

# 中華民國第 59 屆中小學科學展覽會

## 作品說明書

---

高級中等學校組 動物與醫學科

### 團隊合作獎

052003

「蠟」「咀」成灰淚始乾

學校名稱：國立嘉義女子高級中學

作者：  高二 蘇于婷  高二 洪郁晴  高二 邱士珈	指導老師：  林鈺婷
---	------------------

關鍵詞：蠟蟲、分解、共生菌

## 摘要

在本次研究中，先觀察蠟蟲分別在 24 與 72 小時內食用 PE、HDPE、LDPE 以及鋁箔的面積，分析蠟蟲對四種目標材料的偏好程度，再取出蠟蟲消化道於低溫環境搗勻，並均勻抹在四種材料表面，觀察是否有被分解的跡象，發現目標材料的重量確實減少，最後透過共生菌培養尋找並研究是否有可能與其相關的共生菌存在。

經由一系列實驗，證實蠟蟲消化道內存在能有效分解聚乙烯、高低密度聚乙烯和鋁箔的酵素，且在共生菌液態培養下發現共生菌有增殖現象，最後，透過固液態混和培養出與蠟蟲分解聚乙烯現象最具相關性的菌種，在未來有足夠的資源下分離出其基因序列，再透過轉錄轉譯技術，製成大量酵素，便可以對現今處理難分解垃圾難題帶來新的解決契機。

## 壹、動機

自 1863 年塑膠發明，塑膠已被大量運用，並成為多數日常用品的原料，近年來，它的使用量更隨著人類追求便捷的同時日益提升，當前，除了思考如何減少用量，解決已使用的塑膠垃圾也成為一大議題，就目前的研究而言，蠟蟲，一種螟蛾科的蛾類，能順利在短期消化分解塑膠袋，但目前卻無任何研究顯示蠟蟲體內能分解塑膠的物質為何，因此，我們想進一步探討這個問題，倘若了解能分解塑膠的成分，便可以發展更有效率地處理塑膠方法，為人類的自私負責。

## 貳、研究目的

### 一、研究背景

<National Geographic>2017 年 5 月號雜誌中提及歐洲的一支科學團隊或許找到了解決塑膠難題的獨特方法，他們發現住在蜂巢裡並以蜂蠟為食的蠟蟲能在 40 分鐘內，將塑膠購物袋吃出一個大洞。

經過查詢資料與比對繪製後，我們發現蜂蠟的結構與聚乙烯相似，故將蠟蟲的研究目標食物設為聚乙烯、高密度聚乙烯、低密度聚乙烯。值得一提的是，在進行實驗時，我們用來封住蠟蟲窩的鋁箔也有被啃食的情形(如圖一)，更另闢一條新的研究路線。

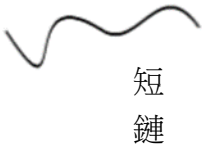




(圖一)

### 二、研究目標

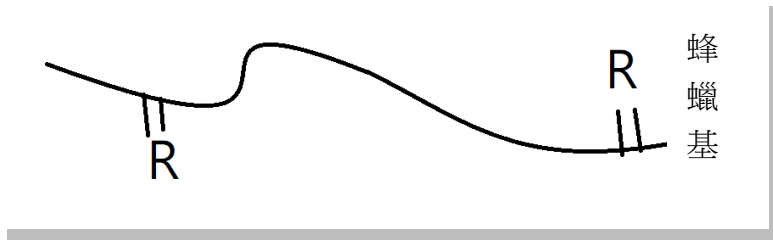
- (一)利用蠟蟲活體食用目標材料的情形比對出牠們最具食用能力的目標材料
- (二)透過消化液分解實驗確認蠟蟲酵素的分解能力
- (三)利用液態培養找尋蠟蟲體內是否有可協助分解目標材料的共生菌
- (四)利用固液態混和培養共生菌菌種

註一:三種聚乙烯與蜂蠟比較

	PE	LDPE	HDPE
結構式	$\left( \begin{array}{cc} \text{H} & \text{H} \\   &   \\ -\text{C} & -\text{C}- \\   &   \\ \text{H} & \text{H} \end{array} \right)_n$	$\left( \begin{array}{cc} \text{H} & \text{H} \\   &   \\ -\text{C} & -\text{C}- \\   &   \\ \text{H} & \text{H} \end{array} \right)_n$	$\left( \begin{array}{cc} \text{H} & \text{H} \\   &   \\ -\text{C} & -\text{C}- \\   &   \\ \text{H} & \text{H} \end{array} \right)_n$
熔點	90 °C-130 °C	108 °C-126 °C	130 °C
密度	0.87-0.96g/cm <sup>3</sup>	0.915-0.940 g/cm <sup>3</sup>	0.941-0.960g/cm <sup>3</sup>
支鏈數	0	支鏈多又長	0
結構圖	 短鏈		 長鏈

(表一)  
(表格作者自繪)

蜂蠟結構(短鏈)



由上圖表(表一)可以看出低密度聚乙烯(LDPE)擁有較多的長支鏈  
 聚乙烯(PE)為短鏈且無支鏈結構，近似蜂蠟結構;而高密度聚乙烯為長鏈且無  
 支鏈結構

## 參、研究設備與器材

### 一、實驗一(實驗裝置如圖二)

(一) 四種材料:(9X9cm<sup>2</sup>)

1. PE X4 張
2. LDPE X4 張
3. HDPE X4 張
4. 鋁箔 X4 張

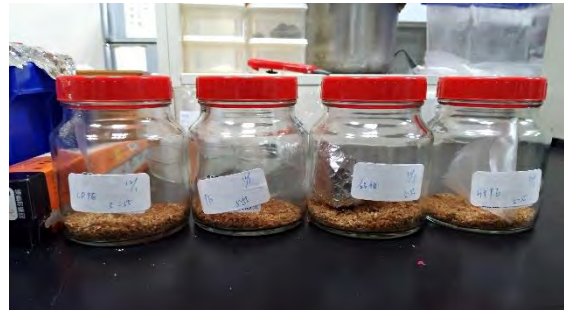
(二) 糖果罐 X4 個

(三) 5g 培養基

(四) 尺 X1 支

(五) 螺絲起子(鑽洞用) X1 支

(六) 蠟蟲 30 隻 X4 罐



(圖二)

### 二、實驗二

(一)四種材料:(6X6cm<sup>2</sup>)

- |              |              |
|--------------|--------------|
| 1. PE X4 張   | 2. LDPE X4 張 |
| 3. HDPE X4 張 | 4. 鋁箔 X4 張   |

(二)蠟蟲 200 隻

(三)解剖用具 2 組

(四)杵與鉢 2 組

(五)微量吸管 4 支

(六)微量天平 1 台

(七)生理食鹽水 20 瓶

(八)消毒設備(75%酒精、酒精燈)

(九) 250ml 錐形瓶 8 個

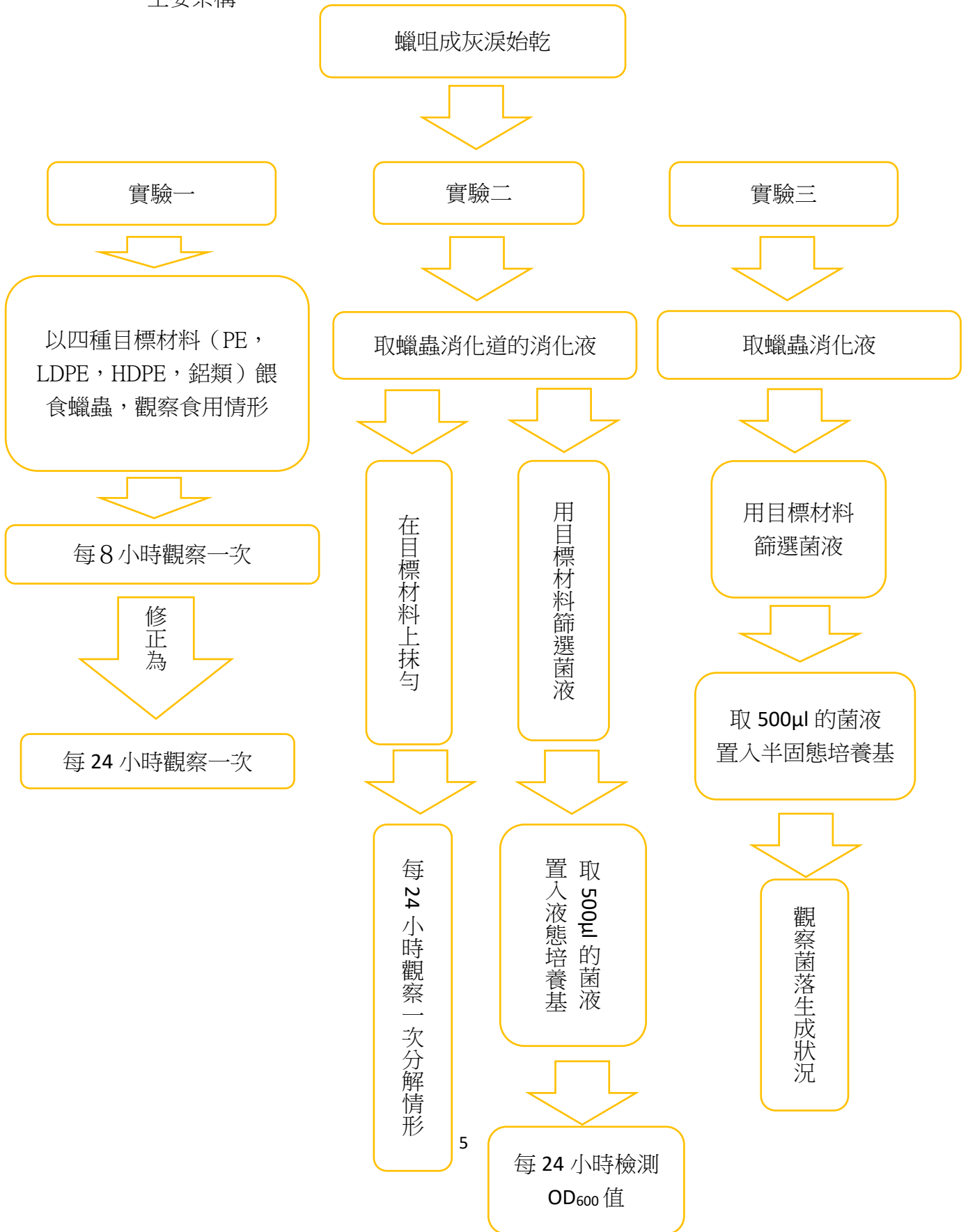
### 三、實驗三

(一)~(八)同實驗二

(九)細菌培養箱

## 肆、研究方法

### 一、主要架構



## 伍、結果與討論

### 一、實驗一

#### (一) 詳細步驟:

- 1.先將罐頭瓶蓋鑽一個小洞
- 2.將培養基倒入糖果罐
- 3.將 30 隻蠟蟲放入每一罐糖果罐
- 4.再將 4 種材料置入瓶中
- 5.固定時間測量(8 小時和 24 小時)共 3 次
- 6.測量方式分為兩種

(1)似矩形的洞:直接測量算面積

(2)不規則的洞:需分割後再加總計算

註 2:實驗季節為冬天，蠟蟲生長速度極緩，長度皆約為 1.75-2 公分(如圖三)



(圖三)

(二)8 小時觀察一次(共三次, 24 小時)

1. 每 8 小時平均啃食面積( $\text{cm}^2$ )

	PE	LDPE	HDPE	鋁箔
0-8hr	3.0	0.2	0.6	0.3
8-16hr	3.6	0.1	1.2	0.2
16-24hr	3.2	0.1	0.2	0.2

(表二)



(表三)

