

漬物に含まれる乳酸菌の単離と pH に対する生育の違いについて

理数科 2 年 山本 伊吹 松下 凜乃
岩崎 新 橋 優来
指導教諭 楠橋 庸子

Abstract

A pickle is a kind of preserved food Japanese people eat in a daily life. Our research is to isolate lactic acid bacteria in pickle sauce. In order to confirm the isolation, we tried to cultivate the lactic acid bacteria. Through the experiment, we took the bacteria out of pickle sauce and then put it into the medium which we made by ourselves. As a result, we found that the bacteria was actually divided into many pieces. In the future research, we want to figure out whether lactic acid bacteria can be living in our body.

1 目的

菌活で注目を集めている漬物に含まれる乳酸菌を、オリジナル培地で単離する。オリジナル培地を作成するにあたり、ぬか漬からヒントを得て米ぬかの抽出液を用いる。単離した乳酸菌の pH に対する性質を調べ、生体内での効果について考える。

2 実験方法

(1) 乳酸菌の単離用培地の作成

蒸留水に 1% の米ぬかを加え、これを 120℃ で 3 分間オートクレーブにかけ、ろ過したものを「米ぬか抽出液」とする。この抽出液に表 1 を加え、調整したものを「米ぬか抽出液寒天培地」とする。

表 1 米ぬか抽出液寒天培地

グルコース	1%
コンソメ	1%
炭酸カルシウム	0.5%
寒天	1.5%

(2) 分離源と培養条件

市販の漬物（たくあん、なす漬）の上澄み液を 1/100 まで希釈したものを分離源とする。培養器を 40℃ に設定し、約 5 日間培養する。保存用の培地には乳酸菌培養用の MRS 培地を用いる。

(3) 乳酸菌の確認方法

乳酸菌が生成した酸は培地中の炭酸カルシウムと反応して、培地が透明に抜ける。このことからシャーレに透明なコロニーが現れると、乳酸菌が生育できたと判断する。乳酸菌はグラム陽性菌のためグラム染色により濃紫色になる。よって単離した乳酸菌をグラム染色する。

(4) pH に対する性質

乳酸菌培養用の MRS 液体培地に HCl と NaOH を加えて、pH 1, 4, 7, 12 に調整する。調整した培地に単離した乳酸菌を加えて、どの pH で乳酸菌が生育するか確かめる。

3 結果

図 1 より透明に抜けたコロニーが多数確認でき、単離した細菌をグラム染色した結果(図 2)、いずれも濃紫色に染まった。以下たくあんから単離した菌を TB 菌、なす漬から単離した菌を NC 菌と略す。pH については TB 菌も NC 菌も pH 1, 12 の培地では生育できず、pH 7 ではいずれも生育できた。しかし pH 4 では TB 菌のみ生育でき、NC 菌は生育できなかった。

4 考察

図 1 より、米ぬか抽出液を用いたオリジナルの培地から乳酸菌を単離できることがわかった。図 2 の乳酸菌の形状から TB 菌は桿菌 (*Bacillus*)、NC 菌は球菌 (*Coccus*) が単離できたことがわかる。また、それぞれ形状の違いから種類が異なると示唆される。pH に対する感受性も TB 菌と NC 菌で異なることがわかった。

5 結論

米ぬか抽出液寒天培地は漬物に含まれる乳酸菌を単離するのに適している。単離した乳酸菌は漬物の種類によって異なり、その性質も異なる。

6 参考文献・謝辞

- 『乳酸菌実験マニュアル 一分離から同定まで』 小崎 道雄監修 朝倉書店
- 乳酸菌の分離技術についてご指導していただきました、愛媛大学大学院農学研究科生命機能学専攻応用生命化学コース微生物学教育分野 阿野 嘉孝先生他、研究室の皆様へ感謝の意を表します。

米ぬか抽出液で調整

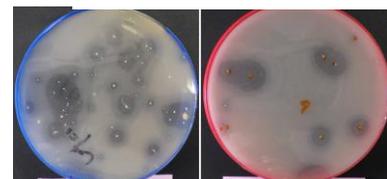
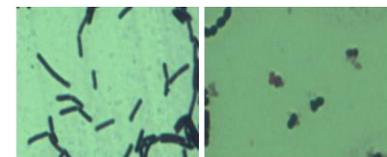


図 1 米ぬか抽出液培地で単離した乳酸菌



たくあんより単離した乳酸菌 (TB 菌) なす漬より単離した乳酸菌 (NC 菌)

図 2 グラム染色による乳酸菌の確認