

微生物に関する科学的考察 Scientific consideration about microorganisms

尾崎 ひのか
Osaki Hinoka

There are four purposes of this study. First, to isolate microorganisms on the plant leaf and to know the species. Second, to examine whether dried yeast is alive or not. Third, to research the kind of microorganisms in dried yeast. Last, to research how to be decomposed the biodegradable plastics by microorganisms in soil. To achieve these purposes, the microorganisms on leaves and in dried yeast were isolated and identified. Then, the plastics that seemed these were decomposed by microorganism were buried in soil. As the results of this study, first, these microorganisms were not single species. Second, dried yeast was alive. Last, the form of the plastics was changed by some factors in soil.

1. はじめに

目には見えないが、ヒトは生活の多くの場面において微生物との関わりを持っている。パンやアルコール、チーズや納豆といった発酵食品を食べるときに、それを実感する人もいるかもしれない。

微生物は食品に独特な風味や保存性をもたらすだけではなく、消化管の中や肌の上の微生物は、代謝や免疫といった宿主の健康状態に、大きな影響を与えているのだ。

微生物についての興味は、中学3年生で腐葉土（より正確な呼称は腐植であり、腐植は微生物のはたらきによってつくられる）に関する研究を行った頃から始まった。高校での研究は、天然酵母とイーストの違いは何かという疑問から始まった。興味の変遷のままに研究を続けた結果、2年生までの間に

- ・酵母とイーストの違いはなく、生物である酵母に天然、人工という区別はない。したがって天然酵母という呼称は不適切である。
- ・同一のドライイーストを用いても、発酵時間・発酵温度・砂糖の量・ドライイーストの量などの変化により、パンの仕上がりに差が出る。
- ・ドライイーストを、人工イクラの原理を用いて扱いやすく固定しても、グルコース水溶液中で呼吸を行う。ということがわかった。

これまでの研究や、発表の際に頂いた質問をふまえ、今回の研究では

- ・植物表面の微生物を単離し、どのような菌種が存在するのか。
- ・ドライイーストは乾燥状態にあっても生きているのか。
- ・ドライイーストは単一の菌種から成るのか。
- ・生分解性プラスチックが土壌中でどのように分解されるのか。

という4つの問いを明らかにすることを目的とする。

2. 方法

2.1 単離

単離とは、複数のものが混合している状態からある特定のものを取り出すことである。ここでは多種多様な微生物の混合状態から1種類の微生物のみを分離・培養することを示す。単離は、種を同定したり特性を明らかにしたりするために必要不可欠な操作である。

2.11 培地作成

単離を行うため、酵母の培養に適したYPD培地と、乳酸菌の培養に適したMRS培地を作成する。

手順

- 1 培地の原料を混ぜ合わせる。
- 2 混ぜ合わせた原料をオートクレーブ（121°C2気圧15分）にかけ、寒天の溶解と滅菌を行う。
- 3 クリーンベンチ内で滅菌済みプラスチックシャーレに分注する。

なお、原料は各培地以下の通りである。

YPD 培地

- ・YPD 粉末 2.50g
- ・寒 天 1.55g
- ・蒸 留 水 50.0g

MRS 培地

- ・MRS 粉末 3.50g
- ・寒 天 0.80g
- ・蒸 留 水 50.0g

いずれの培地粉末も酵母エキス、ペプトン、グルコースを主成分とする。

寒天は、溶媒である蒸留水に対して0.8%（質量パーセント濃度）である。MRS培地は、寒天が加えられているMRS粉末を使用しているため、YPD培地とMRS培地とは添加している寒天の量が異なる。

いずれの培地も凝固後は30°Cインキュベータにて保存した。

2.12 植物表面からの微生物の単離

植物表面にどのような微生物が存在しているか調べるため、植物表面の微生物を培養・単離する。

手順

- 1 YPD培地に、校内ビオトープにて採取した植物（ニンジンボク、ハンゲショウ、アップルミント）の葉の表面を接触させ、30°Cインキュベータにて培養する。
- 2 培地にコロニーが出現したら、コロニー毎に新たな培地へ釣菌、培養する。
- 3 1つの培地につき同一形状のコロニーのみが現れるようになるまで2の過程を繰り返す。