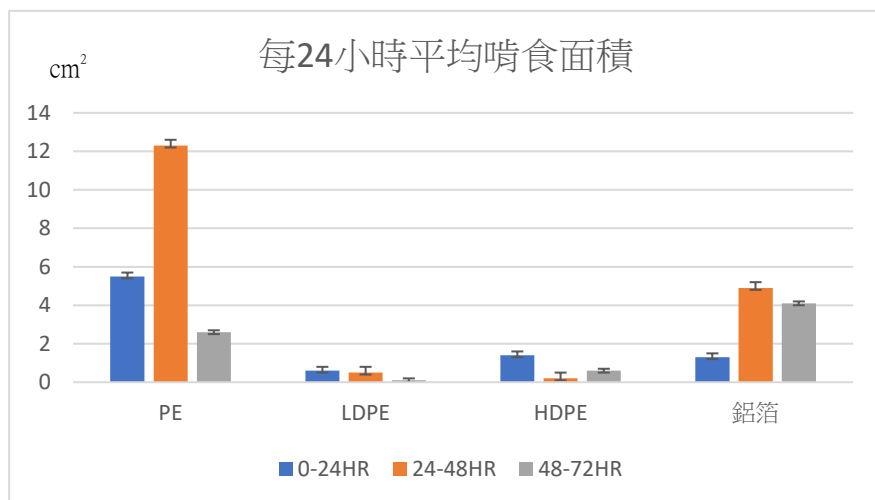
由於每 8 小時實驗的結果並不明顯，所以將觀察時間延為每 24 小時觀察一次

(三)24 小時觀察一次(共三次, 72 小時)

1. 每 24 小時平均啃食面積( $\text{cm}^2$ )

	PE	LDPE	HDPE	鋁箔
0-24HR	5.5	0.6	1.4	1.3
24-48HR	12.3	0.5	0.2	4.9
48-72HR	2.6	0.1	0.6	4.1

(表四)

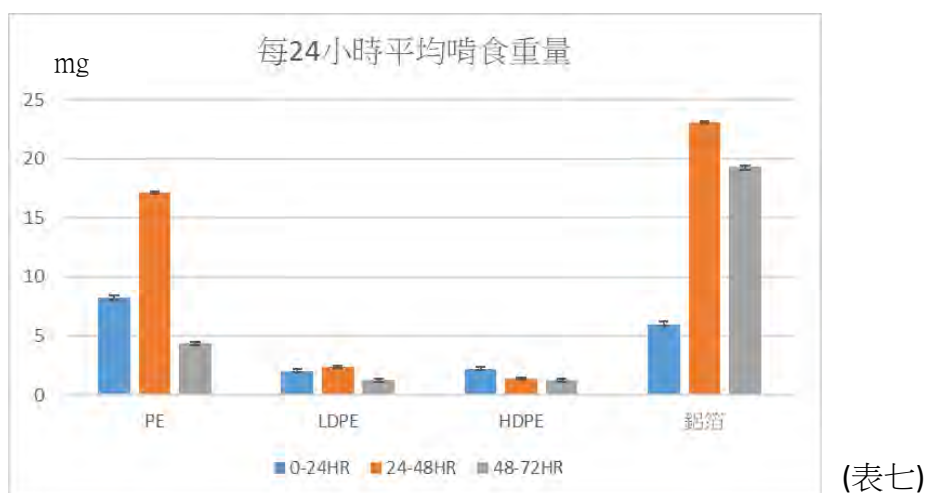


(表五)



## 2. 每 24 小時平均啃食重量(mg)

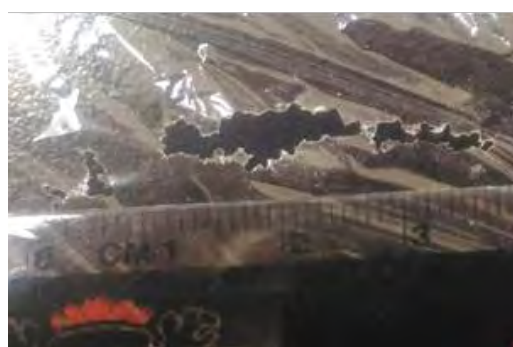
	PE	LDPE	HDPE	鋁箔
0-24HR	8.2	2.0	2.2	6.0
24-48HR	17.1	2.4	1.4	23.1
48-72HR	4.4	1.3	1.3	19.3

 (表六)

## 3. 觀察現象

### (1) PE

本實驗的 PE 採用保鮮膜，材質柔軟易撕扯，在實驗中被蠟蟲啃食情形較顯著，邊緣呈不規則嚙咬狀(如圖四)。



(圖四)

在 72 小時的實驗中，PE 有顯著地啃食變化，在第 48 小時的食用量更高達了 12.3cm<sup>2</sup> 之多，總結三次實驗平均，其重量也在 72 小時後，也從原先的 50.0mg 遭啃食後僅剩 20.3mg，長時間觀察，我們更加認證了蠟蟲對於與過往主食--蜂蠟結構相近的聚乙烯有極佳的食用能力。

## (2)LDPE

蠟蟲對於低密度聚乙烯 LDPE 的食用面積在每八小時觀察一次的實驗圖表(表三)中可見其值明顯略小，考量 LDPE 的結構與觀察時間長短，我們推估原因有兩個:

其一:LDPE 支鏈多，可能對蠟蟲難以食用分解

其二:觀察共 24 小時，時間並不長，所以結果不顯著

基於這兩項推測，我們決定執行每 24 小時觀察一次的實驗，以便驗證這兩項假設。

在 72 小時的觀察下，蠟蟲食用 LDPE 的量並沒有特別增加，從平均食用面積的圖表(表五)也明顯看出蠟蟲對於 LDPE 的極少啃食面積，以總結三次實驗平均來看，LDPE 的重量僅從最初的 122.0mg 減至 116.3mg，僅少了 5.7mg，幾乎毫無差別。

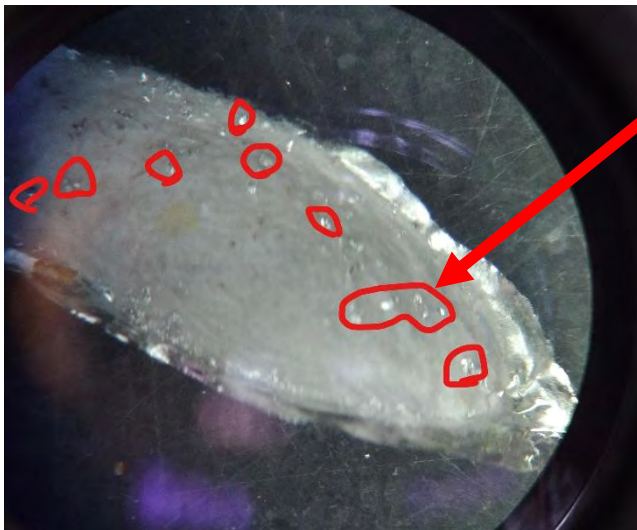
由此可驗證我們在每 8 小時觀察一次實驗中的推測一:「LDPE 支鏈多，蠟蟲難以食用分解」

## (3)HDPE

蠟蟲在最初的 24 小時，對 HDPE 的食用量和每 8 小時觀察一次的實驗中食用面積總和相近，分別為  $1.1\text{cm}^2$  與  $1.3\text{cm}^2$ ，但在 24 到 48 小時間，其食用量漸減，平均而言，食用量的面積由  $1.4\text{cm}^2$  減少至  $0.2\text{cm}^2$ 。

#### (4) 鋁箔

發現蠟蟲會食用鋁箔全出自於意外，最初為防止蠟蟲爬離其窩，所以用鋁箔封住其窩，出乎意料地，隔天在前去觀察時，鋁箔已破一個約  $1\text{cm}^2$  的洞，數星期後，蠟蟲蛹的絲狀結構在解剖顯微鏡下，更可以看見鋁箔細小的碎片。

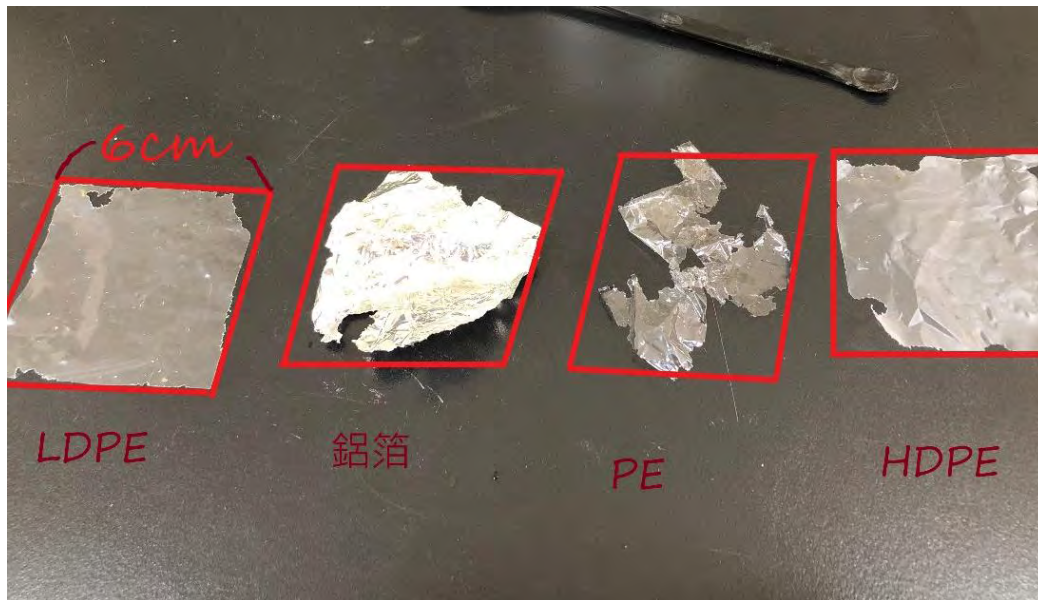


(圖五)

而每八小時觀察一次的實驗中，蠟蟲食用鋁箔的面積量略多 LDPE(表三)，蠟蟲對鋁箔的分解吸收的潛力值得探討。

總結以上，每八小時觀察一次的實驗可以觀察到短時間內，蠟蟲對於四種不同材質的適應性，而鋁箔在最初 24 小時的食用面積量並不明顯，僅  $1.3\text{cm}^2$ ，但相較於每 8 小時觀察一次實驗的  $0.6\text{cm}^2$  仍然略大，且不同於 HDPE 的隨時間遞減，鋁箔在 24 到 48 小時的被食用量明顯增加，約為  $3.6\text{cm}^2$ ，平均三次實驗，其重量 72 小時後從  $171.0\text{mg}$  減至  $122.6\text{mg}$ 。

(5) 目標材質 72 小時後的面積啃食狀況  
(紅線部分為原面積為  $6 \times 6 \text{cm}^2$  的大小)



(圖六)

透過圖片，我們可以更明顯看出四種不同材質在 72 小時啃食後的面積變化：

聚乙烯(左 3)>鋁箔(左 2)>高密度聚乙烯(左 4)>低密度聚乙烯(左 1)

## (6) 蠟蟲糞便觀察

透過解剖顯微鏡觀察蠟蟲糞便中是否仍存在四種材料，以確認其是否完全消化聚乙烯與鋁箔。(如圖七)



(圖七)

由圖七可以明顯看出，紅色框線部分有明顯的細碎亮點，那些正是鋁箔碎片，而它隔壁的排泄物中，並沒能看見塑膠碎片，我們推測原因有二：

其一：蠟蟲已完全消化三種聚乙烯

其二：塑膠碎片過於細微，難以察覺

對於「塑膠碎片過於細小，難以察覺」這項問題，我們可以將各式塑膠碎片染成更顯眼的顏色，以利觀察。

## 二、實驗二

### (一)詳細步驟

#### 1. 消化道物質分解目標材料實驗

- (1) 利用解剖工具取出蠟蟲的消化道
- (2) 每 30 組消化道為一批，置入周圍以冰塊降溫的杵與鉢中研磨。
- (3) 將研鉢中的消化道液和冰過的生理食鹽水混和倒入離心管中。
- (4) 以 4 度低溫離心消化液
- (5) 最後，取上面的澄清液均勻塗抹於目標材質上(如圖八)
- (6) 每 24 小時秤重一次，觀察四種目標材料重量減少現象



(圖八)

