

2023 年臺灣國際科學展覽會 優勝作品專輯

作品編號 200008

參展科別 環境工程

作品名稱 探討石油與細菌的故事—加「塑」分解

得獎獎項

就讀學校 臺北市立第一女子高級中學

指導教師 高志明、姚月雲

作者姓名 官子安

關鍵詞 生物可降解塑膠 PLA、嗜油菌、生物分解

作者簡介



我是北一女中官子安。因為常看到塑膠垃圾充斥在海洋及其他自然環境，且許多生物因此受害，所以我想找出能解決塑膠污染的方法，經過一連串的實驗後很榮幸能參加台灣國際科展。希望我和我的研究能對環境有點貢獻，為還給大自然乾淨的環境盡一份心。

摘要

本研究想透過能分解石油的嗜油菌加速同為碳氫構成的塑膠分解。本實驗採用參雜一般塑膠的生物可分解塑膠片。從含有油污的土中經過DNA分離與純化後透過NCBI比對出主要菌種為*Pseudomonas citronellolis*和*Achromobacter*。菌種與經實驗室紫外光照射24小時的塑膠片反應時重量下降幅度最大，經約含7%紫外線的太陽光照射3天的塑膠片次之，無前處理的塑膠片最小。本實驗透過三種堆肥方式研究塑膠片分解的情形，在加入菌種和碳基生物復育劑的土中反應的塑膠片重量下降幅度最大，加入碳基生物復育劑的土中的塑膠片次之，加入自來水的最小。從塑膠片殘留重量比與實驗天數畫出的折線圖中可看出若維持經實驗室紫外燈照射24小時且在加入菌種和碳基生物復育劑的土內反應的塑膠片重量下降趨勢便能在883天後完全分解。此外，在探討不同酸鹼值的實驗中，可知pH10的分解最快，而含沙量實驗中則可得知含沙量0%對分解對有利。未來預計長期研究嗜油菌與一般塑膠的分解及不同有機質對塑膠分解的影響，期望解決塑膠過量的問題，使環境不受影響。

Abstract

The research aims to learn the biodegradable mechanism by adding oleophilic bacteria which can digest petroleum, to accelerate the dissolution of plastic molecules which also composes of carbon and hydrogen. After separating and purifying extracted DNA and comparing it with NCBI, it is clear that the main microorganic strains are *Pseudomonas citronellolis* and *Achromobacter*. Plastic sheets reacted through selected strains under 24-hour exposure to UV light in the laboratory for 24 hours yielded to the largest decrease in weight, the sheet exposed to sunlight for three days come in second and the one without preprocessing have the smallest decrease. The experiment researched the decomposition mechanism of plastic sheets in three different soil conditions, the plastic sheet placed in the soils with designated bacteria and carbon-base bio-reagent has the largest decrease in weight, the sheet placed in the soils with only carbon-base bio-reagent comes in second, and the one placed in the dirt with tap water has the smallest decrease. Judging from the line graph of the interrelation of the remained weight of the plastic sheet and reaction days, it can be judged by the decomposition trend that the plastic will completely dissolve in 883 days after 24-hour UV in the laboratory before placing into soils with designated oleophilic bacteria and carbon-base bio-reagent. Besides, the experiment that discusses the impact of different pH values indicates that the amount of time needed for plastic to dissolve completely is the shortest when the environment is pH10. On the other hand, the silt content experiment shows that when the silt consent is 0%, it is most beneficial to the dissolution of plastic. It is planned to replace traditional plastic materials for future long-term research to resolve the excess quantity of plastic waste without impacting the natural environment.

壹、前言

一、研究動機

每年有多達 1,200 萬噸的塑膠進入海洋，這相當於每分鐘就有一卡車的塑膠量，由此可見塑膠垃圾是很嚴重且亟需解決的問題。塑膠由石化原料製成，被 5k 分解所需的時間也很長，人類製造出塑膠垃圾的速度遠大於塑膠被分解的速度，因此我想找出快速分解塑膠的方法。

近年各界都在尋找傳統塑膠的替代品，其中最普遍的就是「生物可分解塑膠」、「生物基質塑膠」等。這種塑膠是由動植物等生物材料(例如糖類、澱粉和植物油等)製成，因此大眾認為分解所需的時間較短，對環境的負擔較輕。不過使用生物可分解塑膠有一些缺點，最令店家困擾的就是它不如傳統塑膠堅固耐用，所以他們真正使用的塑膠容器或袋子幾乎都不是純生物可分解塑膠製成，中間仍有一定比例的一般塑膠。因此，我想從這種塑膠製品著手(本研究使用「**生物可降解塑膠 PLA**」**冷飲杯**)，研究用在土壤整治的嗜油菌藥劑產品，是否也能分解一般由石化原料製成的塑膠。

本研究所使用的嗜油菌生物藥劑產品，可以分解受石油污染的土壤或地下水中的污染物。本研究試圖透過不同的前處理與堆肥組合研究哪些方法能加速塑膠的分解，並進而發展出一套系統化且能大幅度減少塑膠分解的時間的處理流程。

國內研究中於 2021 年 3 月發表「生物可分解性塑膠聚乳酸的降解條件研究，提及降解最好有紫外線照射的前處理，破壞 PLA 的表面，以利後續的發酵作用。照射 UVC 12 小時以上，UVB24 小時以上，可以加速後續的堆肥分解，本研究參考此概念。

二、研究目的

- (一)利用受污染土壤中的嗜油菌試驗加速分解塑膠的可行性
- (二)進行嗜油菌液分解生物可分解塑膠的能力探討
- (三)利用嗜油菌添加入土壤，加強土壤中塑膠分解速度
- (四)提出對「**生物可降解塑膠 PLA**」材質產品的看法