2.13 市販ドライイーストからの微生物の単離

市販の製パン用ドライイーストが単一の菌種から構成されているのかどうか調べるため、市販製パン用ドライイーストをYPD培地とMRS培地とで培養する。

市販製パン用ドライイーストが単一の菌種から成る場合にはコロニーは同一形状のものしか見られないが、複数の菌種の混合状態にある場合、コロニーは複数種見られる。

複数種のコロニーが見られた場合は、その種がどのようなものであるか調べるために、培養に続けて単離操作を行う。

手順

- 1 市販製パン用ドライイースト懸濁液（日清スーパーカメラヤ 3g, 0.85%滅菌生理食塩水 300g）を滅菌ガラス棒にて YPD 培地と MRS 培地に塗布する。
- 2 30°C インキュベータで培養する。
- 3 培地にコロニーが複数種出現したら、コロニー毎に新たな培地へ釣菌，培養する。
- 4 1つの培地につき同一形状のコロニーのみが現れるようになるまで 3 の過程を繰り返す。

2.2 種の同定

単離した微生物を，検査キットであるアピ C オクサノグラムを用いて同定する。

アピ C オクサノグラムは 44 種の酵母様真菌（表.1）の同定ができるキットである。キットには 19 種類の炭水化物が含まれており，微生物が炭素源として利用する炭水化物の組み合わせによってその種を同定する。

表.1 アピ C オクサノグラムで同定できる微生物種

<i>C. albicans</i> 1	<i>C. lusitaniae</i>	<i>C. zeylanoides</i>	<i>Rhodo. glutinis</i>
<i>C. albicans</i> 2	<i>C. magnoliae</i>	<i>Crypto. albidus</i>	<i>Rhodo. minuta</i>
<i>C. boidinii</i>	<i>C. norvegensis</i>	<i>Crypto. humicola</i>	<i>Rhodo. mucilaginoso</i> 1
<i>C. ciferrii</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>Crypto. laurentii</i>	<i>Rhodo. mucilaginoso</i> 2
<i>C. colliculosa</i>	<i>C. pelliculosa</i>	<i>Crypto. neoformans</i>	<i>Saccharo. cerevisiae</i> 1
<i>C. dubliniensis</i>	<i>C. rugosa</i>	<i>Crypto. terreus</i>	<i>Saccharo. cerevisiae</i> 2
<i>C. famata</i>	<i>C. spherica</i> 1	<i>Crypto. uniguttulatus</i>	<i>Sap. capitata</i>
<i>C. glabrata</i>	<i>C. spherica</i> 2	<i>G. klebahnii</i>	<i>Sporo. salmonicolor</i>
<i>C. guilliermondii</i>	<i>C. thermophila</i>	<i>Kloeckera</i> spp	<i>Tricho. asahii</i>
<i>C. kefyr</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>Kodamaea ohmeri</i>	<i>Tricho. inkin</i>
<i>C. krusei/inconspicua</i>	<i>C. utilis</i>	<i>Pro. wickerhamii</i>	<i>Tricho. mucoides</i>

手順

〈測定方法〉

1 プレートの準備

- ・付属トレイの凹面部に約 5ml の蒸留水を入れ，湿潤環境を作る。
- ・トレイに包装を開封したアピ C オクサノグラム基質プレートを置きふたをする。

2 菌液の調整

- ・0.85%滅菌生理食塩水 2ml に，寒天培地から滅菌柄付き針を用いてコロニーを釣菌する。釣菌するコロニーは培養から 24 時間以内のものを使用する。
- ・菌液はマクファーランド濁度 2（注）になるように調整し，直ちに使用する。
- ・C メディウムのアンブルを開け，調節した菌液 100μl を加え，穏やかに攪拌する。