## 2.共生菌液態培養實驗

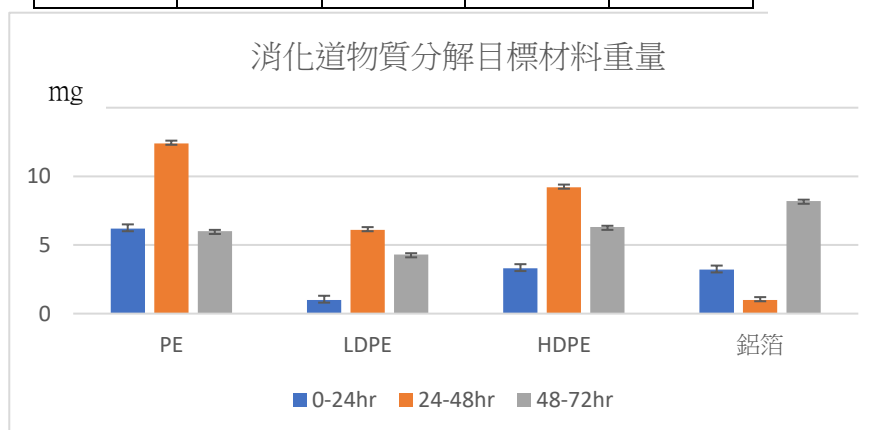
- (1) 利用解剖工具取出蠟蟲的消化道
- (2) 每 30 組消化道為一批，置入周圍以冰塊降溫的杵與鉢中研磨。
- (3) 將研鉢中的消化道液和冰過的生理食鹽水混和倒入離心管中。
- (4) 待其稍微沉澱後，利用微量吸管吸取 5000 $\mu$ l 的消化液，並加入 5000 $\mu$ l 的生理食鹽水。
- (5) 均勻塗抹於目標材質上後，靜置 72 小時，用目標材料進行消化液篩選 (如圖八)，待不能以分解目標材料維生的菌種死亡後進行液態培養。
- (6) 將 100ml 的生理食鹽水和錐形瓶共同滅菌
- (7) 將已用紫外線滅菌過的四種材料置入步驟六的錐形瓶
- (8) 將先前四種材料上面的消化道菌液倒入錐形瓶中
- (9) 每 24 小時測量一次 OD<sub>600</sub> 值

### (二)消化道實驗

#### 1. 平均消化數值(mg):

	PE	LDPE	HDPE	鋁箔
0-24hr	6.2	1	3.3	3.2
24-48hr	12.4	6.1	9.2	1
48-72hr	6	4.3	6.3	8.2

(表八)

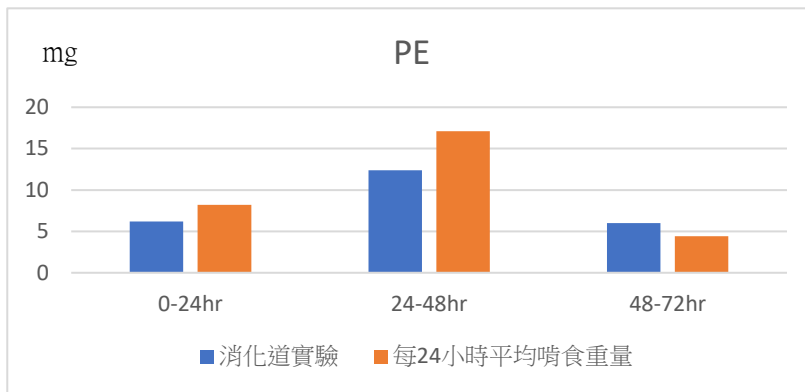


(表九)

## 2.觀察現象

### (1) PE

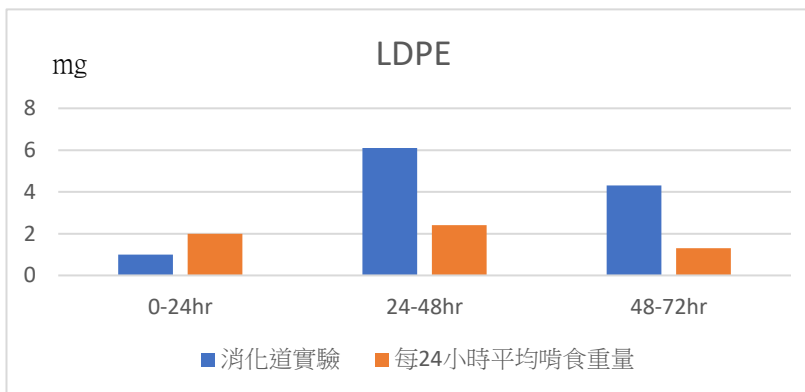
由圖表(表十)可知，蠟蟲的食用面積與其消化液在體外分解量是略呈正比的關係，可見蠟蟲食用和消化是同步的。



(表十)

### (2) LDPE

由圖表十一，可以看出蠟蟲體內有可以消化 LDPE 的酵素，但是消化量不大，而其消化量不大在實驗一卻沒有在糞便中發現塑膠碎片，推測其原因為碎片細小且透明，不易發現。

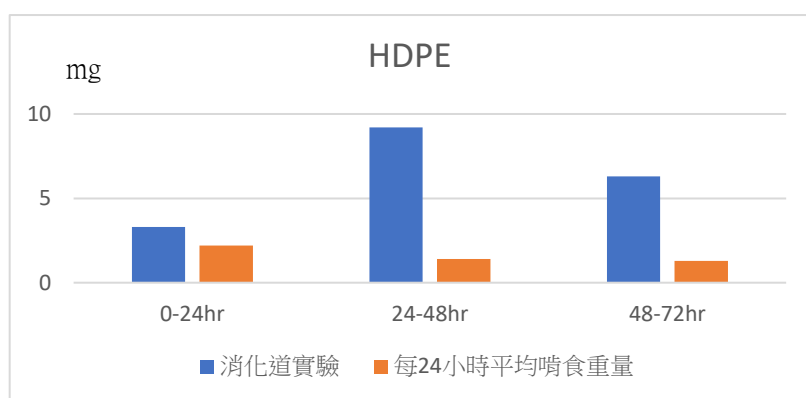


(表十一)



### (3) HDPE

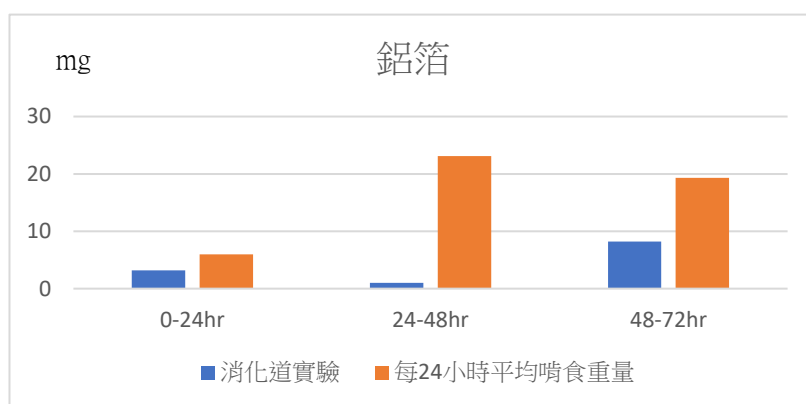
由下圖表(表十二)可知，蠟蟲消化道酵素對於 HDPE 的反應稍慢，於 24-小時才有明顯的消化量改變，因此我們推測蠟蟲食用 HDPE 量漸減的原因為在 24-48 小時才開始大量消化，體內有較多塑膠，使蠟蟲有飽足感並開始減少進食。



(表十二)

### (4) 鋁箔

最令我們意外的是，鋁箔在蠟蟲體內也有被消化的現象，並於 48-72 小時體內消化量最多，由圖表十三也可以分析出蠟蟲對於鋁箔在 48-72 小時的啃食量下降與 24-48 小時的低消化量有關，這現象值得我們更深入探究。



(表十三)

### (三)共生菌實驗

在本次實驗中，我們的液態培養基內容物僅有：滅菌過的生理食鹽水 100ml 和已用目標材料篩選過—能利用目標材料存活的菌液 0.5ml，並用鋁箔封口，為確保無雜菌干擾，所有操作均在無菌操作台(圖九)，並於每 24 小時檢測一次 OD 值(註 3)。

註 3：OD 值:即為光學密度 (Optical Density)，在做細菌的生長狀態觀察時，如果細菌量愈多，樣本就會愈混濁，這時他的透光度就會不高，可利用分光光度計(本實驗採用  $\lambda = 600\text{nm}$ )來測此時的 OD 值，推測細菌生長狀態，而  $\text{OD}_{600}$  值與菌量換算公式為「菌數= $\text{OD}_{600}$  值 $\times 8 \times 10^8$ (個/ml)」

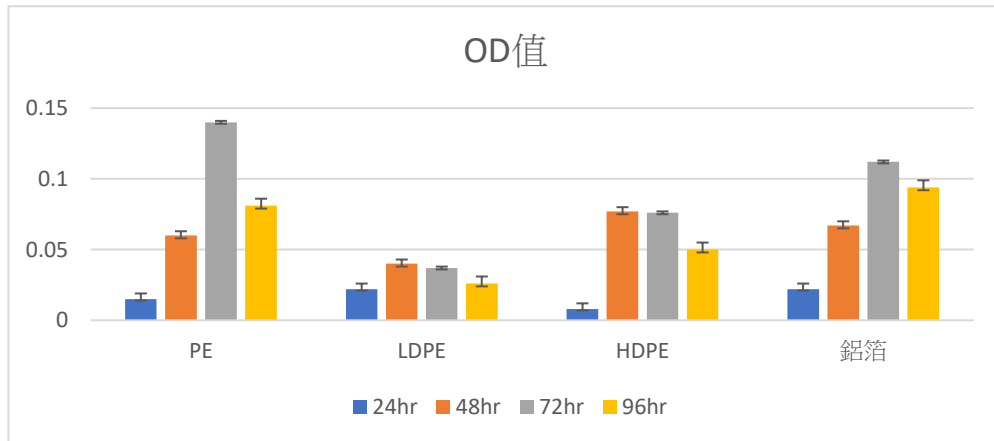


(圖九)

## 1. 菌種 OD<sub>600</sub> 值數據與圖表

	PE	LDPE	HDPE	鋁箔
24hr	0.015	0.022	0.008	0.022
48hr	0.06	0.04	0.077	0.067
72hr	0.14	0.037	0.076	0.112
96hr	0.081	0.026	0.05	0.094

(表十四)



(表十五)

## 2. 觀察現象

### (1) PE

透過共生菌實驗的觀察，我們發現在蠟蟲體內有一批共生菌種，在 72 小時內，他們能透過分解 PE，獲得能量並繁殖，離開蠟蟲消化道 72-96 小時的共生菌逐漸死亡並沉於瓶底，使 OD<sub>600</sub> 下降，此現象更能確定蠟蟲和這種菌有著互利共生的交互作用，其關係為：蠟蟲提供共生菌生活環境，共生菌協助分解 PE，以利自己與蠟蟲從中獲取養分，生存下去。

## (2) LDPE

能分解 LDPE 的菌種由上圖表(表十五)可分析出其 OD<sub>600</sub> 值較能分解其他目標材料並獲得能量來源的另外三種低，換句話說，其菌量較少(約  $1.6 \times 10^7 \sim 3.2 \times 10^7$  個/ml)，比照先前數項實驗的結果:蠟蟲對於 LDPE 的啃食量較少，且消化道內酵素溶解量較少和此實驗結果成正相關。

## (3) HDPE

由圖表(表十五)與公式換算可以分析，在蠟蟲體內能分解 HDPE 共生菌的菌量（約  $6.4 \times 10^6 \sim 6.4 \times 10^7$  個/ml）僅大於 LDPE 的量，這現象可以說明蠟體內能分解 HDPE 的共生菌的數量和前次消化道分解實驗中—HDPE 酵素反應量累積自 24-48 小時才有較大量分解的現象有相關性。