貳、研究方法與過程

一、研究藥品與器材

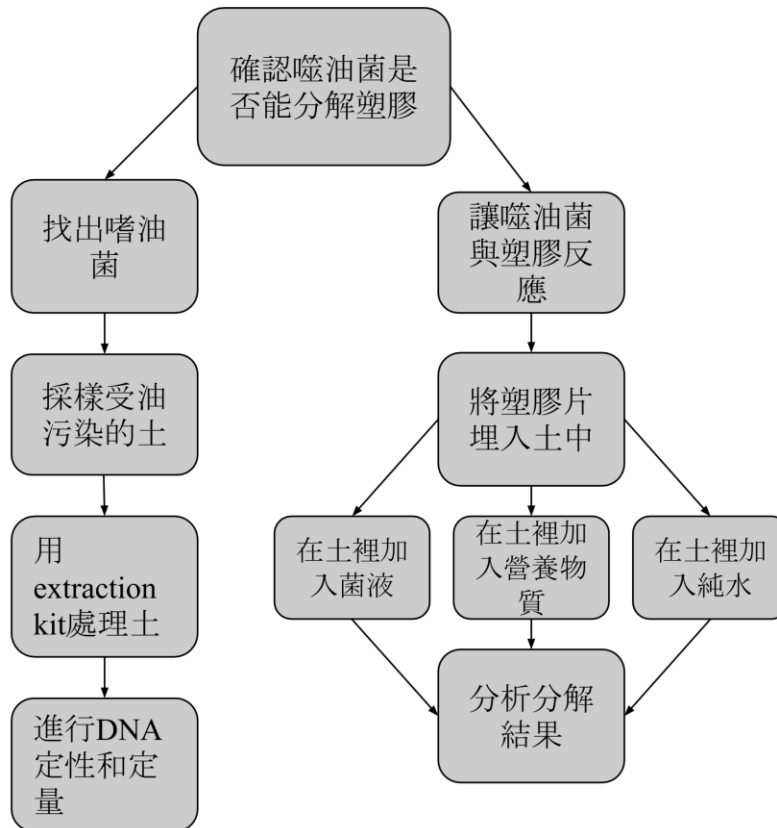
1. 藥品

- (1)glucose
- (2)Tris-HCL (pH 8.0)
- (3)Lysozyme
- (4)NaOH
- (5)SDS
- (6)NaOAc (pH 4.8)
- (7)Ethanol
- (8)Elution buffer

2. 器材

- (1)Micro-Volume Spectrophotometer
- (2)離心機
- (3)分度吸量管 20ml
- (4)磁石攪拌器
- (5)精密天平
- (6)恆溫恆濕振盪培養箱、
- (7)塑膠片
- (8)紫外燈操作台

二、研究流程



三、研究方法

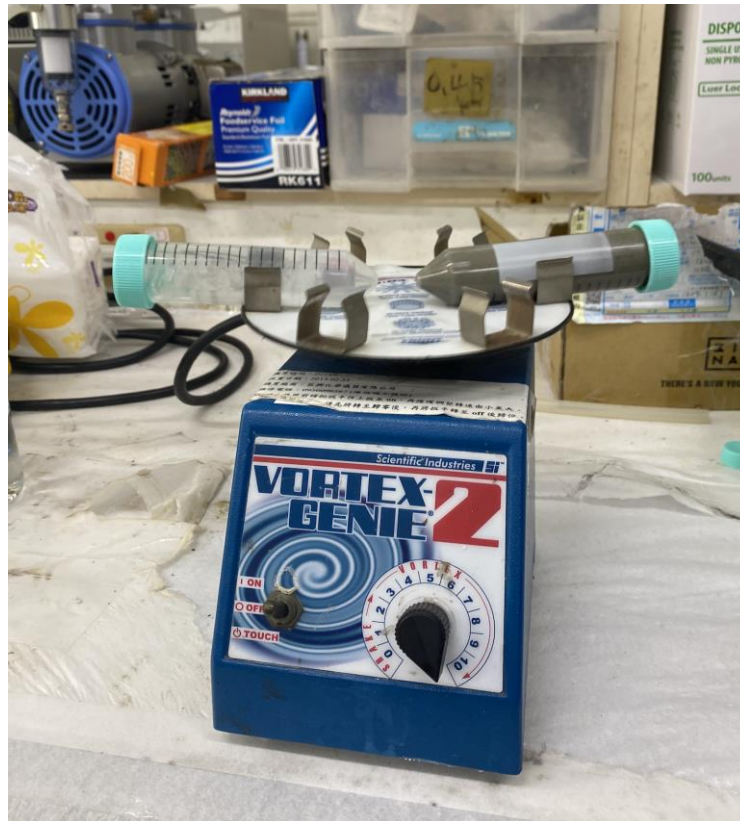
嗜油菌株共分三個階段，依序為菌群馴化、單一菌落培養，菌種鑑定等。嗜油菌群馴化過程使用限制性培養基 (M9 minimal salt buffer, M9 buffer)混合 1%自行配置之油品污染土壤(污染物為柴油與燃料油 1:1 混合，總濃度 10000 mg/kg)及 1%台灣中油公司桃園煉油廠污水處理廠之活性污泥進行培養，每 7 天繼代一次共三次，將第三次繼代之培養液採四區畫線法轉塗至以 M9 buffer 混合 1%柴油之固態培養基上培養 7 天，共挑選 20 顆菌落於 LB 培養基中單獨培養，後續使用 PCR 擴增菌種之 16rRNA 藉膠體電泳分離目標片段進行純化，於定序前採 TA Cloning 構築植體後轉殖至 E. Coli 委生物科技公司進行核酸定序，將定序結果透過 NCBI 資料庫(National Center for Biotechnology Information)進行菌種核酸序列比對，以序列相似度 97%為基準，相似度最高菌種認定之，簡述本研究執行步驟如下：

(零) 前置作業：採樣前往高雄楠梓區煉油廠採取受油污染的土壤

(一) 樣品前處理

1. 步驟

- (1) 將樣品以 0.22 μm 的濾膜過濾後加入 1 ml 無菌水，再將沈積物刮下後將全部容易放入離心管
- (2) 以 8000 $\times g$ 離心五分鐘，移除清液後將沈積物放置於 -20°C 之冰箱保存



【圖一】水樣離心裝置圖

(二) DNA 分離與純化

1. 原理

本實驗所用的方法是修改自 Marmur (1961) 所提出之方法，包括下列步驟：

- (1) 破壞細菌細胞壁：以含有 lysozyme、EDTA 及 RNase 的溶液處理菌體。lysozyme 可水解細菌細胞壁，使得菌體無法承受滲透壓變化而破裂；EDTA 可抑制 DNases 的活性，防止 DNA 受到 DNases 水解 DNA 的作用；RNase 則可水解細胞中的 RNA。接著再加入 SDS 將細胞膜徹底破壞，並使 DNases 及其它蛋白質發生變性。

- (2) 去除蛋白質：加入高濃度的鹽，使結合於 DNA 上的蛋白質完全脫離 DNA，再依序以酚/氯仿/異戊醇 (phenol/chloroform/isoamyl alcohol) 及氯仿/異戊醇各萃取一次，離心後，溶液可被分離成有機溶液層及含有 DNA 之水溶液層，中間界面則聚集了被酚及氯仿變性的蛋白質。
- (3) 最後分離沈澱 DNA：去除蛋白質後之 DNA 溶液，加入酒精使 DNA 沈澱，離心後收集沈澱物，即純化之 DNA。上述實驗為在實驗室研究生安全指導下執行。