3 プレートへの菌液接種

- ・C メディウムで調製した菌液を基質プレートのカップに気泡ができないように分注する。菌液はカップの縁に対し平面または僅かに凸面状になるようにする。
- ・蓋をして 30°C（±2°C）で 72 時間培養する。

〈測定結果の判別法〉

1 プレート判定

- ・72 時間培養後，陰性コントロールの 0 カップと比較して各カップの生育を確認する。
- ・陰性コントロールよりも濁っていれば陽性と判定し，成績記入用紙に記録する。

2 形態観察

- ・寒天培地で菌糸または仮性菌糸を確認する。検出された場合，陽性として 21 番目の試験に組み込む。

3 解析

- ・成績記入用紙上で分けられた 7 つのグループごとに陽性反応を示した数値を加算し，7 桁のプロファイル番号を得る。

- ・APIWEB®同定ソフトウェアに 7 桁のプロファイル番号を入力する。

注

マクファーランド濁度は濁度指数の一種であり，マクファーランド比濁法によって一定の菌体濃度を求めるときに用いられる。マクファーランド比濁法は，菌懸濁液の濁度によって，菌体数を測定する方法であり，マクファーランドスタンダード標準液と菌懸濁液とを目視または吸光度測定によって比較して濁度を調節し，一定の濁度，すなわち一定の菌体濃度を得る。

2.3 顕微鏡観察

単離した微生物を倒立顕微鏡にて観察する。また，無作為に選んだ 10 個の細胞サイズを測定し，平均値を求める。

2.4 生分解性プラスチックの分解

土壌微生物による，生分解性プラスチックの分解状況を調べるため，生分解性を有すると考えられるスポンジ状のプラスチック片を土壌中に埋め，観察する。

手順

- 1 生分解性を有すると考えられるプラスチック片を，校内 5 か所，土壌表面から約 5cm の位置に埋める。
- 2 観察の際には掘り起こし，観察ののちに再び埋める。

〈埋める土壌〉

- ・A 園芸用培養土に似た土
- ・B 砂
- ・C ハスやガマが生える粘土
- ・D カラスノエンドウやノバラが生える土
- ・E プランターの中の園芸用培養土

なお，プラスチックは STOROpack のバラ緩衝材「ハイタッチ」を使用した（図.1）。



図.1 使用したプラスチック

3. 結果

3.11 植物表面からの微生物の単離

YPD 培地に植物の葉の表面を接触させ、30°Cインキュベーターにて培養した結果、さまざまな形態のコロニーが出現した(図. 2,3,4).

