

研究班番号【 49 】
乳酸菌は生きたまま腸に届くのか

生物班: 奥村 美結、菊地 珠々、櫛田 わかば

Abstract

The purpose of this study is revealing whether lactic acid bacteria can tolerate the acidity of gastric fluid. The research shows that lactic acid bacteria can tolerate a certain pH. It also shows that acid tolerance differs depending on the type of lactic acid bacteria. Therefore, this study shows that the acid tolerance of lactic acid bacteria differs depending on the place where they live in. That some lactic acid bacteria may be able to tolerate the acidity of gastric fluid can be thought.

要約

本研究の目的は、乳酸菌が胃液の酸に耐えられるのかを明らかにすることである。実験によって、乳酸菌はある一定のpHには耐えられることがわかった。また、乳酸菌の種類によって酸の耐性が異なることもわかった。したがって本研究では、乳酸菌は生息する環境によって酸の耐性が異なっており、食品によって胃液に耐えられる乳酸菌がある可能性があるということが考えられた。

1. はじめに

乳酸菌が私たちの体の健康に良いことを知り、興味を持った。酸性に弱い乳酸菌を塩酸を用いた培地で培養し、胃液のpHに耐えられるかどうかを調べることにした。また、乳酸菌の種類によって耐えられるpHが異なるのではないかと考え、3つの発酵食品から培養した乳酸菌の酸に対する耐性も調べることにした。

2. 研究手法

実験1 シャーレ18枚分

実験2 シャーレ18枚分

試薬	質量(g)	試薬	質量(g)
蒸留水(食塩水)	400	塩酸	
蒸留水(培地用)	420	蒸留水(塩酸用)	
塩化ナトリウム	3.40		
R-1	0.50		
ぬか	0.50		
キムチ	0.50		
寒天粉末	6.72		
MRS培地粉末	23.1		
*炭酸カルシウム	4.20		

《実験1》

- ①蒸留水と食塩を混ぜ、0.85%の食塩水を作る。
- ②各試料を含む試験管に①の食塩水を10mL入れ、懸濁する。
- ③②の各試験管から1.0mL取り、別の試験管に入れ、①の食塩水を9.0mL加え、1、10、 10^2 、 10^3 、 10^4 、 10^5 と順次希釈列を作成する。
- ④MRS寒天培地を作る。三角フラスコに蒸留水、寒天粉末、MRS培地粉末、炭酸カルシウムを入れ完全に溶けるまで混ぜ、オートクレーブで15分滅菌する。

⑤④で作成したMRS寒天培地の半分(1枚あたり約20mL)と③で作成した懸濁液をそれぞれシャーレに流し込み、よく混ぜる。

⑥⑤の残りのMRS寒天培地(1枚あたり約20mL)を全てのシャーレに流し込みよく混ぜる。

⑦37℃で3日間培養する。

*炭酸カルシウムは発生したコロニーが乳酸菌のコロニーであるかを判別するために用いる。炭酸カルシウムを添加した培地は白濁するが、乳酸の生成によりコロニー周辺の炭酸カルシウムが溶解しクリアゾーンが見られるようになる。

《実験2》

①塩酸と蒸留水を混合しpH1～6の溶液を作る。

②実験1と同様に寒天培地を作る。

③実験1で培養した各試料10²の培地から生えたコロニーを取り、10mLの食塩水で懸濁する。

④②の各試料6枚の培地に③の溶液を0.1mL塗りつける。

⑤④の培地に①の溶液をそれぞれ0.1mL塗りつける。

⑥37℃で3日間培養する。

《実験3》

①実験1と同様に寒天培地を作る。

②各試料を実験1と同様の手順で1/100に希釀する。

③②の各試料0.1mLを①の培地に塗りつける。

④実験2で用いたpH1～6の溶液をそれぞれ0.1mL塗りつける。

⑥37℃で3日間培養する。

3. 結果

《実験1》

R-1の培地は全て0.1mmほどの小さいコロニーが発生した。ぬか、キムチは1、10倍に希釀した培地のみカビが生え、それら以外はコロニーが発生した。

表1<実験1でのコロニーの発生の有無>

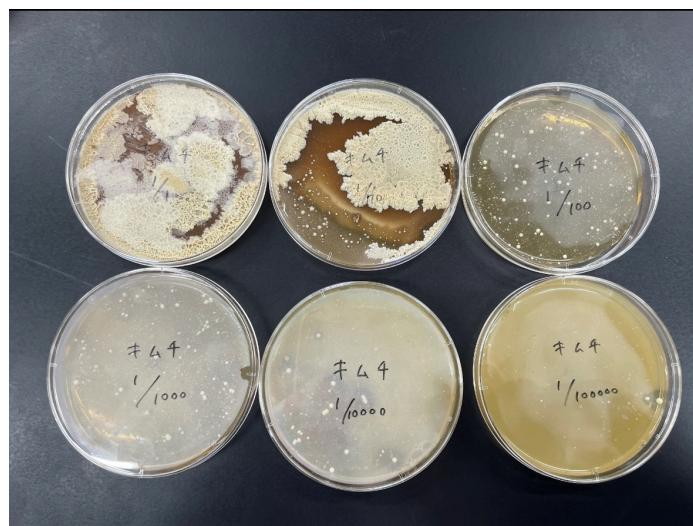
	1倍	10倍	10 ² 倍	10 ³ 倍	10 ⁴ 倍	10 ⁵ 倍
R-1	○	○	○	○	○	○
ぬか	×	×	○	○	○	○
キムチ	×	×	○	○	○	○