2. 步驟

- (1) 混合 Solution 1 與離心出的沈積物，使微生物細胞裂解
- (2) 使用 Solution 2 緩衝液沈澱不容顆粒、蛋白質及干擾物
- (3) 使用 Solution 3 配合 GD Column 使 DNA 吸附於膜上使用乙醇洗滌
- (4) 使用 Elution 緩衝溶液將膜上吸附的 DNA 回溶於液相



【圖二】左：在離新出的沈積物中加入 Solution1 中：使用離心機以均勻混合 右：使用乙醇洗滌

(三) DNA 定性與定量

1. 瓊脂凝膠電泳 (agarose gel electrophoresis)

- (1) 目的為測試樣本之 DNA 降解情形及是否有潛在污染

2. 使用 Micro-Volume Spectrophotometer 分析液相的 DNA



【圖三】進行 DNA 定量及定性分析

(四) 進行嗜油菌液分解生物可分解塑膠的能力探討

1. 將星巴克杯子剪成 2 cm*2 cm 的塑膠片並將其埋入土裡，並將這個步驟重複八次
2. 分成三組進行實驗追蹤，每組各有三個盆栽。
 - (1) 第一組為實驗組:土裡加入菌液(碳基生物復育劑 20ml 倒入空瓶，加純水 到 200 ml;然後加入高濃度菌液 10 ml)
 - (2) 第二組:在土裡倒入純水的第二組
 - (3) 第三組:加入碳基生物復育劑
3. 每兩天加入純水保持土壤濕潤，嗜油菌必須在濕度 50%以上(含) 的環境
4. 進行觀察 20 週
5. 20 週進行秤重，數據分析



PLA 塑膠杯分解實驗圖



PLA 塑膠杯(2cm X 2cm /片)



PLA 塑膠片埋入土壤

(五) 嗜油菌在不同分解環境的影響 (在不同酸鹼值與低有機質砂土)

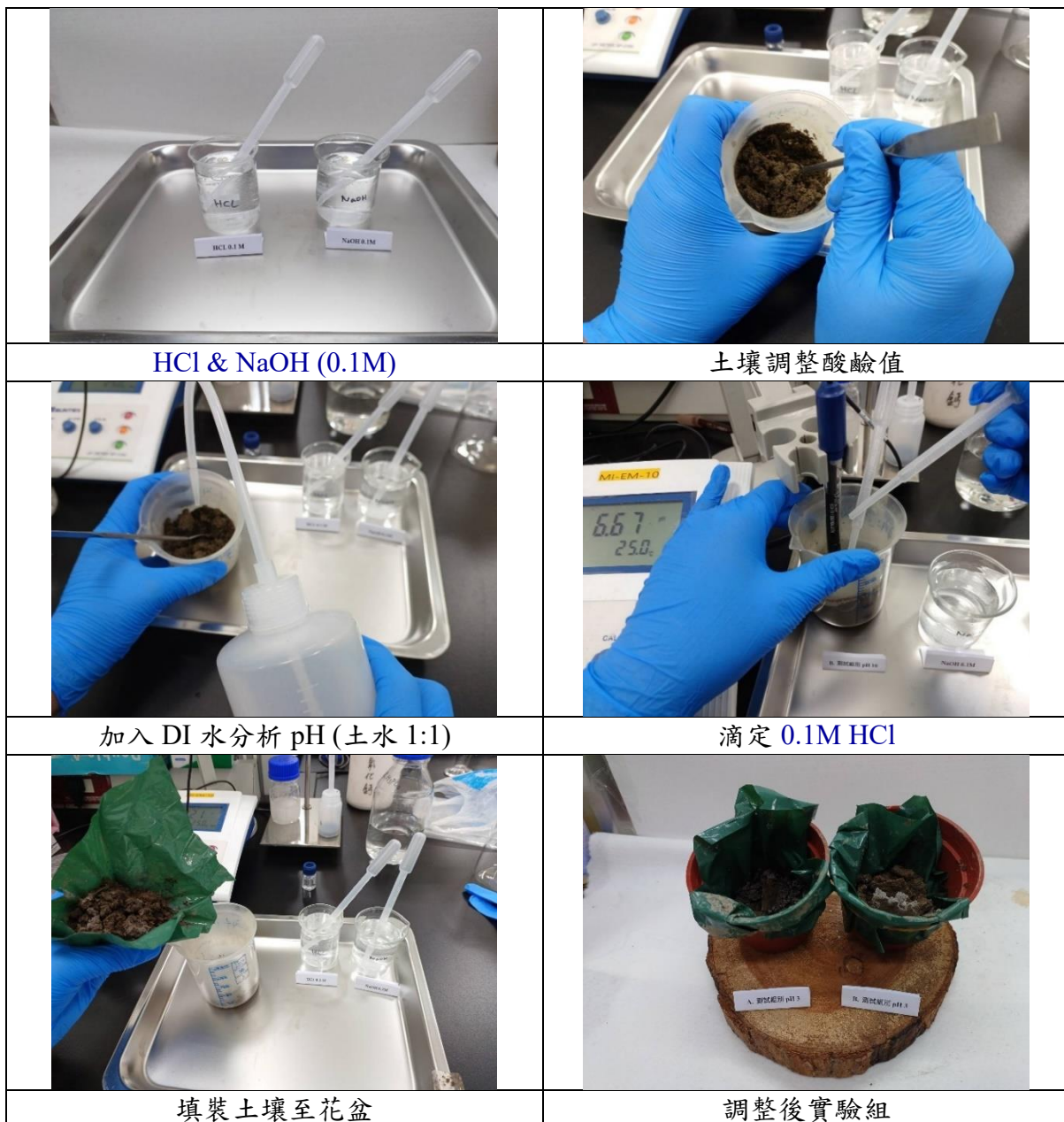
1. 將星巴克杯子剪成 2 cm*2 cm 的塑膠片並將其埋入土裡，並將這個步驟重複六次
2. 分成兩組進行實驗追蹤，每組各有三個盆栽

(1) 第一組:土裡加入菌液(碳基生物復育劑 20 mL 倒入空瓶，加純水到 200 mL；然後加入高濃度菌液 10 ml)