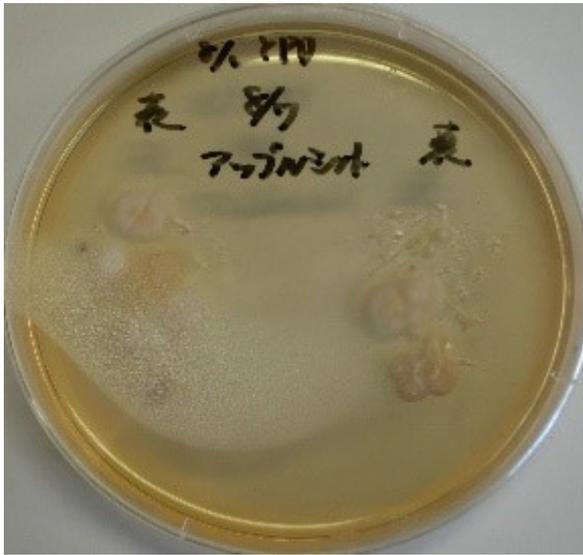


図.2 アップルミント表面の微生物

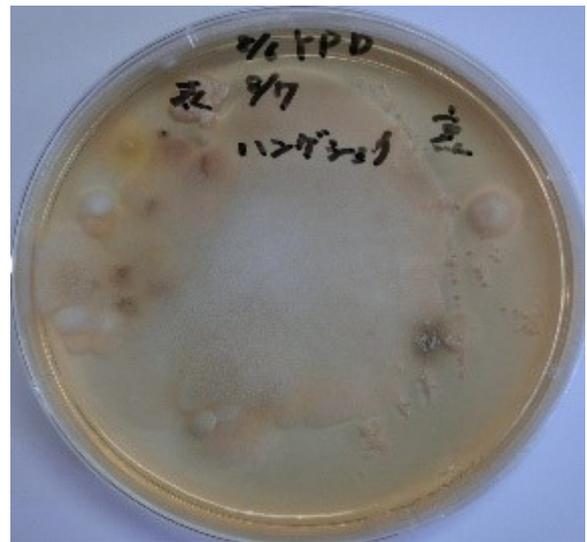


図.4 ハンゲショウ表面の微生物



図.3 ニンジンボク表面の微生物

また、続く単離操作により、最終的に1つの培地から次のような同一形状のコロニーのみが現れるようになった(図. 5,6,7).



図.5 単離された微生物



図.6 単離された微生物



図.7 単離された微生物

3.12 市販ドライイーストからの微生物の単離

ドライイースト懸濁液を培地に塗布してから6日後の様子。大部分を占める淡橙色のコロニーの中に、白く小さなコロニーが確認できた(図8, 図9)。



図.8 YPD 培地で培養されたドライイースト



図.9 図.8の上部拡大図

白く小さなコロニーから YPD 培地へ釣菌してから 11 日後の様子 (図.10, 図.11)



図.10 白いコロニーを形成した微生物を釣菌・培養



図.11 図.10の下部拡大図

図. 11 中央に見られる最も微小なコロニーから MRS 培地へ釣菌して、10 日後の様子 (図.12).

淡橙色のコロニーからも釣菌し、単離操作を行った。

仮に、淡橙色のコロニーをつくる微生物を「微生物 A」、白いコロニーをつくる微生物を「微生物 B」とする。



図.12 図.11の最微小コロニーから釣菌・培養

3.2 種の同定

アピ C オクサノグラム の検定結果 (図. 13,14) と、求めたプロファイル番号から、APIWEB®同定ソフトウェアが示した結果。順に、微生物 A (ver.1) (図.15), 微生物 A (ver.2) (図.16), 微生物 B (図.17)。なお、微生物 A の検定結果は、カップのうち 2KG, ARA, XLT, ADO の 4 つが陽性か陰性かの判断が困難であったため、陽性であった場合 (ver.1) と陰性であった場合 (ver.2) の 2 通りを想定してソフトウェアに入力した。



図.13 アピ C オクサノグラムの検定結果

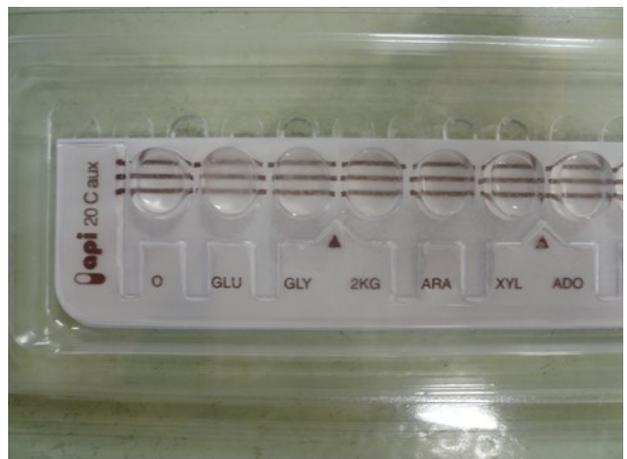


図.14 図.13の拡大図 (一部)

