックの原料は石油であるため、石油を食べる微生物がいればプラスチックも食べて分解するのではないかと考え、実験を行った。実験方法を下に示す。

<方法>

石油（廃油）の中に微生物を植え、生育できるかどうか実験する。

まず、実験に使用する相良油田の微生物を培養する。

- (1) 試験管に水を少し入れる。
- (2) 土の表面は日光（紫外線）が当たるなどして微生物が死んでしまっている可能性があるため、土の表面ではないところを実験用スプーンで1すくいし、(1)の試験管に入れる。
- (3) 試験管ミキサーで混ぜた後、スポイトで上部の液を取り、寒天培地のシャーレに2～3滴たす。
- (4) セルスプレッダーで広げる。
- (5) 37℃に設定したインキュベータにシャーレを入れ、1日間培養する。

次に、上記で生育した微生物が、廃油を塗った寒天培地のシャーレでも生育するか実験する。

ア 寒天培地のシャーレにスポイトで取った廃油をたらし、セルスプレッダーで広げる。

イ 滅菌した爪楊枝を使用し、相良油田の土の微生物のコロニーを取る。

ウ アの寒天培地のシャーレに爪楊枝で傷つけるように微生物を植え付ける。

エ サランラップで寒天培地のシャーレを巻き、放置し1日ごと微生物の生育を確認する。

<結果と考察>

予想に反して、廃油を塗ったシャーレでは微生物は生育しなかった。この実験では、相良油田の土の中に、廃油を食べる微生物は見られなかったが、先のプラスチックフィルムを土中に埋める実験では、プラスチックの劣化が見られたため、やはり、相良油田の土の中にプラスチックを食べる微生物がいると考え、再度、培地を変えるなど実験を行った。また、この実験に使用した相良油田の微生物のコロニーの中に、石油のようなつやのあるコロニーが見られた。この微生物は石油を生成している可能性があると考えた。

7 実験⑤

6の実験を踏まえ、相良油田の土中の微生物を、栄養成分が異なる培地で培養したもので、再度プラスチック分解微生物の単離実験を行うこととした。実験方法を下に示す。

<方法>

廃油の中に微生物を植え、生育できるかどうかを実験する。

- (1) 寒天培地のシャーレにスポイトで取った廃油をたらし、セルスプレッダーで広げる。
- (2) 滅菌した爪楊枝で先の実験とは別のシャーレから、油田の土の微生物のコロニーを取る。
- (3) (2)の寒天培地のシャーレに爪楊枝で傷つけるように微生物を植え付ける。
- (4) サランラップでシャーレを巻き、シャーレを放置し、一日ごと微生物の生育を確認する。

<結果と考察>

廃油の中に生育した微生物を確認することができた。6の実験とは栄養成分が異なる培地を使用したため、その培地に生育する微生物の種類が変わり、その中に廃油の中に生える微生物がいたのではないかと考えた。また、廃油の中で生育できた微生物がプラスチックを分解する可能性があるのではないかと考えた。

8 実験⑥

7の実験を踏まえ、5の実験で最も早くプラスチックの劣化が見られた、油田の土のみに埋めた生分解性プラスチックのフィルムと、油田の土：野菜の土 2：1に埋めた生分解性プラスチックのフィルムに付着した微生物の中には、プラスチックを分解する微生物がいるのではないかと考えた。

<方法>

- (1) 各プラスチックフィルムを、滅菌水を入れた試験管に入れ、よく混合する。
- (2) フィルムに付着した微生物を含むと考えられる(1)の懸濁液を寒天培地のシャーレで培養する。

- (3) (2) で生育したコロニーについて、廃油を塗った寒天培地のシャーレでも生育するか確認する。
- (4) (3) で生えたコロニーを単離する。

※使用した培地：栄研化学株式会社製ぺたんチェック II25 標準寒天培地

<結果と考察>

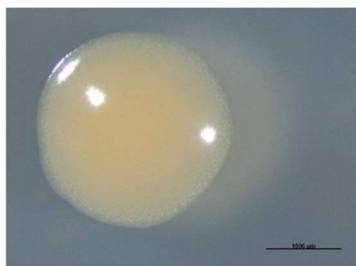
廃油を塗った寒天培地のシャーレにおいて微生物が生育したことを確認した。この結果より、プラスチックの分解に関わっている可能性があり、かつ廃油の中でも生育するという、2つの条件がそろった微生物を発見した。この微生物が、プラスチックの分解に関わっている可能性が最も高いと考えられる。このフィルムから単離した微生物の中から、廃エンジンオイルを塗った寒天培地で旺盛に生育するピンク色の微生物を、K01株とする。また、フィルムから複数の種類のコロニーが出現したことから、プラスチック分解には複数の微生物が関与している可能性がある。



上記の写真は左から、(1) フィルムの懸濁液の培養、(2) (1) のコロニーを廃油の中で培養、(3) (2) のシャーレからの単離したもの。

9 調査

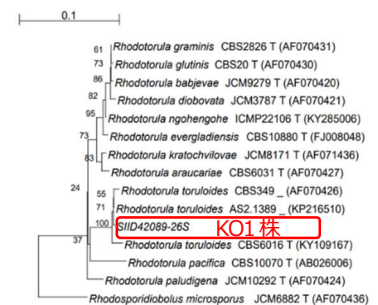
本研究で、プラスチックを分解する可能性が最も高い、実験8で発見した微生物を同定するために、株式会社テクノスルガ・ラボに同定試験を依頼した。DNA 基配列解析による同定試験を行った結果、同定した微生物は、担子菌系酵母の一種である *Rhodotorula toruloides* であることが判明した。酵母は、糖分($C_6H_{12}O_6$)を分解して、アルコールと二酸化炭素にする力がある。一方、プラスチック(ポリエチレン) ($(C_2H_4)_n$) も、炭素と水素からできている。このことから、本微生物は、プラスチックを分解する可能性が高いと考えられる。



R. toruloides のコロニー



R. toruloides の光学顕微鏡観察写真



26S rDNA の D1/D2 領域塩基配列に基づく簡易分子系統樹

10 今後の計画

- (1) *R. toruloides* を調査した結果、油脂生産に関する報告が複数あることが分かった。K01株も油脂を生産できるのか、また、プラスチック分解と油脂生産にどのような関係があるのか知りたい。
- (2) 油田の土から、K01株以外のプラスチック分解に関わる微生物を探したい。
- (3) プラスチックの分解には時間がかかることが分かったため、普段から、5R (Refuse、Reduce、Reuse、Recycle、Repair) を意識して生活したい。