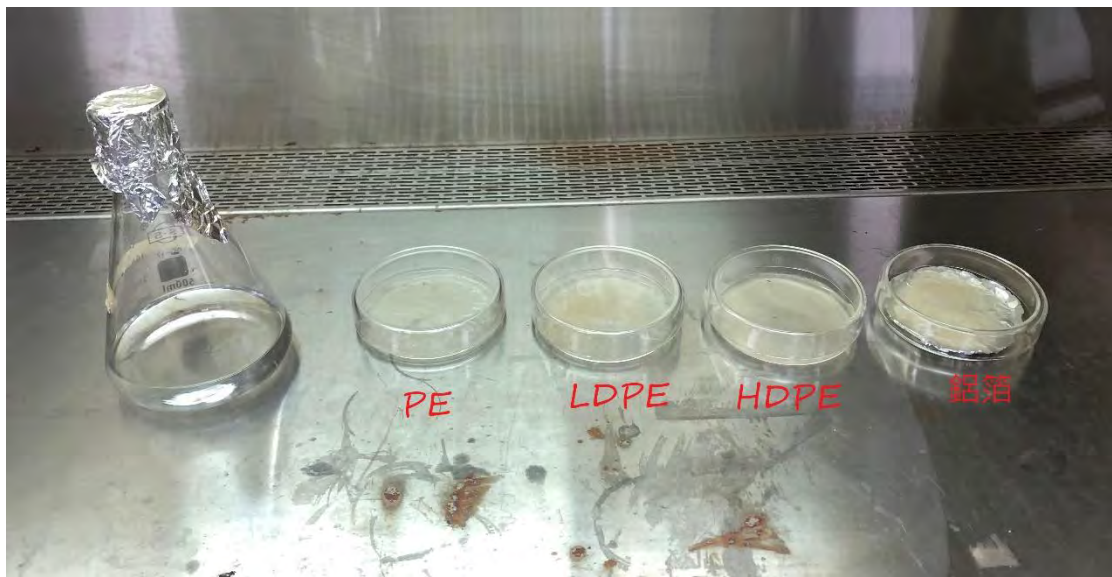
## (4) 鋁箔

在蠟蟲體內能分解鋁箔以利生存的共生菌數量僅次於 PE，但對照先前糞便觀察圖(圖七)來看，其完整分解鋁箔能力並不是很顯著，鋁箔往往在被分解完整時就被排出，不過這仍值得我們在未來繼續研究。

### 三、實驗三

#### (一)詳細步驟

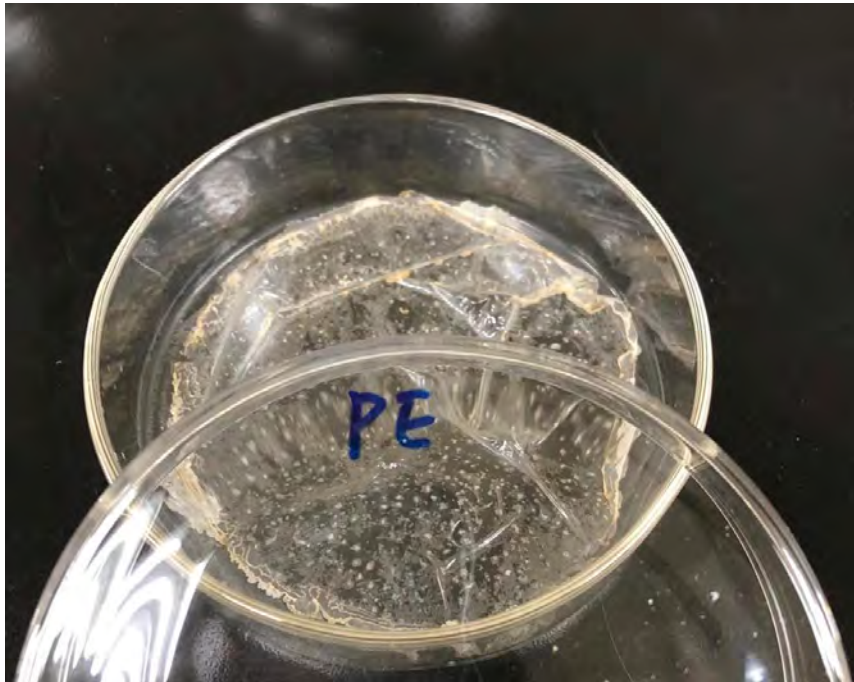
- 1.取出蠟蟲消化道，並於低溫環境中搗勻
- 2.將搗勻的消化液加入 10ml 的生理食鹽水，平均倒入具目標材料的培養皿中進行菌液篩選，時間共 3 天(如圖十)。
- 3.將已篩選掉雜菌的菌液 5ml 與生理食鹽水 5ml 共同置入具目標材料的培養皿中，此時培養皿呈現固體、液體混和狀態
- 4.將步驟三的培养組置入 27°C 的細菌培養箱中
- 5.每 3 天添加一次 5ml 的生理食鹽水，以避免培養皿乾枯
- 6.等待並觀察菌落生成情形



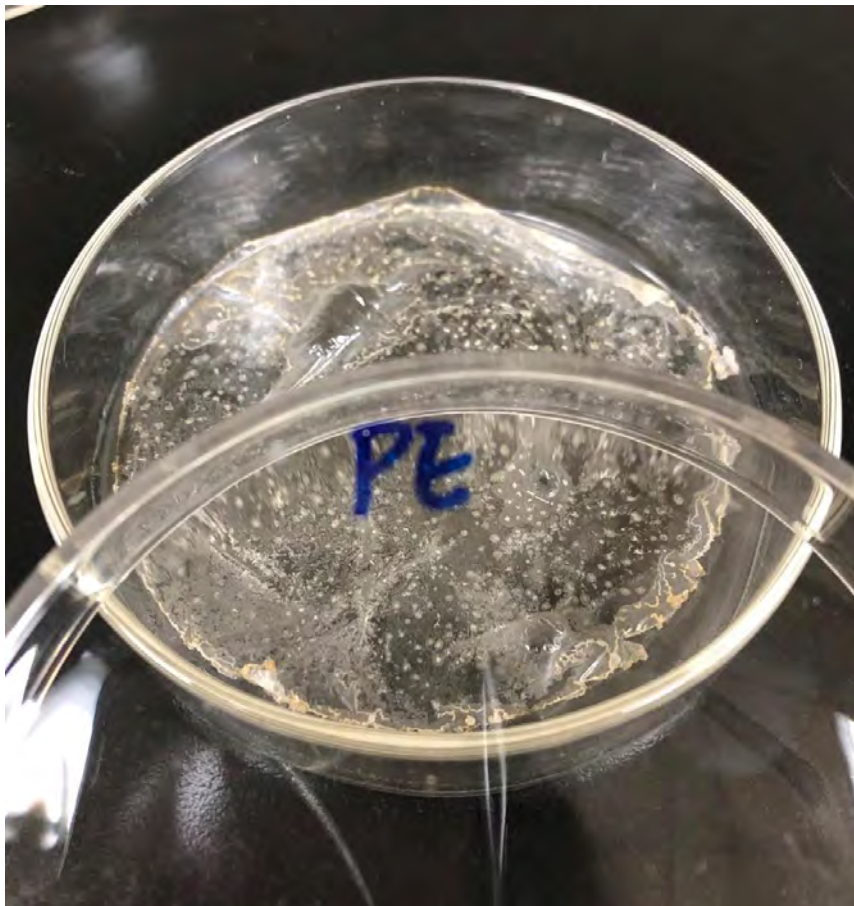
(圖十)

(二)菌落生成現象

1. PE

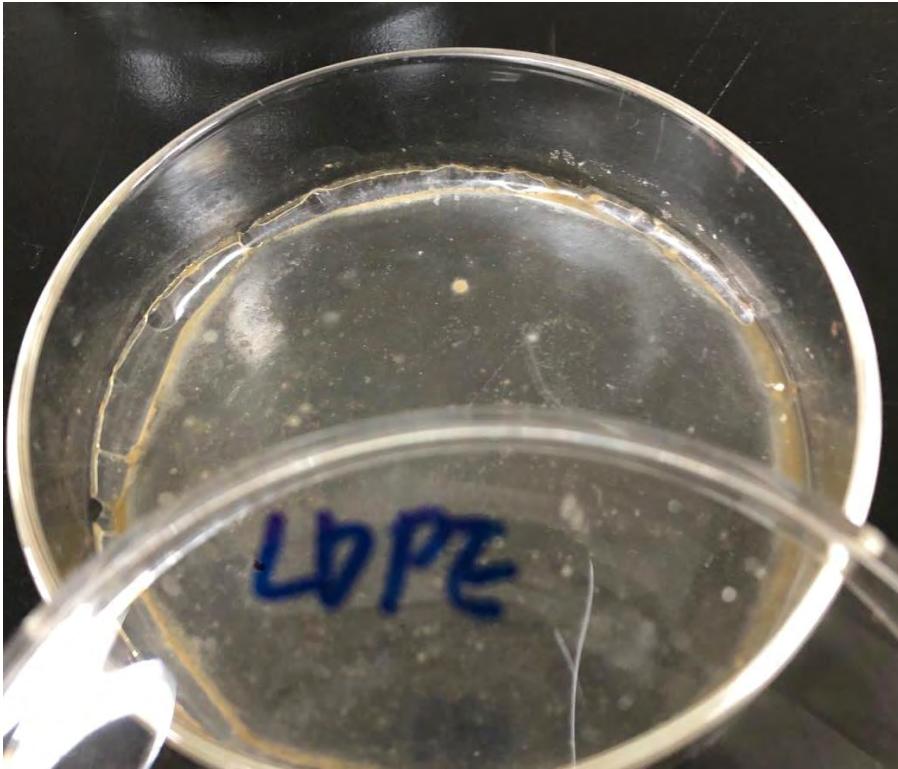


(圖十一)



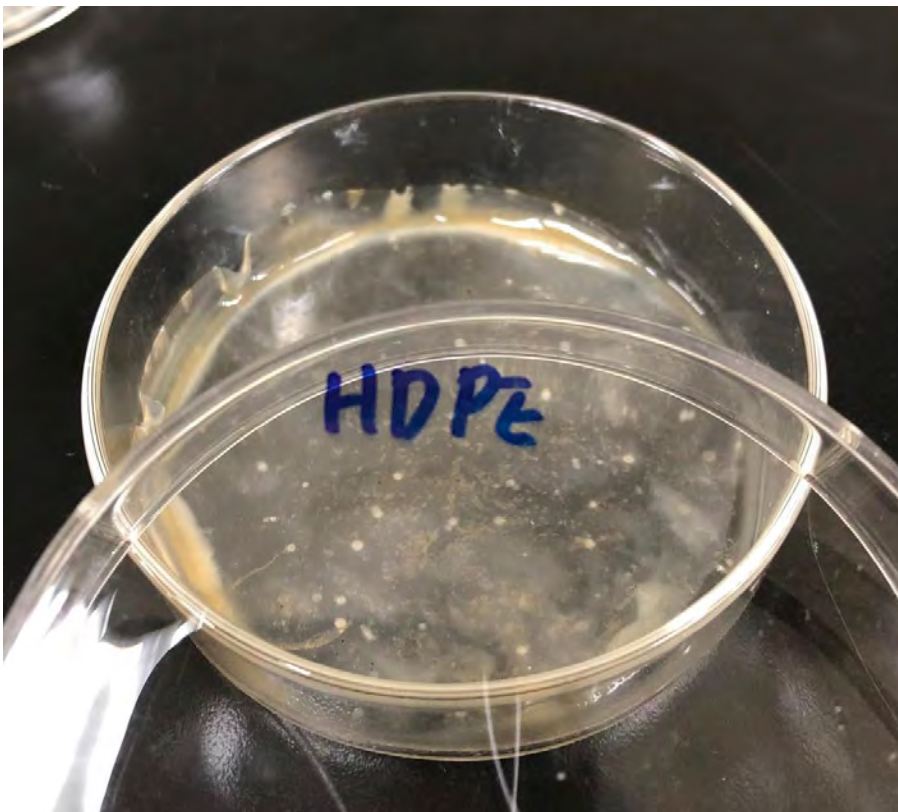
(圖十二)