熊本県立宇土中学校・宇土高等学校・熊本県宇土市古城町63

APIWEB™

API 20 C AUX V5.0

検体番号 日付
19/06/13

コメント

LOW DISCRIMINATION

ストリップ	API 20 C AUX V5.0			
プロファイル	6 7 5 4 0 7 3			
注釈	Rhodo:色素沈着がみられる/R. glutinis の可能性			
菌種名	% ID	T	非典型反応	
Rhodotorula mucilaginosa 2	65.8	0.32	2KG 1%	MDG 1%
Candida guilliermondii	24.0	0.11	XLT 92%	SOR 97% NAG 99% CEL 95%
次候補	% ID	T	非典型反応	
Candida famata	8.2	0.1	XLT 75%	SOR 100% NAG 99% CEL 89%
追加試験	GLN	NITRATEa	THIAMINE	dMELa
Candida guilliermondii	97%	-	+	89%
Rhodotorula glutinis	0%	+	v	0%
Rhodotorula mucilaginosa	0%	0%	-	0%

図.15 ソフトウェアによる微生物 A (ver.1)の検定結果

熊本県立宇土中学校・宇土高等学校・熊本県宇土市古城町63

APIWEB™

API 20 C AUX V5.0

検体番号 日付
19/06/13

コメント

LOW DISCRIMINATION

ストリップ	API 20 C AUX V5.0			
プロファイル	6 0 4 4 0 7 3			
注釈	72時間培養以前の同定は無効			
菌種名	% ID	T	非典型反応	
Saccharomyces cerevisiae 2	55.5	0.61	GLY 1%	
Candida pelliculosa	42.4	0.71		
次候補	% ID	T	非典型反応	
Candida spherica 2	0.5	0.43	SOR 99%	LAC 99%
追加試験	MANNITOLa	NITRATEa	ERYas	ESC (HYD.)
Candida pelliculosa	100%	+	91%	79%
Saccharomyces cerevisiae	0%	-	0%	0%

図.16 ソフトウェアによる微生物 A (ver.2)の検定結果

熊本県立宇土中学校・宇土高等学校・熊本県宇土市古城町63

APIWEB™

API 20 C AUX V5.0

検体番号 日付
19/06/13

コメント

UNINTERPRETABLE STRIP

ストリップ	API 20 C AUX V5.0			
プロファイル	0 0 0 0 0 0			
注釈				

図.17 ソフトウェアによる微生物 B の検定結果

3.3 顕微鏡観察

倒立顕微鏡にて撮影した等倍率での微生物 A (図.18) と微生物 B (図.19). なお、写真中の十字線の 1 目盛りは 2.9046 μ m である.

求めた細胞サイズの平均値は、微生物 A が 5.247 μ m, 微生物 B が 1.267 μ m と、4 倍以上の違いがあった.

ただし、細胞サイズの求め方として、微生物 B は顕微鏡の最大倍率であっても細胞サイズの測定が困難であるほど小さかったため、それぞれ異なる、一直線上に並ぶ 3 個の細胞のまとまりの大きさを 10 通り測定し、3 個分の細胞サイズの平均を求めた後に 3 で割ることで 1 個分の細胞サイズを求めた.

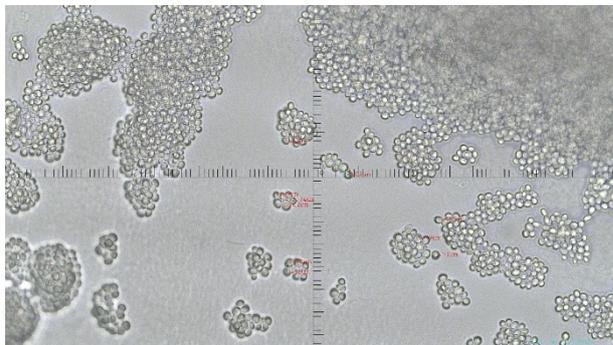


図.18 微生物 A の顕微鏡写真

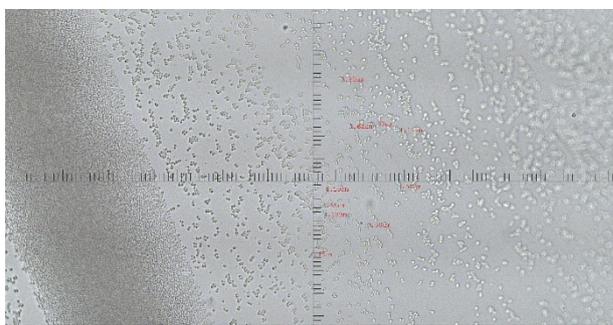


図.19 微生物 B の顕微鏡写真

3.4 生分解性プラスチックの分解

図.20 は生分解性を有すると考えられるプラスチック片を A に埋めたものの、1 週間後の様子である。大きな形態変化は見られなかった.

