

ポリスチレン分解菌の培養条件の検討

呉工業高等専門学校専攻科 学生員 ○町支 康成
呉工業高等専門学校 正会員 及川 栄作

1. はじめに

発泡スチロールは、ポリスチレンビーズを蒸気で加熱することによって形成され、衝撃緩衝性に優れ、任意の形に加工することが容易で、安価であることから食品トレイや家電製品の梱包材として大量に使用されている。しかし、いったんゴミとして排出されると、処理・処分の過程において様々な問題が発生する。一般に回収された発泡スチロールの内、汚れや品質劣化によって再利用に不適とされた発泡スチロールは単純焼却処理もしくは埋め立て処分される。これらの背景をふまえ、最近ではリサイクル技術も徐々に進んできた。発泡スチロールのリサイクルにより、再生発泡スチロール、壁材量などに加工されている。しかし、回収やリサイクルには問題がある。回収が促進されない理由には重さのわりに体積がかさばることから収集・運送の回数が増えること、リサイクルに関しては再生品としての商品は新品で生産する商品と比べるとコスト的に割高になる点が挙げられる。

このような背景から、本研究は焼却や埋め立て処理に代わる、発泡スチロールの微生物分解による無機化を目的としている。既存の研究によりポリスチレン分解菌である *Bacillus thuringiensis* STR-Y-O が山形県の捨てられたプラスチックやビニールが堆積した畑の土から単離され、唯一リモネンで減容した EPS 分解能があることが明らかになっている。本研究では、STR-Y-O 株の EPS 分解における特徴を調べる目的で至適培養温度およびリモネン耐性について実験を行った。

2. 実験方法

1) 分解菌の温度依存的増殖度の測定

分解菌をLB寒天培地で培養、これをLB液体培地に植え継ぎ、続いてLB液体培地と基礎無機塩培地に植え継ぎ培養した。ウォーターバスを用いた振とう培養温度を 30、35、40、45℃に設定し、往復振とう培養する。次に分光光度計により経過時間毎の増殖値(OD_{600nm})を測定した。

2) 温度変化に伴う STR-Y-O 株による発泡スチロール分解能測定

分解菌をLB寒天培地で培養、これをLB液体培地に植え継ぎ、続いてM9 液体培地に植え継ぎ OD_{600nm}が 0.2 に達したところで、ジクロロメタンで溶解した発泡スチロール溶解液添加し、その後 35℃で振とう培養を行った。0、3、8 日目に発泡ポリスチレンをジクロロメタン抽出し、抽出液のポリスチレン濃度を高速液体クロマトグラフ分析計によって測定した。

3) リモネン濃度の違いによる増殖阻害実験

分解菌をLB寒天培地で培養、これをLB液体培地に植え継ぎ、続いてLB液体培地に植え継ぎ終濃度をそれぞれ 0、10、50、100、200、500、1000 μg/ml になるようにリモネンを添加し、1 日目、2 日目、3 日目と OD_{600nm}測定した。

3. 実験結果および考察

(1) 分解菌の温度依存的増殖度を調べたところ 45℃では増殖が見られないことから、STR-Y-O 株は耐熱性を持っていないことが分かった。また、40℃では対数増殖期に移行するのは速いが増殖度(吸光度)が低く、30℃では対数増殖期に移行するのが遅かった。一方、35℃では対数増殖期への移行もはやく、増殖度(吸光度)も高いという結果が得られた。これらより、STR-Y-O 株の至適増殖温度 35℃付近であることがわかった。(図-1)

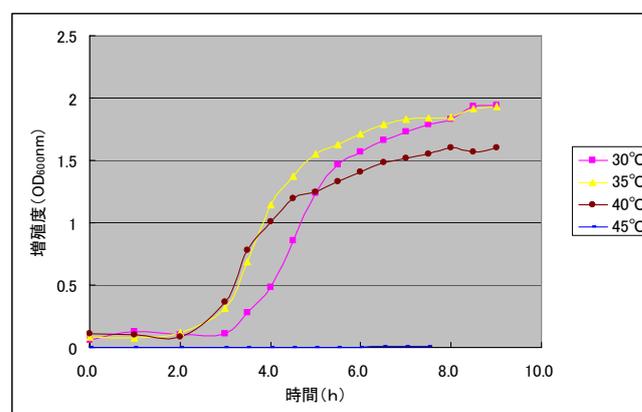


図-1 STR-Y-O の温度変化による増殖結果

(2) 至適培養 35℃で STR-Y-O 株の発泡スチロール分解能を調べたところ、3日目は初期濃度の13%の分解が示され、8日目は初期濃度の40%の分解が示された。ことから振とう培養温度を30℃から35℃に変化させても分解能が確認されたが分解の向上は見られなかった。(図-2)しかし、至適培養温度の方が微生物の働きは活発であると思われるため、分解能の向上が予測される。今後の対応として、分析環境を同じにするために30℃と35℃の両方で同時に分解能実験を行い比較すれば明らかになると思われる。