(a) 土壤添加 0.1 M HCl ，調整至 pH3

(b) 土壤添加 0.1 M HCl ，調整至 pH5

(c) 土壤添加 0.1 M NaOH ，調整至 pH10

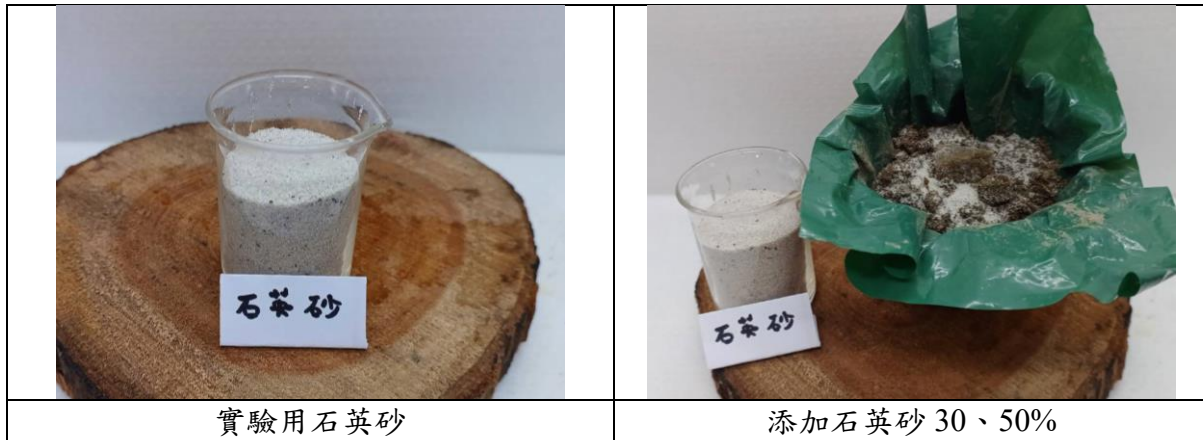


(2) 第二組: 土裡加入菌液(碳基生物復育劑 20 mL 倒入空瓶, 加純水到 200 mL; 然後加入高濃度菌液 10 ml)

(a) 土壤添加 0 % 石英砂

(b) 土壤添加 30 % 石英砂

(c) 土壤添加 50 % 石英砂



參、研究結果與討論

一、 進行嗜油菌液分解生物可分解塑膠的能力探討

(一) 嗜油菌液中的微生物

將分離定序結果如下：

1.rDNA 定序

```
GCTCAGATTGAACGCTGGCGGCAGGCCTAACACATGCAAGTCGAGCGGATGAAGG
GGGCTTGCTCCCTGATTTAGCGGGCGGACGGGTGAGTAATGCCTAGGAATCTGCCTG
GTAGTGGGGGATAACGTTCCGAAAGGAACGCTAATACCGCATACGTCCTACGGGA
GAAAGCAGGGGACCTTCGGGCCTTGCGCTATCAGATGAGCCTAGGTTCGGATTAGCT
AGTTGGTGAGGTAATGGCTCACCAAGGCGACGATCCGTAACCTGGTCTGAGAGGATG
ATCAGTCACACTGGAACCTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGG
GGAATATTGGACAATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAA
GGTCTTCGGATTGTAAAGCACTTTAAGTTGGGAGGAAGGGCATTAACTAATACGT
TAGTGTTTTGACGTTACCAACAGAATAAGCACCGGCTAACTTCGTGCCAGCAGCCG
CGGTAATACGAAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCGCGT
AGGTGGTTCGTAAAGTTGGATGTGAAAGCCCCGGGCTCAACCTGGGAACTGCATCC
AAAACCTGGCGAGCTAGAGTACGGTAGAGGGTGGTGGAAATTCCTGTGTAGCGGTG
AAATGCGTAGATATAGGAAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACCACCTGGACTGAT
ACTGACACTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG
TCCACGCCGTAAACGATGTCAACTAGCCGTTGGAATCCTTGAGATTTTAGTGGCGC
AGCTAACGCATTAAGTTGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACCTCAA
ATGAATTGACGGGGGCCCCGCAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGAAGCAA
CGCGAAGAACCCTTACCTGGCCTTGACATGCTGAGAACTTCCAGAGATGGATTGGT
GCCTTCGGGAACTCAGACACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCTGAG
ATGTTGGGTAAAGTCCCGTAACGAGCGCAACCCTTGTCCTTAGTTACCAGCACCTCG
GGTGGGCACTCTAAGGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACG
TCAAGTCATCATGGCCCTTACGGCCAGGGCTACACACGTGCTACAATGGTCGGTAC
AAAGGGTTGCCAAGCCGCGAGGTGGAGCTAATCCATAAAACCGATCGTAGTCCG
GATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTGAATCA
GAATGTCACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGG
GAGTGGGTTGCTCCAGAAGTAGCTAGTCTAACCTTCGGGGGGACGGTTACCACGGA
GTGATTCATGACTGGGGTGAAGTCGTA
```

經 NCBI 比對結果：有十筆，經比對後與 *Pseudomonas citronellolis*，相似度為 99.25%。

2. rDNA 定序

CGCTAGCGGGATGCTTTACACATGCAAGTTCGAACGGCAGCACGGACTTCGGTCTGG
TGGCGAGTGGCGAACGGGTGAGTAATGTATCGGAACGTGCCAGTAGCGGGGGAT
AACTACGCGAAAGCGTAGCTAATACCGCATAACGCCCTACGGGGGAAAGCAGGGGA
TCTTCGGACCTTGCCTATTGGAGCGGCCGATATCGGATTAGCTAGTTGGTGGGGT
AACGGCCTACCAAGGCGACGATCCGTAGCTGGTTTGAGAGGACGACCAGCCACAC
TGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAAATTTTGA
CAATGGGGGAAACCCTGATCCAGCCATCCCGCGTGTGCGATGAAGGCCTTCGGGTT
GTAAAGCACTTTTGGCAGGAAAGAAACGTCGCGGGCTAATACCTCGCGAAACTGA
CGGTACCTGCAGAATAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGT
AGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGTGCAGGCGGTTTCGG
AAAGAAAGATGTGAAATCCCAGAGCTTAACTTTGGAAGTGCATTTTTAACTACCGG
GCTAGAGTGTGTCAGAGGGAGGTGGAATTCGCGTGTAGCAGTGAAATGCGTAGA
TATGCGGAGGAACACCGATGGCGAAGGCAGCCTCCTGGGATAACACTGACGCTCA
TGCACGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCCTA
AACGATGTCAACTAGCTGTTGGGGTCTTCGGACCTTGGTAGCGCAGCTAACGCGTG
AAGTTGACCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGATTA AAAACTCAAAGGAATTGACGG
GGACCCGCACAAGCGGTGGATGATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAAAACCTT
ACCTACCCTTGACATGTCTGGAATGCCGAAGAGATTTGGCAGTGCTCGCAAGAGAA
CCGGAACACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTTA
AGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCATTAGTTGCTACGAAAGGGCACTCTAATG
AGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCCTCATGGCC
CTTATGGGTAGGGCTTCACACGTCATACAATGGTCGGGACAGAGGGTCGCCAACCC
GCGAGGGGGAGCTAATCCCAGAAACCCGATCGTAGTCCGGATCGCAGTCTGCAACT
CGACTGCGTGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGTGCGGGTGAATA
CGTTCCCGGGTCTTGTACACACCGCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTTTACCAGA
AGTAGTTAGCTAACCGCAAGGAGGGCGATTACCACGGTAGGATTCATGACTGGG
GTGAAGTCGTA