埋めていた 4 か月間に、ABCDE の 5 か所のうち B と E の 2 か所のは途中で行方が分からなくなった.

埋めてから 4 か月後、A に埋めたものはつぶれが (図.21), C に埋めたものはつぶれと、植物の根が生えるという変化が見られ (図.22), D はプラスチック片が 2 つに分かれ、形態が大きく変化していた (図.23).



図.20 土壌 A 中のプラスチック (1 週間後)



図.21 土壌 A 中のプラスチック (4 か月後)



図.22 土壌 C 中のプラスチック (4 か月後)



図.23 土壌 D 中のプラスチック (4 か月後)

4. 考察

4.1 単離

4.1.1 培地作成

コンタミネーションが見られなかったことから、無菌的に培地を作成できたと考えられる。

また、酵母や酵母以外の微生物の生育が YPD 培地と MRS 培地とではほぼ同等であったことから、両者の、少なくとも酵母に対する選択制は低いと言える。

4.1.2 植物表面からの微生物の単離

1つの培地につき同一形状のコロニーのみが見られたことから単離は成功したと考えられる。微生物種としては、菌糸が見られることから糸状菌、表面が濡れたコロニーから細菌類が考えられる。

4.1.3 市販ドライイーストからの微生物の単離

コロニーが形成され、かつ、その数と面積が増加したことから、ドライイーストは生きていると考えられる。

また、1つの培地につき同一形状のコロニーのみが見られることから、単離は成功したと考えられる。表面が濡れたコロニーが見られたことから、酵母以外にも細菌類の存在が示唆される。さらに、顕微鏡による形態観察からわかる細胞の大きさからも細菌類の存在が強く示唆される。

4.2 種の同定

アピ C オクサノグラム の測定結果では、微生物 A の種の候補として *Sacchro.cerevisiae* や *Candida pelliculosa*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Candida guilliermondii* などが検出されたが、ドライイーストから最も多量に検出された微生物であることを考慮すると、この微生物 A の菌種としては *Sacchro.cerevisiae* が妥当である。一般に製パンに用いられる酵母は *Sacchro.cerevisiae* であるためだ。

微生物 B の測定結果はすべて陰性で、同定ソフトウェアはいかなる候補も示さなかった。しかし使用した検査キットであるアピ C オクサノグラムは使用上の注意として以下のように述べている。

「アピ C オクサノグラムは、専用のデータベースに含まれている菌種の同定のみを行います（“陽性率表”を参照して下さい）。データベースに含まれない菌種の同定やデータベースに含まれていない菌種であることを確認する目的には使用できません。」

すなわち、アピ C オクサノグラムの測定結果のみを根拠として「陽性率表に示されているものとは異なる種の微生物が存在する」とは言えない。

ただし、今回の研究ではコロニーの形態観察と顕微鏡による形態観察も行っている。表面の濡れたコロニーと、真核生物よりも明らかに小さい細胞サイズは細菌類の特徴であり、このことから微生物 B は細菌類だといえることができる。

4.3 生分解性プラスチックの分解

プラスチックの形態は変化していたが、その変化が微生物の働きによるものかどうかは難しい。

まず、土壌 A のプラスチックの「つぶれた」という変化は、プラスチックが分解されたからではなく、プラスチックがスポンジ状であったために、単に土の圧力で押しつぶされたとも考えられる。

また、土壌 C のプラスチックの「植物の根が生えた」という変化についても、微小な物理的構造破壊がおきたという以上の表現はできない。アスファルトやコンクリートを破って地表に出る植物の例があるからだ。