図1<寒天培地の様子>



R-1

ぬか



キムチ

《実験2》

全ての培地でコロニーが見られなかった。

《実験3》

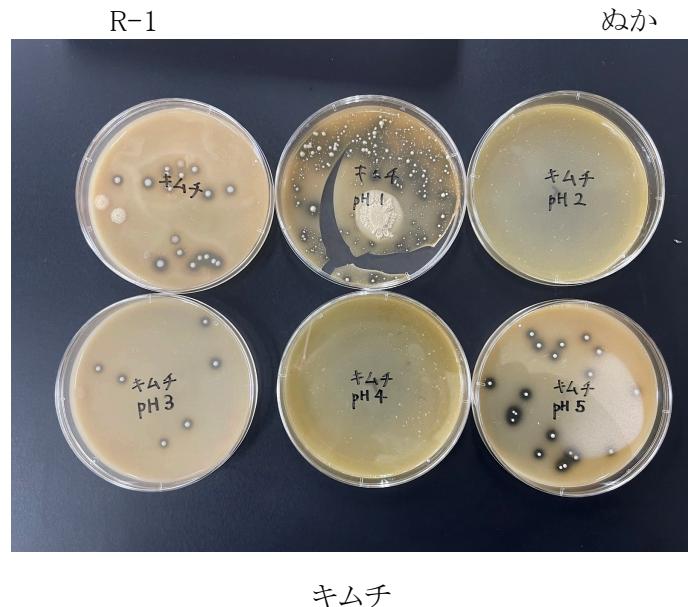
R-1の培地では全てコロニーが発生した。ぬかではpH5以下の培地以外でコロニーが見られ、キムチではpH2,4の培地以外でコロニーが見られた。

表2<実験2でのコロニーの発生の有無>

	pH1	pH2	pH3	pH4	pH5	pH6
R-1	○	○	○	○	○	○
ぬか	○	○	○	○	✗	○
キムチ	○	✗	○	✗	○	○

図2<寒天培地の様子>





キムチ

4. 考察

《実験1》から食品には生きた乳酸菌が含まれており、食品から乳酸菌の単離が可能だということが分かる。また、1, 10倍に希釈したぬか、キムチの培地ではコロニーが見られなかったことから、ぬか、キムチは乳酸菌だけではなく、乳酸菌よりも生命力の強い他の微生物が多く生息していると考えられる。《実験2》は試料に含まれている栄養分が培地内になく、乳酸菌が生息できる環境になかったため、乳酸菌が培養できなかったと考えられる。《実験3》では塩基性である炭酸カルシウムと塩酸が中和反応を起こし、乳酸菌に酸のダメージが与えられなかったため、胃酸のpH値であるpH1~2の環境でも乳酸菌が死滅せず、コロニーが見られたのだと考えられる。また、乳酸菌は酸性である発酵食品に多く含まれていることも酸に耐えられた理由だと考えられる。

5. 結論

乳酸菌の摂取を目的とした乳酸菌食品には含まれている微生物の多くが乳酸菌であるが、発酵食品には、乳酸菌以外の微生物が多く含まれている。乳酸菌はある程度の酸の耐性を持っているが、含まれている食品によって乳酸菌の種類が異なっており、乳酸菌によって酸の耐性が異なる。従って胃液に耐えられる乳酸菌があるのではないかと結論づける。今回の研究では乳酸菌に直接酸のダメージを与えることができなかったため、炭酸カルシウムなどの塩基性の物質を用いて乳酸菌の単離ができないか研究していきたい。また、より多くの試料を用いて研究を進めていく。

6. 参考文献ならびに参考Webページ

岐阜県立恵那高等学校「腸まで届く乳酸菌は本当に腸まで届くのか」

<https://school.gifu-net.ed.jp/ena-hs/ssh/H31ssh/sc3/31919.pdf>

熊本県立宇土中学校・宇土高等学校「MRS 培地を用いた乳酸菌の単離」

<https://uto-sh.com/download/ssh-d/2021-12-25-16-15-04/123-mrs/file.html>

社団法人日本食品化学工学会「食品からの乳酸菌の分離・簡易同定に関する操作」

https://fmric.or.jp/ffd/ffmanual/100755_suzukic.pdf

東京農業大学 生命科学部 分子微生物学科

https://www.jstage.jst.go.jp/article/jslab/30/1/30_3/_pdf/-char/ja

国立大学法人信州大学

<http://fiber.shinshu-u.ac.jp/biotech/MAT/cells%20alive/cells.html>