經 NCBI 比對結果：有十筆，經比對後與 *Achromobacter* 無色桿菌屬

本研究使用的嗜油菌液，含有兩株環境微生物 *Pseudomonas citronellolis* 與 *Achromobacter*，文獻指出兩株菌株皆具有石油碳氫化合物降解潛力，本研究使用上述兩株菌液進行「**生物可降解塑膠 PLA**」冷飲杯生物分解實驗。

菌株鑑定結果 1. 為 *Pseudomonas citronellolis*，相似度為 99.25%，假單孢菌屬 (*Pseudomonas*) 是革蘭氏陰性、兼性厭氧，廣泛存在於水體及土壤中，具有極其豐富的代謝多樣性。*Pseudomonas sp.* 常出現於油品污染場址，其對於脂肪族 (*aliphatic*)、單環芳香族 (*monoaromatics*)、多環芳香族 (*polyaromatics*) 及樹脂類 (*resins*) 皆具有降解能力 (Varjani,

2017a), 該屬適合生長於石油污染場址, 因其具有降解烷烴所需之酵素, 如烷烴單加氧酶 (*alkane monooxygenase*) 可針對正構烷烴、兒茶酚 1,2-雙加氧酶 (*Catechol 1,2-dioxygenase*) 及兒茶酚 2,3-雙加氧酶 (*Catechol 2,3-dioxygenase*) 可針對菲 (*phenanthrene*)、蒽 (*anthracene*) 等多環芳香烴具降解能力 (Chettri et al., 2016)。 *Pseudomonas aeruginosa* 除了具有油品降解能力外還能產出醣脂類的生物界面活性劑 (biosurfactant) — 鼠李醣脂 (Rhamnolipids), 細菌生產生物界面活性劑被認為是一種重要的機制, 透過生物界面活性劑以改變微生物細胞的表面特性或利用其來溶解和乳化非親水性碳氫化合物來增加疏水性化學物質的生物利用度, 以增溶吸附於土壤孔隙中之污染物 (Xia et al., 2014)。

菌株鑑定結果 2. 為 *Achromobacter* 無色桿菌屬, 台灣高雄長期風化高碳數污染油品污染土壤, 以 C30 (Triacontane) 單一碳源培養基篩選與 *Achromobacter pulmonis strain NPU* 相似度 99.93%, 生物安全性等級: 1-2, 好氧菌 最適生長溫度 28-37°C, 可能功能性包含: 1. 生物界面活性劑生產 (Deng et al., 2020); 2. 碳氫化合物分解 (Méndez et al., 2018); 3. PAHs 分解 (Hou et al., 2018; Zhang et al., 2021); 4. 低密度聚乙烯分解 (Rad et al., 2022); 5. TNT 分解 (Kao et al., 2016), 上述功能來自於此菌株曾經研究的文獻資料。

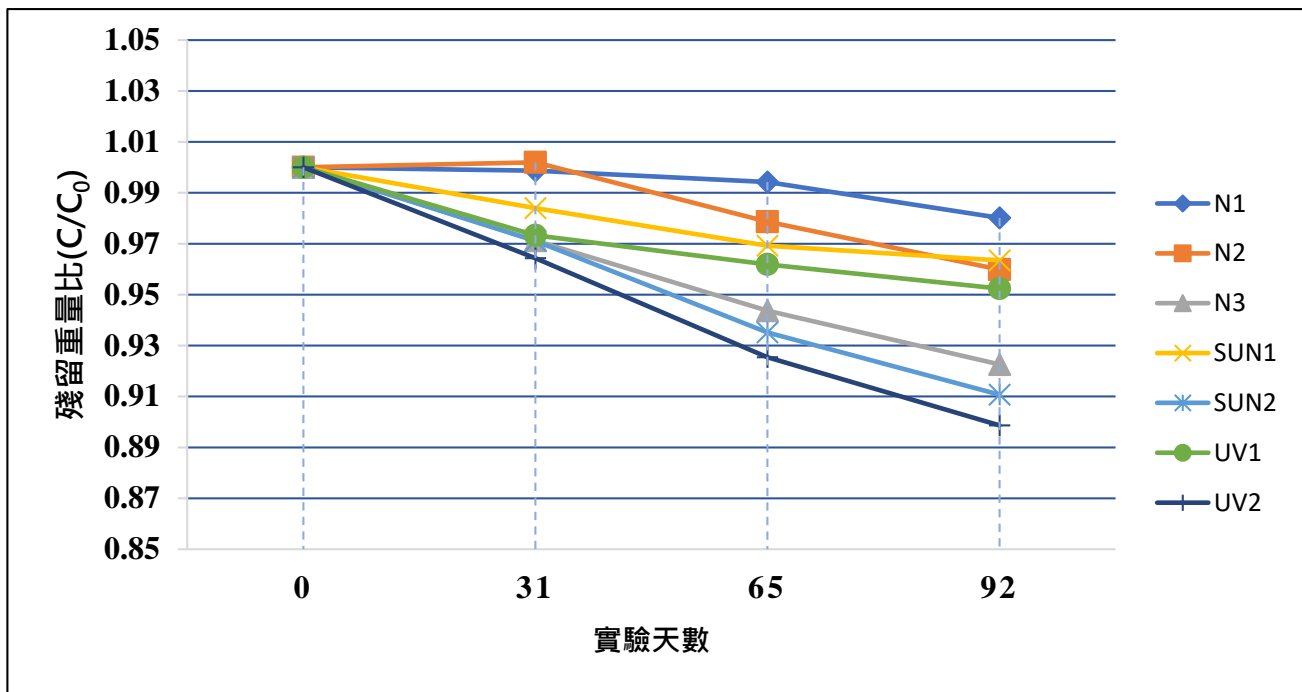
(二) 嗜油菌是否能分解塑膠及其最適分解環境

使用太陽光(自然光)與常見的 UVC 人工光源(實驗室無菌操作台-波長 240~280 nm)。設計了三組實驗組別，分別為 1.無前處理，直接埋入土壤中；2.室外陽光照射 3 天，再埋入土壤中；3. 實驗室紫外光照射 24 小時(UVC)，再埋入土壤中。每一組又分為 2~3 種環境，第一種環境為園藝培養土壤+自來水；第二種為園藝培養土壤+營養液(碳:氮比為 1:20，目的希望微生物利用塑膠作為碳源)，前處理組無此組別；第三種為園藝培養土壤+嗜油菌液營養液，上述實驗規劃共有 7 組實驗組(小花盆)。