土壌 D のプラスチックは2つに分かれ、他2つよりも形態の変化が大きい。しかしこれも、微生物による分解が起きたとは言えない。土壌に埋めてから4か月後、土壌 D のプラスチック片の周囲には多数のダンゴムシがいた。プラスチックの形態変化とダンゴムシの集合との間に因果関係があるとは言えないが、プラスチックが微生物による化学的分解を受けたのではなく、微生物よりも大きな土壌生物に、例えば食べられるなどの物理的分解を受けたという可能性も否定できない。

そもそも使用したプラスチックが生分解性を有しているかも定かではなかった。プラスチックが入っていた袋にはPE、つまりポリエチレン製であるとの記載があるが、同時に「使用后、燃えるゴミとして捨てられます。」との記載もあり、中のプラスチックもPE製であるのか、外袋のみがそうであるのか不明である(図.24)。



図.24 使用したプラスチックの外袋表記

そこで、製品のwebページを見たところ、

- STOROPack のバラ緩衝材には発泡スチロール製と植物デンプン製の2種類がある(図.25 上部)。
- 主原料が、ポリプロピレンが配合されたコーンスターチの製品と、ポリビニルアルコールが配合されたコーンスターチの製品があり、ポリビニルアルコールが配合された製品には生分解性がある(図.25 下部)。
- 植物デンプンを原料とする製品は水溶性かつ100%生分解性である(図.26)。

ということが述べられていた。これらの記載から、初見では『STOROPack のバラ緩衝材には発泡スチロール(PS)製の「ハイタッチ」と、植物デンプン製で、完全な生分解性を有する「エコホールド」がある。』のだと思った。しかし読み返してみると、文章の主語が省略されていたり、語句や文章間の関係が不明瞭であったりしたため、

- 「ハイタッチ」も「エコホールド」もコーンスターチ(植物デンプン)製であり、生分解性を有する。
- 「ハイタッチ」も「エコホールド」も主原料はコーンスターチだが、副原料として発泡スチロールか植物デンプンか選べる。

などと複数の読み方ができてしまい、結局のところ実験に使用したプラスチックの材質が何であるかは依然としてわからないままであった。

<p>Storopackのバラ緩衝材は、安全かつ効率的で多才なオールラウンドプレイヤーです。箱内で隙間を埋め、製品を効率よく固定し、衝撃や圧力をしっかりと吸収します。Storopackでは、温度耐性と耐水性を備えた発泡スチロール製のチップと、完全に肥料化が可能な植物デンプン製のチップ、2種類からお選びいただけます。</p>	<p>バラ緩衝材はすべて再利用可能で帯電防止性を備えます。また、流し入れが可能のため、自動梱包ラインでの使用に理想的です。Storopackでは1973年からバラ緩衝材を製造しており、ヨーロッパで最も古いサプライヤーに数えられます。</p>
<p>ハイタッチの特徴</p>	<p>エコホールドの特徴</p>
<ul style="list-style-type: none"> ▶ 主原料にコーンスターチ(ポリプロピレン配合)を使用 ▶ 優れた復元力と反発力により、運送揺れによる物理的ダメージを防ぎます 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ 主原料にコーンスターチ(ポリビニルアルコール配合)を使用 ▶ 極細かい発泡により沈みにくく、梱包対象をしっかりと保持します ▶ 生分解性 - 微生物により水と炭酸ガスに分解されます

図.25 STOROPack web ページより製品説明

<p>バラ緩衝材の特長</p>
<ul style="list-style-type: none"> ▶ 柔軟性：いつでもどこでも使用でき、自動充填システムにも対応します。 ▶ 経済的：非常に経済的で保管期間に制限がなく、密度が小さいために送料も削減します。 ▶ 環境保護：100%再利用可能で、地下水を汚染することなく、食品の包装にも使用できます。また、生産時にフロンガス(CFC)を使用しません。植物デンプンを原料とするチップは、水溶性で、100%生分解性です。