2.LDPE



(圖十三)

3.HDPE



(圖十四)

#### 4. 鋁箔



(圖十五)

(因鋁箔反光而用紅色圓圈圈起的白色菌落)



### (三)觀察現象

#### 1.PE

在 PE 表面上可以清楚看到有許多白色菌落均勻且密集的生長著，並且在 PE 邊緣有明顯的侵蝕痕跡，此現象可以間接證明這些共生菌與聚乙炔的分解有極大的相關性，而其作用機制也值得我們繼續深入探討。

#### 2.LDPE&HDPE

我們分別在 LDPE 與 HDPE 的表面上發現了與 PE 表面上相似白色菌種而透過圖片(圖十三與圖十四)，也可以清楚分辨出 LDPE 上菌量明顯小於 HDPE 的現象，唯一相同的是，在這兩種材料的邊緣並沒有明顯遭腐蝕情形。

#### 3.鋁箔

在鋁箔的紅色圈圈中，可以看見鋁箔表面上也有和前三種聚乙炔表面上相同的白色菌落，至於其是否為相同菌種，值得我們更深入研究。

註 4:為方便稱呼，我們先將這些菌分別暫時命名為 W(White Bacterium in Waxworm)-PE 菌、W-LDPE 菌、W-HDPE 菌、W-鋁箔菌

## 陸、結論

### 一、聚乙烯(PE)

聚乙烯是日常生活中常見的塑膠用品，它帶給了人類便利，相對的也帶給生態相當的衝擊。在本次研究中，我們發現蠟蟲不僅僅只有先前科學家所觀察到其食用塑膠的情形，在他們的體內，更擁有能將 PE 同步有效分解的酵素，分析共生菌液態培養實驗中的數據—前 72 小時 OD<sub>600</sub> 值明顯上升(0.015~0.14)，可見蠟蟲體內具有能分解 PE 提供自身能量的共生菌，而 72 至 96 小時，推測共生菌因為離開蠟蟲體內過久，沒有與蠟蟲穩定的交互作用而逐漸死亡。值得一提的是，我們在實驗後仍繼續讓蠟蟲單純食用 PE，而他們也沒有因此死亡，還順利羽化成蛾，進行下一次的生命週期，這代表蠟蟲不僅能和共生菌協同分解聚乙烯，還能利用其提供自己能量，完成生命週期，而至於其他元素的獲得值得深入探究。

### 二、低密度聚乙烯(LDPE)

LDPE 具有較多長支鏈，常用於夾鏈袋、透明光滑的塑膠袋，在本次研究中，不論是啃食面積實驗，還是消化液分解實驗，都沒有明顯的分解狀況，到最後的液態共生菌培養實驗，我們更加肯定—蠟蟲體內僅有極少數的共生菌能協助分解 LDPE，而單單食用 LDPE 的蠟蟲在結蛹時，大部分體型偏小(平均約短 0.2cm)，可見 LDPE 分解也難以提供蠟蟲足夠得養分，總結以上，支鏈多寡也會影響其材質的分解難易度，未來製造塑膠材料時需更加留意。

### 三、高密度聚乙烯(HDPE)

質地偏硬的 HDPE 常用於耐熱袋的製作，蠟蟲對於 HDPE 的食用量在長時間觀察下，有愈來愈趨緩的現象，透過之後的數項實驗與液態培養實驗，發現能協助蠟蟲分解 HDPE 的共生菌分解效果不如預期，這可以間接證明蠟蟲在先前數項實驗中對於 HDPE 啃食與消化較緩的現象，單純食用 HDPE 的蠟蟲也順利結蛹，體型與一般正常食用培養基的蠟蟲(約 2cm)沒有明顯差異。

### 四、鋁箔

本次實驗最大的收穫正是蠟蟲對於鋁箔的食用與消化現象，蠟蟲的啃食量十分顯著，而且在液態培養實驗中，我們也發現在蠟蟲體內有能協助分解鋁箔的共生菌，不僅如此，蠟蟲也在實驗後繼續單純食用鋁箔，並且順利結蛹，羽化成蛾，而這現象也值得我們未來繼續研究。

補充：我們蠟蟲皆由卵開始培養，所以更能確定他們僅靠食用目標材料獲得新陳代謝的能量來源。

## 五、體內共生菌

透過液態培養實驗，我們發現在蠟蟲體內某些共生菌能順利分解目標材料，並透過分解獲得養分提供自體新陳代謝的能量與蠟蟲的養分；為了找出菌種種類，我們之後於實驗三進行了半固液混和培養菌落實驗，蠟蟲體內的共生菌於 27°C 的穩定環境(細菌培養箱)三周後形成許多 W 菌落，而 W 菌對於聚乙烯表面也相當顯著，肉眼可視，透過這項發現，我們可以針對這些共生菌進行大量培養，深入研究其與分解目標材料的關係。

## 柒、未來展望

透過數項實驗，我們確立蠟蟲消化道內具有能分解三種聚乙烯和鋁箔的酵素，並透過共生菌培養實驗發現與分解現象最具相關性的菌種(W 菌)，倘若未來在有充足資源下進行研究，我們可以確立共生菌和酵素對蠟蟲分解聚乙烯的交互關係，並移植這段分泌酵素的基因移至海洋細菌內，已利未來海洋難分解垃圾的清理!

## 捌、參考資料

- 1.<National Geographic>2017 年 5 月號雜誌
- 2.基礎化學 2:有機化合物
- 3.台灣蛾類百科:螟蛾篇
- 4.科學人 2017 年第 187 期 09 月號
- 5.醫用微生物學，第六版:滅菌與 OD 值

## 【評語】 052003

1. 本研究之目的在探討蠟蟲食用及分解 PE，HPPE 及 LDPE 以及鋁箔之能力，並用蠟蟲消化道於低溫環境下是否可分解，希望以後發展有效率處理塑膠之方法。
2. 本研究的特点是透過共生菌培養分析是否有共生菌存在，較文獻上的資料更進一步。最好能有共生菌或者酵素的分離，實驗會更有深度。
3. 實驗紀錄簿是另外謄過，所以稍嫌簡短。其實注重的是實地記錄實驗的經過，不需要擔心紀錄簿不乾淨，也不要重新謄過，實驗日期要好好記錄。

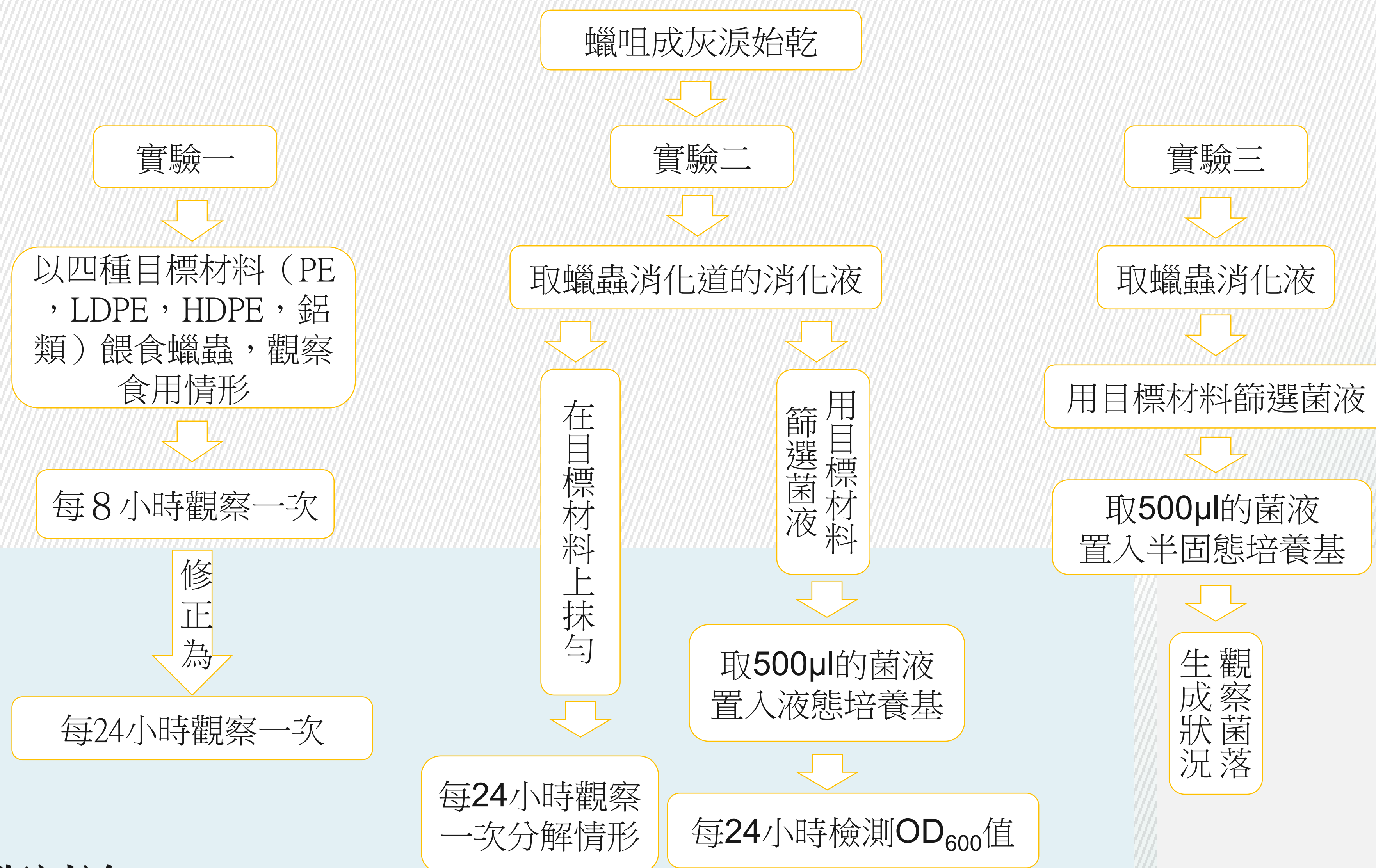
## 摘要

經由此研究，證實蠟蟲消化道內存在能有效分解聚乙烯、高低密度聚乙烯和鋁箔的酵素，且在共生菌液態培養下發現共生菌有增殖現象，最後，透過固液態混和培養出與蠟蟲分解聚乙烯現象最具相關性的菌種，在未來有足夠的資源下分離出其基因序列，再透過轉錄轉譯技術，製成大量酵素，便可以對現今處理難分解垃圾難題帶來新的解決契機。

## 研究目標

- (一)利用蠟蟲活體食用目標材料的情形比對出牠們最具食用能力的目標材料
- (二)由消化液分解目標材料實驗確認蠟蟲酵素的分解能力
- (三)利用液態培養找尋蠟蟲體內是否有可協助分解目標材料的共生菌
- (四)利用固液態混和培養共生菌菌種