由【表一】及【圖四】可以推測，有加嗜油菌的實驗組斜率大於對照組，故可知嗜油菌可以加速塑膠的分解，92 天實驗，添加菌液與自來水組重量比差異為 5.76%，而在前處理實驗發現，UVC 紫外光確實能加速分解 PLA 塑膠製品，92 天實驗加菌組分解率達 10.13%重量比，明顯高於無前處理的加菌實驗組別(分解 7.74%重量比)

【表一】不同前處理的的塑膠片與三種堆肥的重量變化

組別/實驗天數 PLA 塑膠杯 (2cm X 2cm /片)		第 0 天 重量 (mg)	第 31 天 重量 (mg)	第 65 天 重量 (mg)	第 92 天		
					重量 (mg)	重量 減少	減少 百分比
PLA 塑 膠杯 (片) 無前處 理	土壤添加自來水 N1	156.2	156.0	155.3	153.1	3.1	-1.98
	土壤添加營養液 N2	154.5	154.8	151.2	148.3	6.2	-4.01
	土壤添加含菌營 養液 N3	156.3	151.8	147.5	144.2	12.1	-7.74
陽光照 射 3 天	土壤添加自來水 SUN1	155.9	153.4	151.1	150.2	5.7	-3.66
	土壤添加含菌營 養液 SUN2	155.7	151.2	145.6	141.8	13.9	-8.93
實驗室 紫外光 照射 24 小時	土壤添加自來水 UV1	157.4	153.2	151.4	149.9	7.5	-4.76
	土壤添加含菌營 養液 UV2	156.9	151.3	145.2	141.0	15.9	-10.13



【圖四】塑膠片殘留重量比與實驗天數的折線圖

因此，我們得到以下小結論

1. 有加嗜油菌的實驗組斜率大於對照組，故可知嗜油菌可以加速塑膠的分解
2. UV 組實驗組的斜率大於 SUN 組和 N 組的實驗組的斜率，因此可以得知 PLA 的降解最好有紫外線照射的前處理，破壞 PLA 的表面，以利後續的發酵作用
3. 照射紫外線的時間與殘留重量比呈反相關
4. 殘留重量比：
 - (1)土壤添加自來水>土壤添加營養>土壤添加含菌營養液
 - (2)無前處理>陽光照射 3 天>實驗室紫外光照射 24 小時

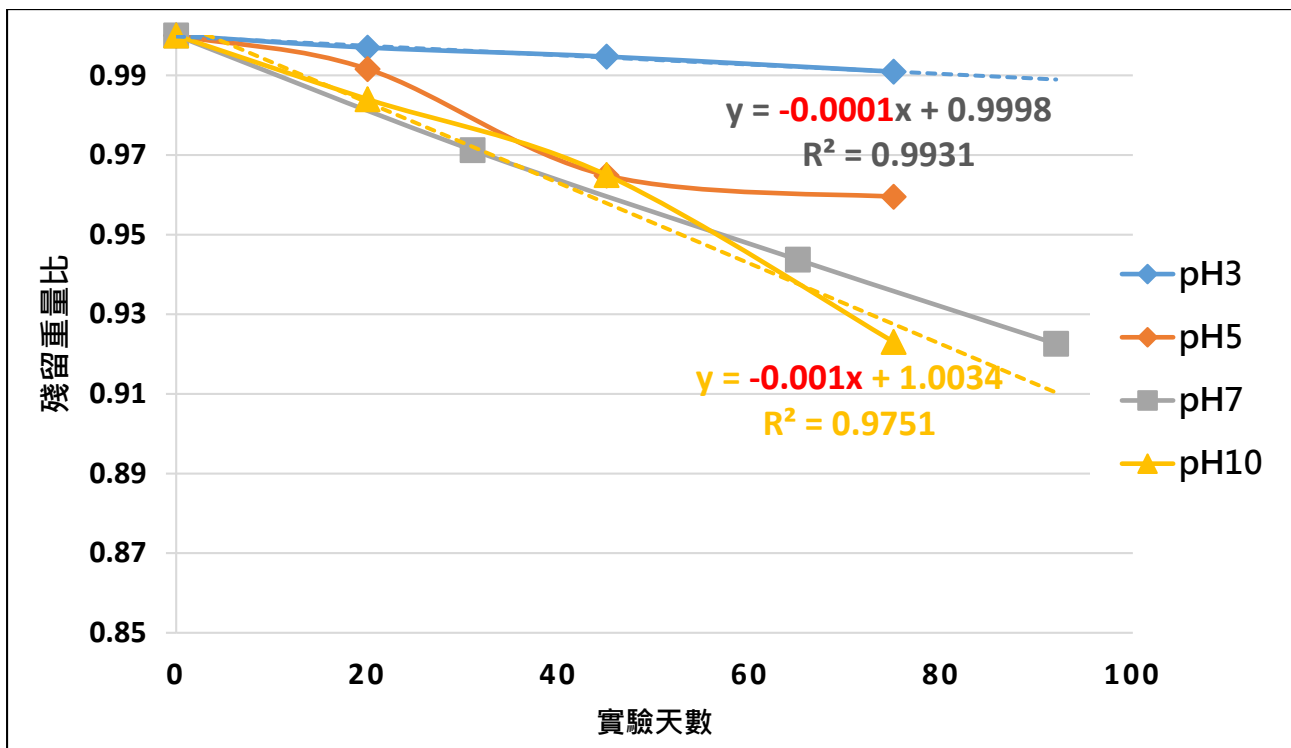
(三) 嗜油菌在不同分解環境的影響 (在不同酸鹼值與低有機質砂土)

使用 0.1M 的鹽酸、氫氧化鈉及石英砂。設計了兩組實驗組別，分別為 1. 在土壤中添加鹽酸或氫氧化鈉；2. 在土壤中添加石英砂混合。每一組又分為 3 種環境，第一種為在土壤中加入鹽酸使環境酸鹼度為 pH 3；第二種為在土壤中加入鹽酸使環境酸鹼度為 pH 5；第三種為在土壤中加入氫氧化鈉使環境酸鹼度為 pH10。第二組的第一種為含沙量 0%；第二種為含沙量 30%；第三種為含沙量 50%。