(3) リモネン濃度の違いによる増殖阻害を調べたところ、STR-Y-Oは1日目では終濃度200μg/mlで増殖がみられなかったが、2日目、3日目では同じ終濃度200μg/mlでも増殖が見られた。(図-3)他のポリスチレン分解菌であるPSD1およびPSD6では200μg/mlでリモネンによる増殖阻害が顕著に見られ、その後の培養でも増殖は確認されなかった。(図-5、図-6)このことから、STR-Y-Oはリモネンによる増殖の阻害を受けつつも、時間経過に伴い増殖の回復が見られ、他のポリスチレン分解菌には見られない、リモネンに対する多少の耐性もしくは分解性があるのではないかと示唆された。

4. まとめ

本研究により、STR-Y-O株の至適培養温度は35℃付近であることがわかった。また、分解の向上は見られなかったが35℃での発泡スチロール分解能を見ることはでき、今後同じ分析条件の下で測定を行い30℃と35℃での分解能の違いを行う必要がある。一方では、リモネンによる分解菌の増殖阻害はSTR-Y-OをはじめPSD1とPSD6にも見られたが増殖の回復が見られたのはSTR-Y-Oのみであったことから、リモネンに対する多少の耐性もしくは分解性があるのではないかと示唆された。今後は、さらなるSTR-Y-Oの特性をしらべ、最適な培養条件を決定すると伴にリモネン分解能や他のスチレンブタジエンゴムなどのスチレン重合体および、使用済み牡蠣養殖用いかだで用いられる発泡スチロールでの分解能を調べるなどの応用が期待される。

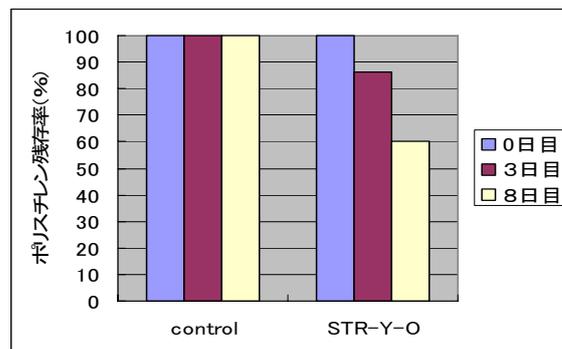


図-2 STR-Y-Oによる発泡スチロール溶解液の分解能測定結果

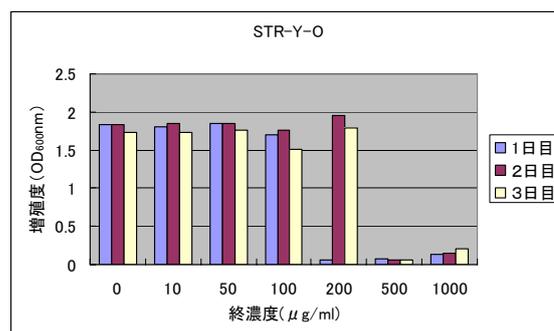


図-3 STR-Y-Oに対する各種濃度のリモネンによる増殖阻害

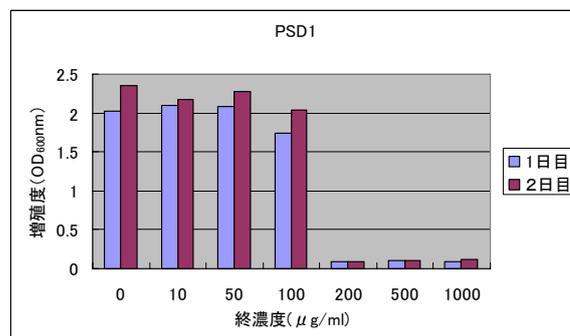


図-4 PSD1に対する各種濃度のリモネンによる増殖阻害

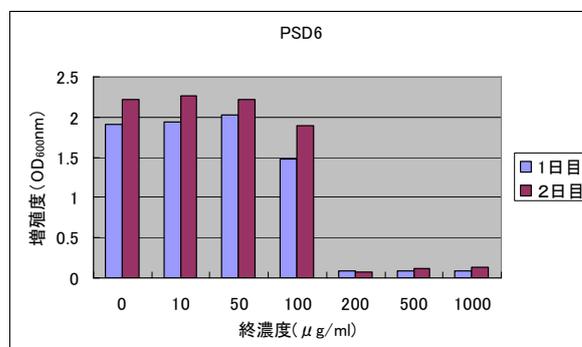


図-5 PSD6に対する各種濃度のリモネンによる増殖阻害