## 研究方法

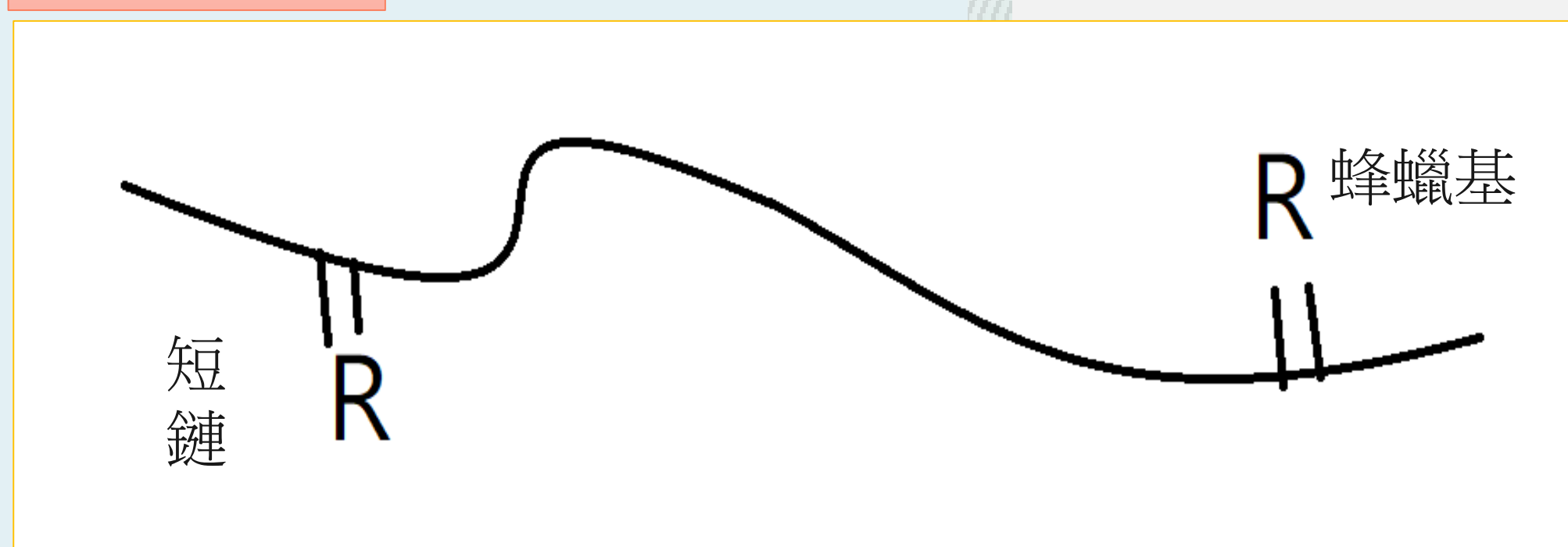


## 研究與討論

### 一、三種聚乙烯與蜂蠟的比較

	PE	LDPE	HDPE
結構式	$\left( \begin{array}{c} \text{H} & \text{H} \\   &   \\ -\text{C} & -\text{C}- \\   &   \\ \text{H} & \text{H} \end{array} \right)_n$	$\left( \begin{array}{c} \text{H} & \text{H} \\   &   \\ -\text{C} & -\text{C}- \\   &   \\ \text{H} & \text{H} \end{array} \right)_n$	$\left( \begin{array}{c} \text{H} & \text{H} \\   &   \\ -\text{C} & -\text{C}- \\   &   \\ \text{H} & \text{H} \end{array} \right)_n$
熔點	90°C-130°C	108°C-126°C	130°C
密度	0.87-0.901g/cm <sup>3</sup>	0.915-0.940g/cm <sup>3</sup>	0.941-0.960g/cm <sup>3</sup>
支鏈數	0	支鏈多又長	0
結構圖			
	短鏈		長鏈

### 蜂蠟結構



經由分子量計算

長鏈: 3500 < n < 12500; 短鏈: 350 < n < 3500

由圖表可以看出

- 低密度聚乙烯 (LDPE) 擁有較多的長支鏈
- 聚乙烯 (PE) 為短鏈無支鏈結構，近似蜂蠟結構
- 高密度聚乙烯為長鏈無支鏈結構

### 二、實驗一

(一) 8小時觀察一次 (共三次，24小時)

每8小時平均啃食面積 (cm<sup>2</sup>)

	PE	LDPE	HDPE	鋁箔
0-8HR	3.0	0.2	0.6	0.3
8-16HR	3.6	0.1	1.2	0.2
16-24HR	3.2	0.1	0.2	0.2



(二) 24小時觀察一次 (共三次，72小時)

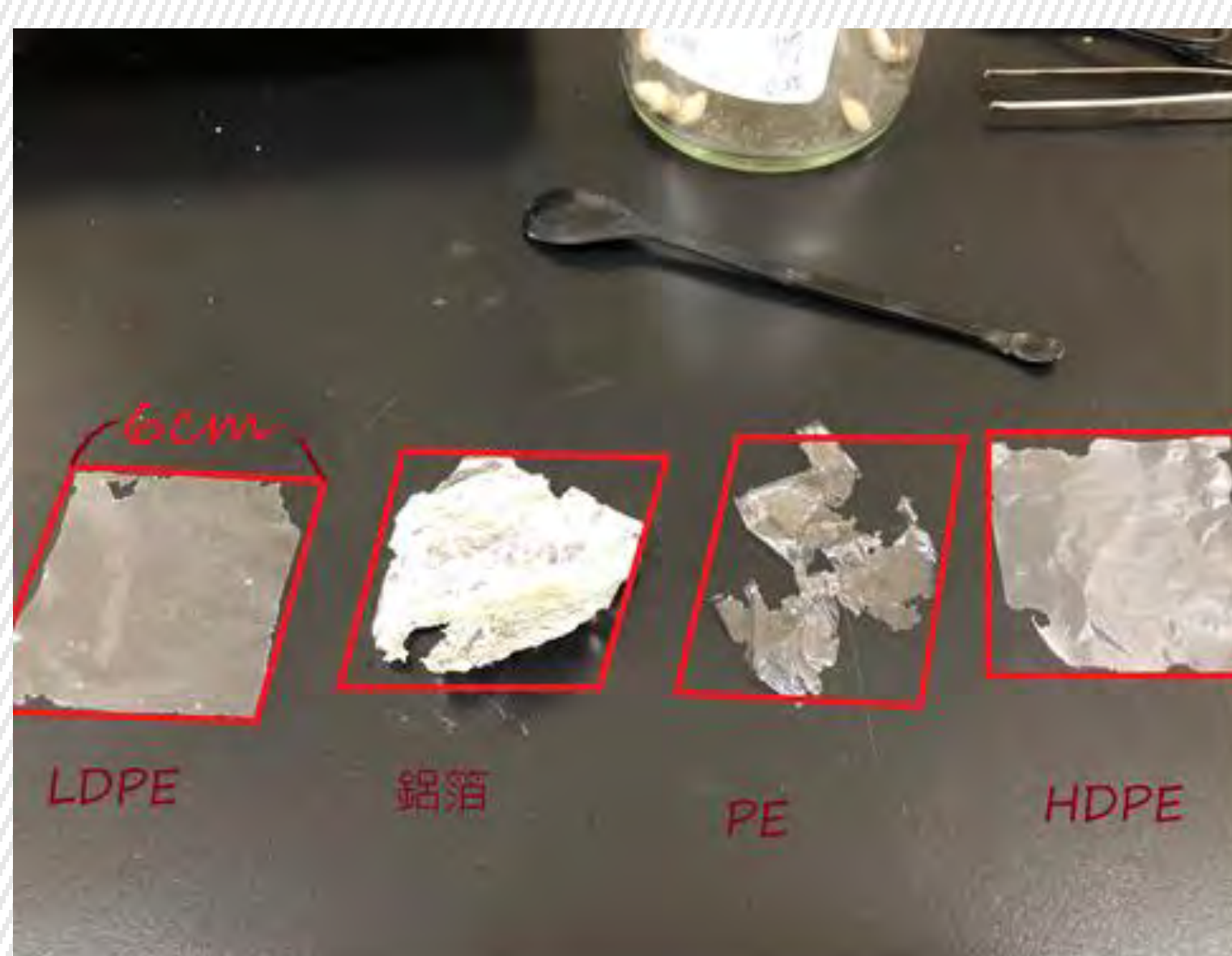
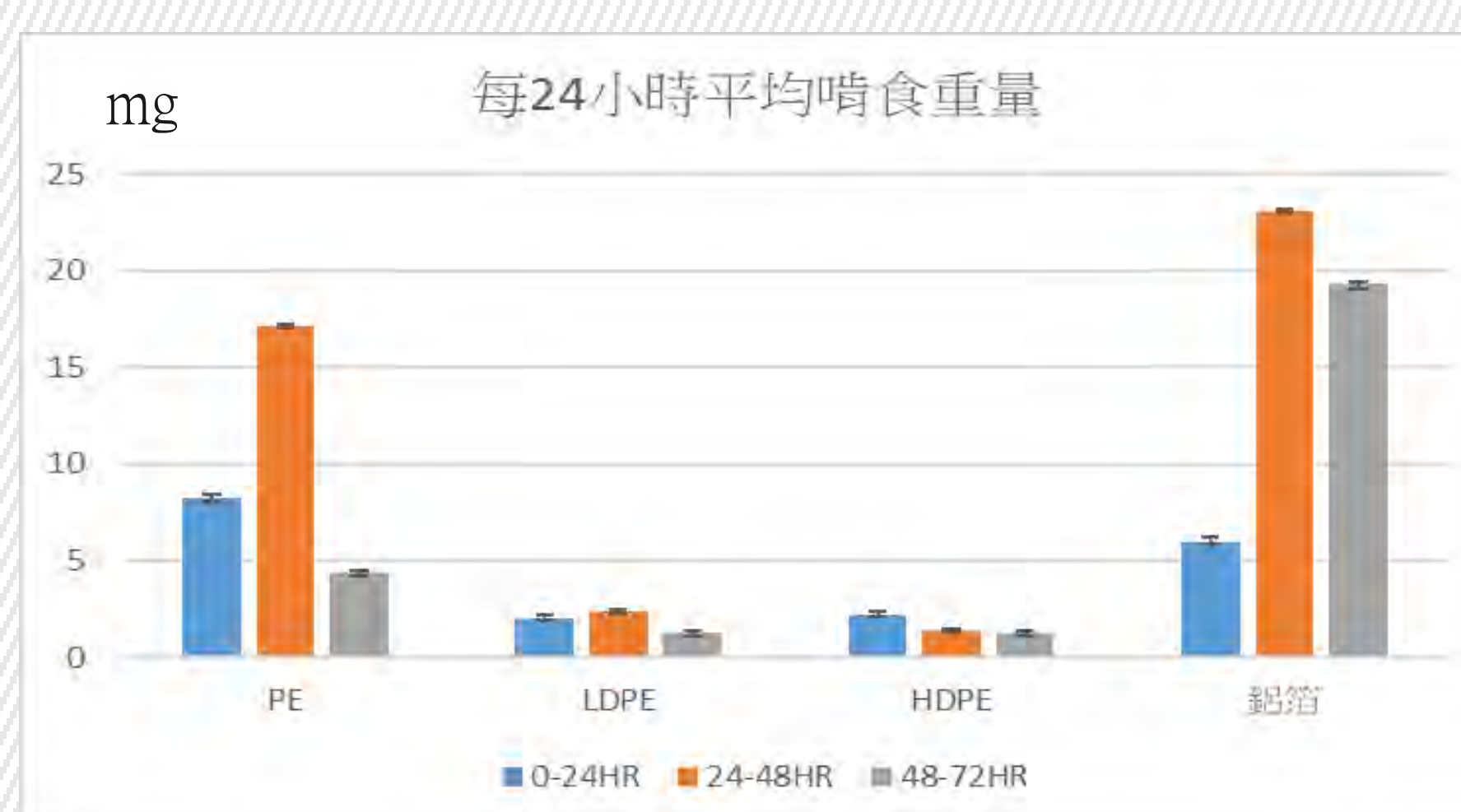
1. 每24小時平均啃食面積 (cm<sup>2</sup>)

	PE	LDPE	HDPE	鋁箔
0-24HR	5.5	0.6	1.4	1.3
24-48HR	12.3	0.5	0.2	4.9
48-72HR	2.6	0.1	0.6	4.1



2. 每24小時平均啃食重量 (mg)

	PE	LDPE	HDPE	鋁箔
0-24HR	8.2	2.0	2.8	6.0
24-48HR	17.1	2.4	1.4	23.1
48-72HR	4.4	1.3	1.3	19.3



實驗後大小比對

左圖為四種目標材質72小時後的面積啃食狀況 (紅線部分為原面積為6x6cm<sup>2</sup>的大小)



蠟蟲蛹觀察

蠟蟲蛹的絲狀結構在解剖顯微鏡下，更可以看見鋁箔細小的碎片。



蠟蟲糞便觀察

透過解剖顯微鏡觀察蠟蟲糞便中是否仍存在四種材料，以確認其是否完全消化聚乙烯與鋁箔。

三、實驗二

(一) 消化道物質分解目標材料實驗

平均消化數值 (mg)