由【表二】及【圖五】可以得知，堆肥環境越鹼組別的斜率越大，實驗第 75 天時 pH10 組別的減少百分比為 7.67，高於 pH3 的 0.91 及 pH5 的 4.05，故可知調高環境的 pH 值可以加速塑膠的分解。另外，由【表二】及【圖六】可以推測，含沙量越小的組別斜率越大，實驗第 75 天時添加石英砂 0% 的組別的減少百分比為 8.49，高於添加石英砂 30% 的 6.88 及添加石英砂 50% 的 5.71，故可知降低含沙量可以加速塑膠的分解。

【表二】塑膠片與不同酸鹼值和含沙量的堆肥處理的重量變化

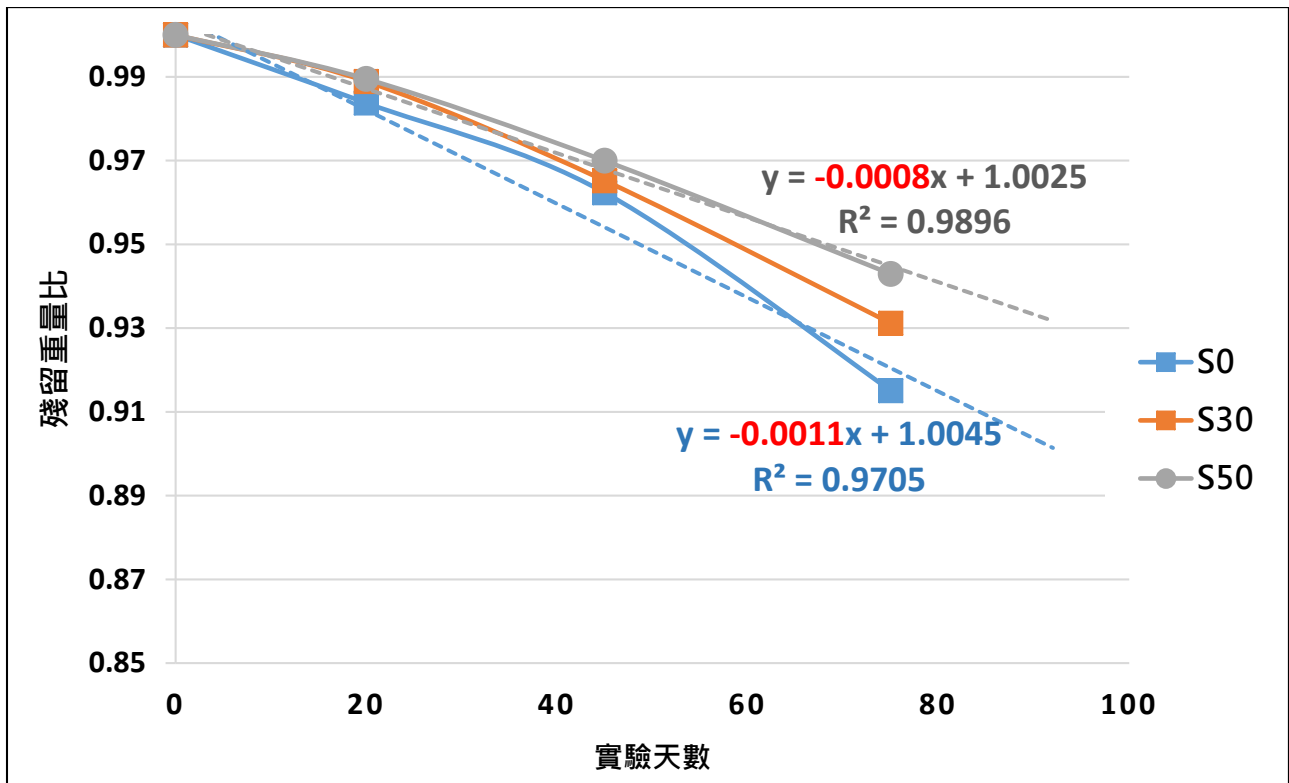
組別/實驗天數 PLA 塑膠杯 (2cm X 2cm /片)		第 0 天 重量 (mg)	第 20 天 重量 (mg)	第 45 天 重量 (mg)	第 75 天		
					重量 (mg)	重量 減少	減少 百分比
PLA 塑膠杯 (片) 調整酸鹼 (含菌液)	土壤添加 0.1 M HCl pH3	132.5	132.1	131.8	131.3	1.2	0.91
	土壤添加 0.1 M HCl pH5	130.9	129.8	126.3	125.6	5.3	4.05
	土壤添加 0.1 M NaOH pH10	131.3	129.2	126.7	121.2	10.1	7.69
含菌營養液 組添加石英 砂	土壤添加石英 砂 0%	135.4	133.2	130.3	123.9	11.5	8.49
	土壤添加石英 砂 30%	135.1	133.6	130.4	125.8	9.3	6.88
	土壤添加石英 砂 50%	133.2	131.8	129.2	125.6	7.6	5.71



【圖五】在不同酸鹼值的環境下塑膠片殘留重量比與實驗天數的折線圖

因此，我們得出以下小結論

1. pH10 的堆肥對塑膠分解最有利
2. 整體而言，鹼性環境對塑膠的分解較酸性環境有利
3. 殘留重量比：pH3 > pH5 > pH7 > pH10
4. pH7 的數據是使用表一中的 N3 組
5. 從線性趨勢可看出分解速率逐漸趨緩
6. 分解速率最快的 pH10 組別中的塑膠完全分解需約 1003 天



【圖六】在不同含沙量環境下的塑膠片殘留重量比與實驗天數的折線圖

1. 含沙量 0% 的堆肥對塑膠分解最有利
2. 含沙的環境對塑膠分解不利
3. 殘留重量比：含沙量 50% > 含沙量 30% > 含沙量 0%
4. 從線性趨勢可看出分解速率逐漸上升
5. 分解速率最快的含沙量 0% 組別中的塑膠完全分解需約 913 天

肆、結論與應用

一、結論

台灣的星巴克是使用「生物可降解塑膠 PLA」材質作為其一次用冷飲杯的企業，本研究探討植物澱粉所製造成的塑料(Polylactic Acid, PLA)的堆肥降解成效，並探討生物分解反應與速率所需要的特殊條件，才能達成在短時間有效分解，所以 PLA 的分解真的不如大眾想像的容易，也很難達到 100%。消費者還是要盡力做到減少塑膠的使用

(Reduce)、盡量循環使用 (Reuse)、做好回收 (Recycle) 或更進一步自備環保杯，拒絕使用 (Refuse) 一次性飲料杯。(生物可降解塑膠補充資訊: 歐盟 EN1342, 美國 ASTM6400; 規範; 對於分解率必須是 >90%; 規定工業堆肥必須於 12 周內), 本研究實驗發現，生物可降解塑膠杯的生物分解實驗，獲得以下結論:

