

# 可降解塑料的微生物菌株的分离

李博权 郭爱 罗千禧 许乐

西安培华学院医学院, 中国·陕西 西安 710100

**【摘要】**目的: 本实验拟从腐烂塑料表面分离出可以降解塑料的微生物。方法 找取多组不同腐烂的塑料, 用灭菌棉签分别沾取腐烂塑料表面, 将沾取塑料表面的棉签分别放置于无菌锥形瓶, 备用。用棉签涂抹于固体培养基培养后, 挑取单个菌落进行穿刺接种培养。将培养后的菌种接种于斜面培养基中培养保藏。将保藏后的菌种从冰箱中拿出进行复苏, 复苏后再接种于固体培养基中培养, 将聚乙烯醇(PVA)均匀撒在固体培养基表面。结果 菌落表面及周围的PVA全部被降解。

**【关键词】**微生物; 降解; 培养; 接种

随着经济社会的迅猛发展和人民生活水平逐步提高, 塑料的使用量可以作为评价一个国家或地区工业化水平及生活水平的标准。<sup>[1]</sup>但是, 现在随处可见的塑料制品垃圾已经是构成环境的一大威胁, 我们对外卖、快消食品的依赖, 导致塑料垃圾问题的解决变得更加困难, 而众所周知, 塑料垃圾是难以被地表消化分解的。据相关数据统计, 目前人类已经制造了超过83亿的垃圾,<sup>[2]</sup>这数字着实让人感到害怕。而日本科学家发现了一种细菌, 不仅能将这些物质消化, 而且未来还可能将其变成一种可再生资源, 供人类使用。本项目研究分离出一种可降解塑料的微生物菌株并对其培养, 其理想的环境适应性可有效缓解废弃塑料造成的全球性环境问题。

## 1 材料与仪器

### 1.1 材料

无菌棉签, 腐烂塑料, 锥形瓶, 容量瓶, 培养皿, 酒精灯, 接种环, 报纸, 棉绳, 75%酒精, 硫酸铵, 硫酸镁, 磷酸二氢钾, 氯化钠, 纤维素粉, 琼脂。

### 1.2 仪器

超净实验台, 高压灭菌锅, 恒温箱, 恒温水浴摇床, 天平 JY3003。

## 2 菌种的收集

找取腐烂的塑料, 将塑料放置于超净实验台中, 用无菌棉签沾取腐烂塑料的表面, 将沾取塑料表面的棉签放置于无菌锥形瓶中, 备用。

## 3 菌株的培养与分离

精密称取硫酸铵 2g, 硫酸镁 0.5g, 磷酸二氢钾 1g, 氯化钠 0.5g, 纤维素粉 2g, 琼脂 22g 倒入 1000 ml 容量瓶中, 摇匀。将溶液倒入锥形瓶中(不超过 2/3), 封口。将培养皿、装有液体的锥形瓶放入高压灭菌锅进行灭菌。将灭菌后的装有溶液的锥形瓶、培养皿放入超净实验台中。待锥形瓶中的溶液冷却到 50℃左右, 点燃酒精灯, 在酒精灯火焰旁边打开锥形瓶封口, 向培养皿内倒入 20ml 左右溶液放置于超净台中冷却。培养基冷却后倒置备用。将沾有腐烂塑料表面的棉签分别从锥形瓶中拿出, 均匀的涂布于培养基表面, 涂布完后盖上皿盖, 置培养箱中 37℃培养 24 小时, 经培养后挑取单个菌落。(涂布过程均在点燃的酒精灯周围进行)。用 75% 的酒精擦拭双手, 将灭菌培养基和已培养的涂布培养基放在超净实验台中。点燃酒精灯, 接种环灼烧灭菌(5-10cm), 用接种环沾取少量菌种后盖上涂布培养基。打开灭菌培养基, 采用穿刺接种法<sup>[3]</sup>, 将接种环自培养基中心平稳、快速垂直刺入培养基, 至接近培养基底部, 然后沿接种线拔出, 重复上述方法五次



图1



图2

(每次接种完后接种环需在酒精灯上灼烧灭菌)在培养基底部标出穿刺部位并编号(1、2、3、4、5)。如图1所示。培养箱 37℃ 培养 24 小时后, 在平板表面得到单个菌落。如图2所示, 菌落长势良好, 形成五个单菌落, 菌落形态呈圆形或椭圆形。

## 4 验证性试验

本试验选取聚乙烯醇(PVA)作为试验对象。将在恒温箱中培养的固体培养基放置于超净实验台中, 将已灭菌的聚乙烯醇(PVA)均匀的撒在培养基表面(厚度为 1-2mm), 继续培养并观察。如图3所示



图3

## 5 试验结果

接种聚乙烯醇(PVA)的培养基<sup>[4]</sup>经过两天的培养, 可见菌落表面及周围的PVA均已被降解。降解前菌落白色表面呈粗糙状, 边缘呈圆形或椭圆形; 降解后菌落淡黄色表面渐光滑, 边缘呈圆形扩散。如图4所示。重复三次上述试验, 均得出此结果。此试验说明, 此种细菌具有降解普通塑料的能力。此试验可降解塑料微生物菌株的成功分离培养对环境保护具有重大意义, 其可以改善环境, 缩短塑料降解周期, 降低传统降解塑料的成本, 可以带来非常可观的经济效益。



图4

## 参考文献:

- [1]宋力,赵晶晶,王战勇等.生物降解塑料降解技术及其前景展望[J].降解塑料,2020,49(5):88-120.
- [2]刘海英.震惊! 人类已生产83亿吨塑料大部分成为废弃物[J].科技日报, [http://www.china.com.cn/news/2017-07/20/content\\_41248844.htm](http://www.china.com.cn/news/2017-07/20/content_41248844.htm),2017.07.20.
- [3]star.穿刺接种技术[J].<https://www.docin.com/chx199091>,2011.12.20.
- [4]蒋欣怡,王书卿,杨怡萱,朱振洪.土壤中可降解塑料微生物的分离和初步鉴定[J].2021,26:124-128.