	PE	LDPE	HDPE	鋁箔
0-24HR	6.2	1.0	3.3	3.2
24-48HR	12.4	6.1	9.2	1.0
48-72HR	6.0	4.3	6.3	8.2



(1)PE

(2)LDPE

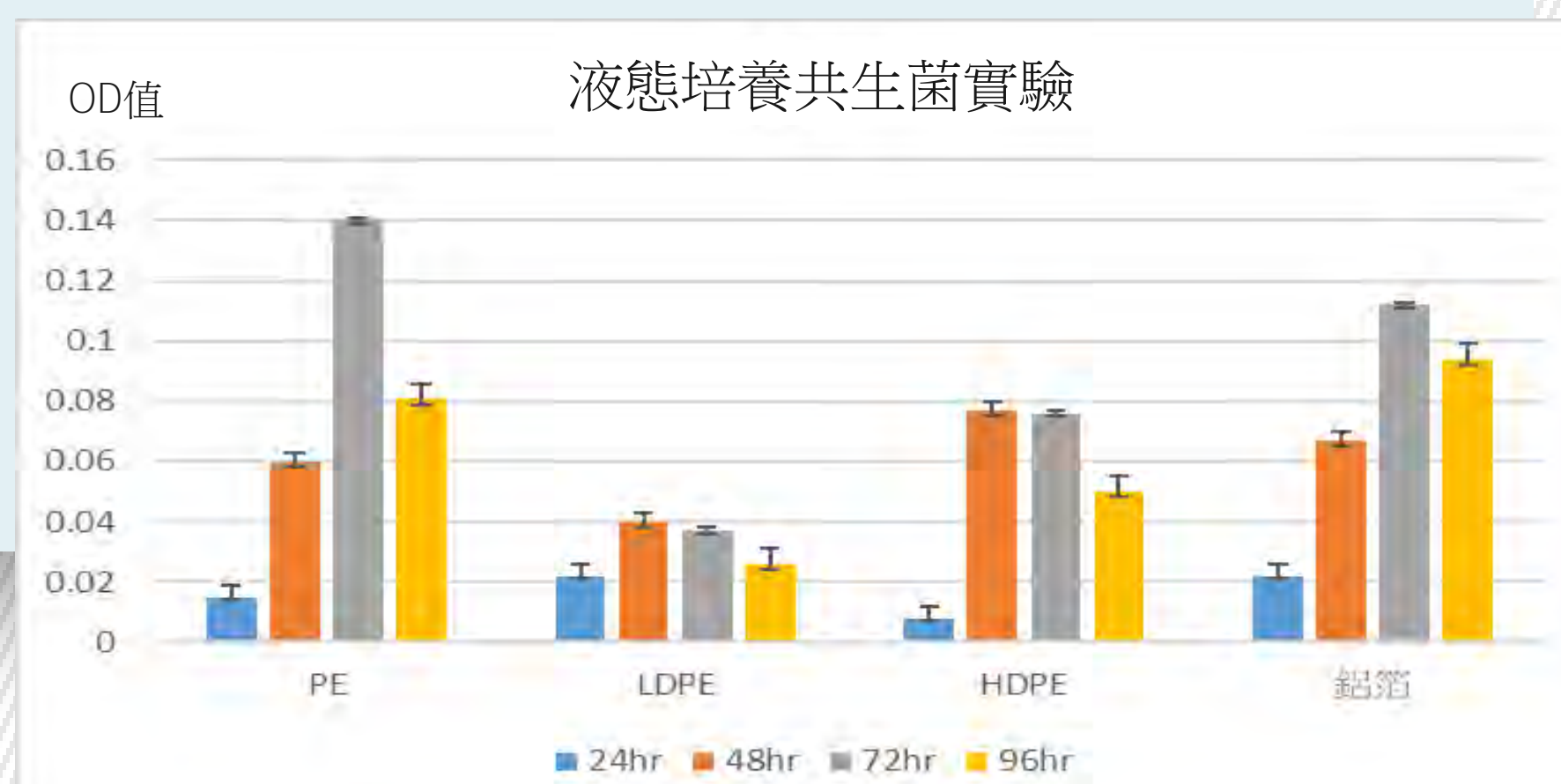
(3)HDPE

(4)鋁箔



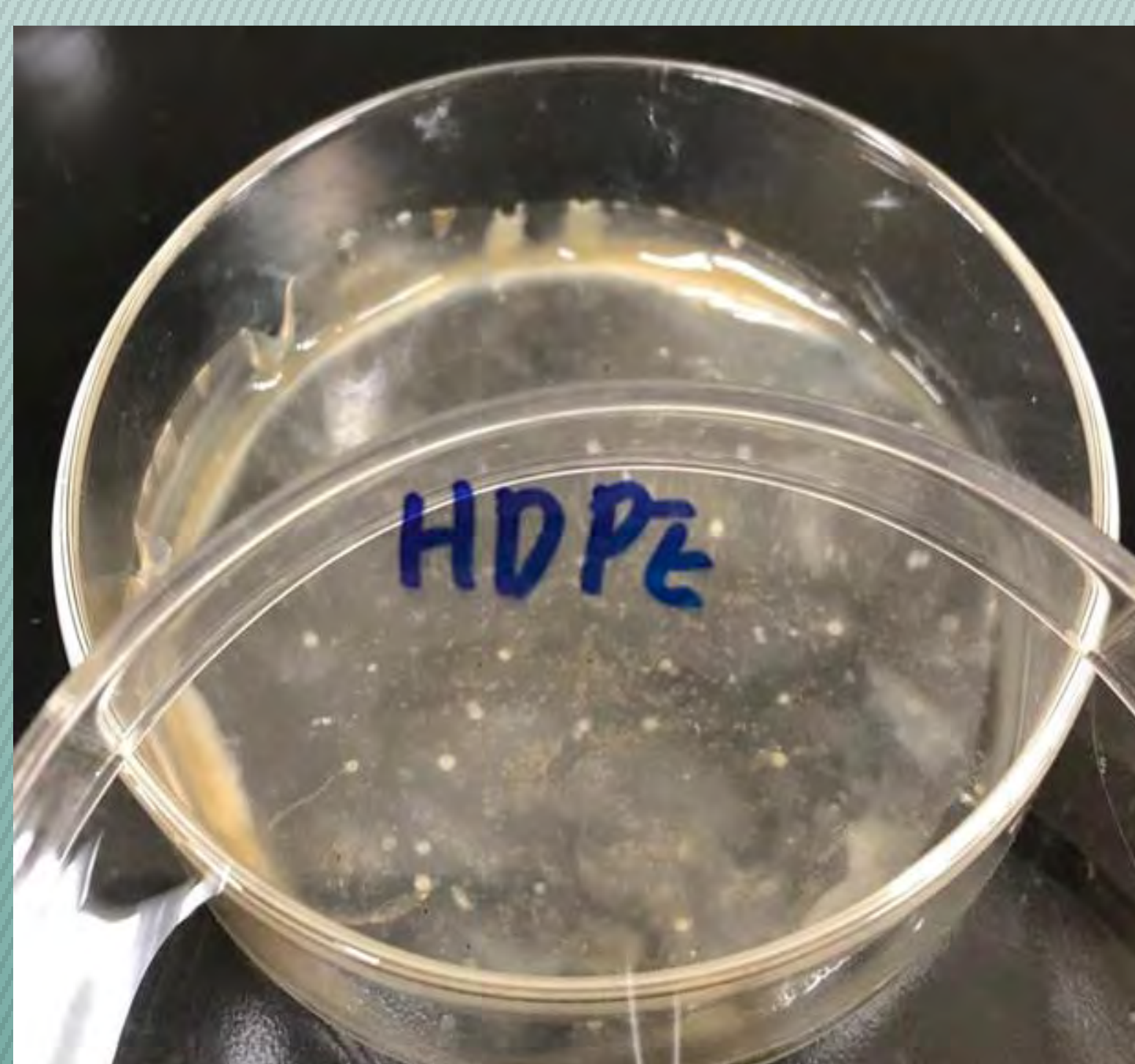
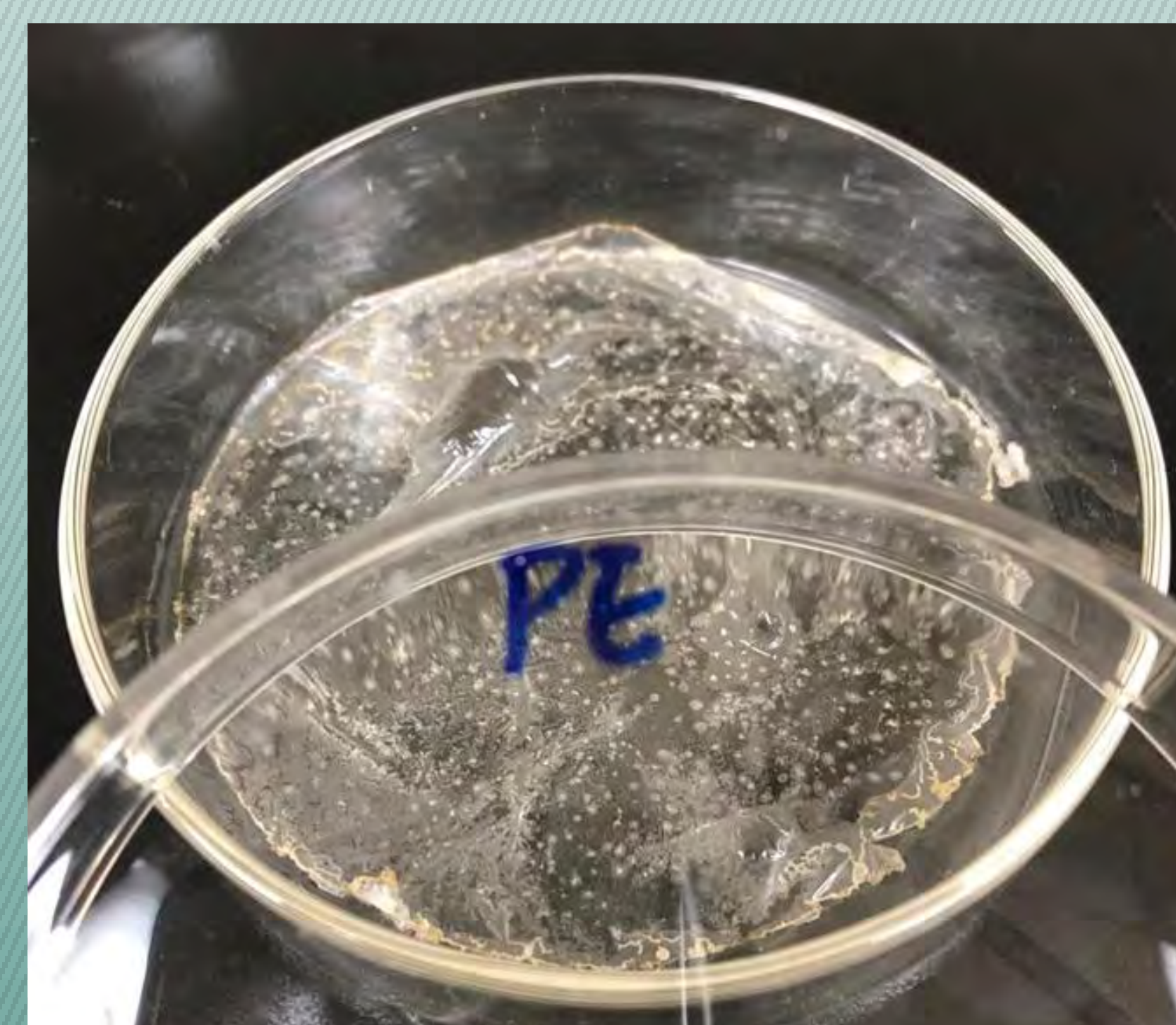
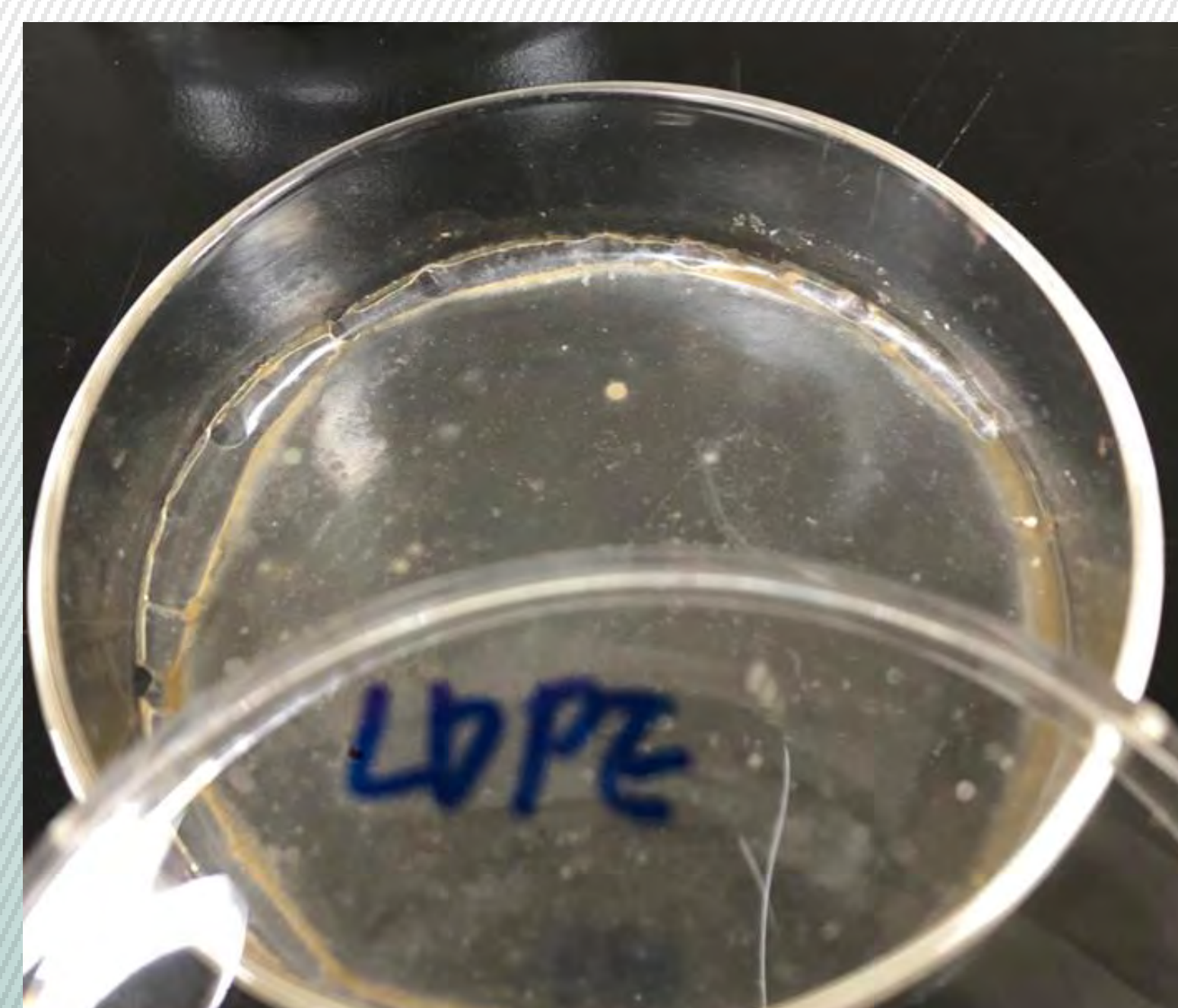
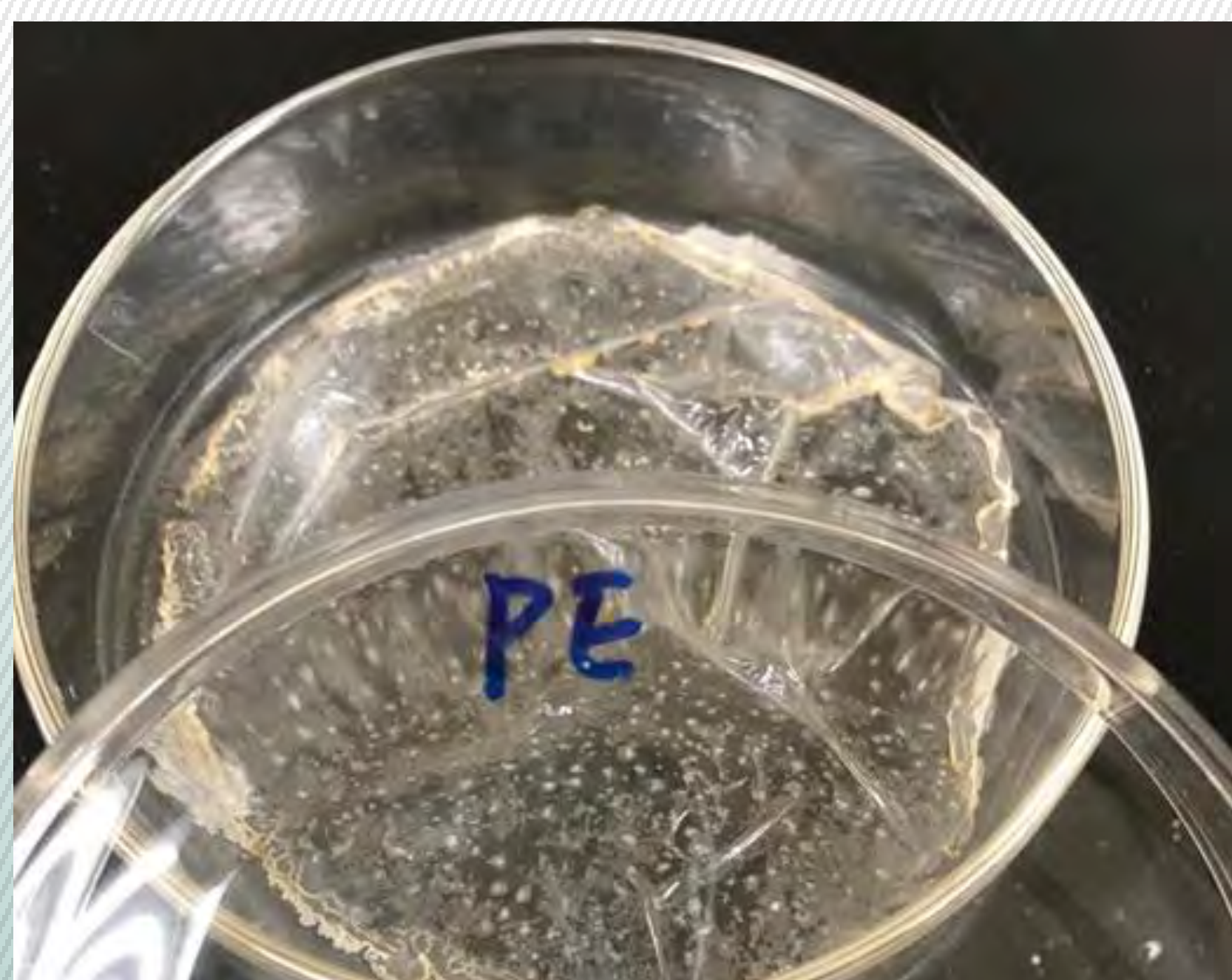
(二) 液態培養共生菌實驗