- (一) 嗜油菌可以加速塑膠的分解
- (二) 照射紫外線的時間與殘留重量比呈負相關
- (三) 塑膠分解速率與 pH 值呈正相關
- (四) 塑膠分解速率與含沙量呈負相關
- (五) 生物可分解塑膠降解速度 > 一般塑膠
- (六) pH 值與殘留重量比呈負相關
- (七) 含沙量的時間與殘留重量比呈正相關
- (八) 有機質多寡與殘留重量比呈負相關
- (九) 堆肥條件以厭氧固態發酵最佳，添加稻稈作為碳源以及雞糞作為氮源 (氮碳比 20)，水分含量 60%，溫度 50C°，含沙量 0%，pH10
- (十) 依斜率得知，最好的狀況中完全分解可能需要 883 天，約 2.4 年，因此解決塑膠垃圾過量的問題的對家方法仍是減少使用和重複利用

二、本研究之新創性

(一) 加速塑膠分解的創新方法

本研究首度提出以嗜油菌加速塑膠的分解，目前塑膠垃圾處理方式只有焚燒或埋進垃圾掩埋場，但前者會產生有毒氣體戴奧辛，而後者要經過非常長的時間才會分解。若運用此實驗的堆肥方法，藉由在埋有塑膠垃圾的土裡加入嗜油菌液將會大幅度縮短分解所需時間

(二) 一石二鳥且環境友善

台灣有許多石化工業區與煉油廠現在皆在進行土壤整治，因為佔地內的土壤被油污染，若採取本研究的方法加速塑膠分解，此舉不但能利用待處理的土又能以自然的方法分解垃圾

三、未來展望

(一) 一般塑膠的研究

此研究使用的塑膠片皆混合一般塑膠及生物可分解塑膠，我希望進一步研究藉嗜油菌加速塑膠分解的方法是否能在僅含一般塑膠的塑膠片上獲得同樣的成功

(二) 探討加入不同有機質塑膠的分解狀況

希望進一步研究加入非嗜油菌的其他有機物是否能同樣加速塑膠分解，以及在已加入嗜油菌的堆肥中再添加其他有機物，並研究此舉是否能夠再加速塑膠分解

伍、參考文獻

1. 柯亭宇、夏昀(2006)。綠色親善大使之誕生-生物可降解性奈米複合材料的研究。臺灣2006年國際科學展覽會。
2. 廖謀勇、黃靖文(2006) ,『碗』救地球~環保再生碗, 中華民國第四十六屆中小 學科學展覽會
3. 黃怡華、鄭毓澤(2018), HEY!你這個吃塑膠的小傢伙, 中華民國第 58 屆中 小學科學展覽會
4. 丁雅涵、羅凱尹(2021), 生物可分解性塑膠聚乳酸的降解條件研究, 台灣農業化學與食品科學誌
5. Jennifer Ackerman(2010), 海浪裡的塑膠垃圾, 科學人雜誌
6. Chettri, B., Mukherjee, A., Langpoklakpam, J.S., Chattopadhyay, D., Singh, A.K., 2016. Kinetics of nutrient enhanced crude oil degradation by *Pseudomonas aeruginosa* AKS1 and *Bacillus* sp. AKS2 isolated from Guwahati refinery, India. *Environmental Pollution* 216, 548-558.
7. Deng, Z., Jiang, Y., Chen, K., Li, J., Zheng, C., Gao, F., Liu, X., 2020. One biosurfactant-producing bacteria *Achromobacter* sp. A-8 and its potential use in microbial enhanced oil recovery and bioremediation. *Frontiers in microbiology* 11, 247.
8. Hou, N., Zhang, N., Jia, T., Sun, Y., Dai, Y., Wang, Q., Li, D., Luo, Z., Li, C., 2018. Biodegradation of phenanthrene by biodemulsifier-producing strain *Achromobacter* sp. LH-1 and the study on its metabolisms and fermentation kinetics. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 163, 205-214.
9. Kao, C.-M., Lin, B.-H., Chen, S.-C., Wei, S.-F., Chen, C.-C., Yao, C.-L., Chien, C.-C., 2016. Biodegradation of trinitrotoluene (TNT) by indigenous microorganisms from TNT- contaminated soil, and their application in TNT bioremediation. *Bioremediation Journal* 20, 165-173.
10. Méndez, V., Hernández, L., Salvà-Serra, F., Jaén-Luchoro, D., Durán, R.E., Barra, B., Piñeiro-Iglesias, B., Moore, E.R., Seeger, M., 2018. Complete genome sequence of the hydrocarbon-degrading strain *Achromobacter* sp. B7, isolated during petroleum hydrocarbon bioremediation in the Valparaiso Region, Chile. *Microbiology Resource Announcements* 7, e01326-01318.
11. Rad, M.M., Moghimi, H., Azin, E., 2022. Biodegradation of thermo-oxidative pretreated low-density polyethylene (LDPE) and polyvinyl chloride (PVC) microplastics by *Achromobacter denitrificans* Ebl13. *Marine Pollution Bulletin* 181, 113830.
12. Xia, W., Du, Z., Cui, Q., Dong, H., Wang, F., He, P., Tang, Y., 2014. Biosurfactant produced by novel *Pseudomonas* sp. WJ6 with biodegradation of n-alkanes and polycyclic aromatic hydrocarbons. *Journal of Hazardous Materials* 276, 489-498.
13. Zhang, Z., Sun, J., Guo, H., Wang, C., Fang, T., Rogers, M.J., He, J., Wang, H., 2021. Anaerobic biodegradation of phenanthrene by a newly isolated nitrate-dependent *Achromobacter denitrificans* strain PheN1 and exploration of the biotransformation processes by metabolite and genome analyses. *Environmental Microbiology* 23, 908-923.

【評語】 200008

本研究透過能分解石油的嗜油菌加速同為碳氫構成的塑膠分解，研究採用參雜一般塑膠的生物可分解塑膠片，從含有油污的土中經過 DNA 分離與純化後透過 NCBI 比對出主要菌種為 *Pseudomonas citronellolis* 和 *Achromobacter*。菌種與經實驗室紫外光照射 24 小時的塑膠片反應時重量下降幅度最大，經約含 7% 紫外線的太陽光照射 3 天的塑膠片次之。透過三種堆肥方式研究塑膠片分解的情形，在加入菌種和碳基生物復育劑的土中反應的塑膠片重量下降幅度最大。未來預計長期研究嗜油菌與一般塑膠的分解，期望解決塑膠過量的問題，使環境不受影響。結論部分以分解斜率推論，完全分解可能需要 909 天，約 2.5 年，這部分可再多加討論考量，並可以多一些理論基礎的說明及與文獻的比較。