図.26 STOROPack web ページより製品説明



図.27 水につけたプラスチック (1週間後)



図.28 水中で揉んだプラスチック



図.29 ヨウ素液を加えた
図.28の水



図.30 ヨウ素液をかけた
プラスチック

そこで、使用したプラスチックが水溶性であるかどうか、また、デンプンが含まれているかどうかを調べるため、水にプラスチック片を浮かべて1週間放置した。結果、プラスチックは溶解していなかった (図.27)。

しかし、水中でプラスチック片を揉むとプラスチックは繊維質の一部分を残して溶解し、水は白く濁った

(図.28)。また、白濁した水と、プラスチック片にヨウ素液をかけたところ、水とプラスチック片は青紫色に変色した (図.29, 30)。これはヨウ素デンプン反応によるものだと考えられ、よって実験に使用したプラスチック片にはデンプンが含まれていたと考えられる。

しかしながら、仮に今回使用したプラスチックが生分解性を有するものであったとすると、スポンジ状という表面積が非常に大きい形状であるにもかかわらず明確な形態変化が起こるまでに短いとは言えない時間が必要だということ実は懸念されるべきだと考える。プラスチックに関連する問題には、人の手を離れた漁具が魚介類を捕獲し、中で死んだ魚介類が餌となることで繰り返し魚介類が捕獲され続けるゴーストフィッシングやプラスチックを餌と間違えて食べた生物が餓死してしまうことなどがあるが、これらの発生は、この生分解性プラスチックによっては防げないからだ。

5. 結論

- ・植物の葉の表面には、糸状菌や細菌類などの多様な菌種が存在している。
- ・ドライイーストは乾燥状態にあっても生きている。
- ・市販製パン用ドライイースト中には、イースト、すなわち酵母以外にも、細菌類が存在している。
- ・デンプンを含む生分解性プラスチックの土壤中での構造変化は、土壤の状態によってその速度が変化する。しかしその速度は、プラスチックに関連する諸問題をたちどころに解決できるほどのものではない。

6. 参考文献

『実況・料理生物学』小倉明彦, 大阪大学出版会, 2011
「天然酵母発酵におけるパンおよびワインづくりの適性」
綿貫仁美, 林一也
「天然酵母表示問題に関する見解」日本パン技術研究所,

2007

日清製粉グループ web ページ こむぎ粉くらぶ「パンを焼こう」

http://www.nisshin.com/entertainment/komugiko_club/meikan/04/01.html 2017.7

「バイオリクターを用いたアルコール発酵」弘前大学教育学部紀要, 2011

「汎用高分子の微生物による分解」富田耕右 1991

「バイオプロセスと生分解性プラスチック」常盤豊,

2004

「PET を分解する細菌の発見」吉田昭介, 宮本憲二, 小田耕平, 2016

「微生物合成ポリエステル製の土壌中での生分解とコンポスト化」恵谷浩, 尾辻幸枝, 永井達夫, 服部公治, 1997

「バイオベースプラスチックの最近の進歩」岩田忠久,

2017

「生分解性プラスチックの分解方法の開発」群馬県立勢多農林高等学校 理科部, 2018(参照時)

日本バイオマスプラスチック協会 web ページ

http://www.jbpaweb.net/gp/gp_merit.htm 2019.1.19

STOROpack web ページ

<https://www.storopack.jp/> 2019.6.19

「マクファーランドスタンダード」(説明書) シスメックス・ビオメリュー株式会社, 2019.6.13

『あなたの体は9割が細菌』アランナ・コリン, 河出書房新社, 2016

7. 謝辞

本研究を行うにあたり、直接ご指導いただいた後藤裕市先生、橋口晃亮先生、熊本県立大学環境共生学部環境共生学科松崎弘美先生に感謝申し上げます。また、SLEEP SCIENCE CHALLENGE として英語での発表の機会を提供していただいた筑波大学・国際統合睡眠医科学研究機構 (IIIS) の皆様にお礼申し上げます。