	PE	LDPE	HDPE	鋁箔
24hr	0.015	0.022	0.008	0.022
48hr	0.06	0.04	0.077	0.067
72hr	0.14	0.037	0.076	0.112
96hr	0.081	0.026	0.05	0.094



本實驗採用  $\lambda = 600\text{nm}$  來測此時的OD值，推測細菌生長狀態，而OD<sub>600</sub>值與菌量換算公式為「菌數=OD<sub>600</sub>值\*8\*10<sup>8</sup>(個/ml)」

四、實驗三: 半固液混和培養菌落實驗



為方便稱呼，我們先將這些菌分別暫時命名為W(White Bacterium in Waxworm)-PE菌、W-LDPE菌、W-HDPE菌、W-鋁箔菌

## 結論

### 一、聚乙烯 (PE)

在本次研究中，我們發現蠟蟲不僅僅只有先前科學家所觀察到其食用塑膠的情形，在他們的體內，更擁有能將PE同步有效分解的酵素，分析共生菌液態培養實驗中的數據一前 72 小時OD<sub>600</sub> 值明顯上升 (0.015~0.14)，可見蠟蟲體內具有能分解PE提供自身能量的共生菌，而 72 至96小時，推測共生菌因為離開蠟蟲體內過久，沒有與蠟蟲穩定的交互作用而逐漸死亡。值得一提的是，我們在實驗後仍繼續讓蠟蟲單純食用PE，而他們也沒有因此死亡，還順利羽化成蛾，進行下一次的生命週期，這代表蠟蟲不僅能和共生菌協同分解聚乙烯，還能利用其提供自己能量，完成生命週期，而至於其他元素的獲得值得深入探究

### 二、低密度聚乙烯 (LDPE)

在本次研究中，不論是啃食面積實驗，還是消化液分解實驗，都沒有明顯的實用與分解狀況，到最後的液態共生菌培養實驗，我們更加肯定一蠟蟲體內僅有極少數的共生菌能協助分解LDPE，而單單食用LDPE的蠟蟲在結蛹時，大部分體型偏小 (平均約短 0.2cm)，可見 LDPE 分解也難以提供蠟蟲足夠得養分。

### 三、高密度聚乙烯 (HDPE)

蠟蟲對於 HDPE 的食用量在長時間觀察下，有愈來愈趨緩的現象，透過之後的數項實驗與液態培養實驗，發現能協助蠟蟲分解HDPE的共生菌生長現象不如預期，這可以間接證明蠟蟲在先前數項實驗中對於HDPE啃食與消化較緩的現象，單純食用HDPE的蠟蟲也順利結蛹，體型與一般正常食用培養基的蠟蟲 (約 2cm) 沒有明顯差異。

### 四、鋁箔

本次實驗最大的收穫正是蠟蟲對於鋁箔的食用與消化現象，蠟蟲的啃食量十分顯著，而且在液態培養實驗中，我們也發現在蠟蟲體內有能協助分解鋁箔的共生菌，不僅如此，蠟蟲也在實驗後繼續單純食用鋁箔，並且順利結蛹，羽化成蛾，而這現象也值得我們未來繼續研究。

### 五、體內共生菌

透過液態培養實驗，我們發現在蠟蟲體內某些共生菌能順利分解目標材料，並透過分解獲得養分提供自體新陳代謝的能量與蠟蟲的養分;為了找出菌種種類，我們之後於實驗三進行了半固液混和培養菌落實驗，蠟蟲體內的共生菌於 27°C 的穩定環境(細菌培養箱)三周後形成許多W菌落，而W菌對於聚乙烯表面也相當顯著，肉眼可視，透過這項發現，我們可以針對這些共生菌進行大量培養，深入研究其與分解目標材料的關係。

補充：我們蠟蟲皆由卵開始培養，所以更能確定他們僅靠食用目標材料獲得新陳代謝的能量來源。

## 未來展望

透過數項實驗，我們確立蠟蟲消化道內具有能分解三種聚乙烯和鋁箔的酵素，並透過共生菌培養實驗發現與分解現象最具相關性的菌種(W菌)，倘若未來在有充足資源下進行研究，我們可以確立共生菌和酵素對蠟蟲分解聚乙烯的交互關係，並移植這段分泌酵素的基因移至海洋細菌內，已利未來海洋難分解垃圾的清理!

## 參考資料

- 1.<National Geographic>2017年5月號雜誌
- 2.基礎化學2:有機化合物
- 3.台灣蛾類百科:螟蛾篇
- 4.科學人2017年第187期09月號
- 5.醫用微生物學，第六版:滅菌與OD值