

～飲料と乳酸菌の関係を探る～

# pHの変化が及ぼす乳酸菌の生育条件の検証

## 要旨

今回の実験は主目的を達成するための下準備のようなものであったが様々な発見や考察ができた。現時点ではR-1 乳酸菌がpH:2の環境下でも生きていくということがわかった。しかし、1/10倍の濃度以降の乳酸菌からはpH:2のほうでのペトリフィルムにおける反応がはっきりしていた。また、特にpHを設定していないMRS培地から採取した1/100倍の濃度の乳酸菌においてペトリフィルムにおける反応がはっきりとしないということがわかった。

## 1. 目的

昨年度、ルミテスタースマートを用いて身の回りにおける細菌の研究を行った。今年度は、その継続研究として菌を乳酸菌に絞り「pHが乳酸菌にどのような影響をもたらすのか」そして「乳酸菌と相性の良い飲料はあるのか」ということを目的とした。この中間発表に当たっては乳酸菌の最適な培養方法とpH:2における乳酸菌の変化を調べた。

## 2. 方法

試薬等	質量(グラム)	乳酸菌単離用試薬	質量(グラム)
蒸留水(培地用)	640.00	R1乳酸菌	適量
MRS培地粉末	35.20	蒸留水(0.85%食塩水)	適量
炭酸カルシウム	6.40	塩化ナトリウム	適量
寒天粉末	10.24		

### MRS培地の作成方法

- ①ビーカーに上の表にあるものを入れてよく混ぜて、オートクレーブで15分滅菌する。(121°C 2Pa)
- ②滅菌が完了したMRS培地の液をプラスチックシャーレに適量注ぐ。
- ③よく固まるまで待ち、蓋についた水分が培地に滴下しないようにひっくり返す。

### MRS培地への乳酸菌の塗抹及び培養方法

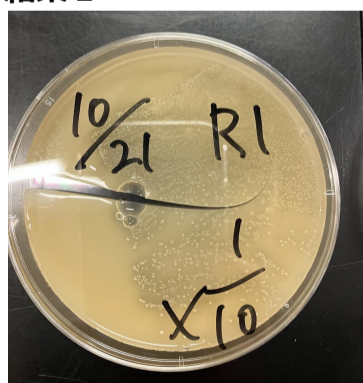
- ①0.85%食塩水の準備
- ②食塩水に1倍、1/10倍、1/100倍、1/1000倍の希釈で乳酸菌を加える。
- ③完成した液を準備しておいたMRS培地にクリーンベンチ内に塗抹する。
- ④37°Cで5日間培養する。

### ペトリフィルムでの乳酸菌の陽性確認の判定方法

- ①0.85%食塩水の準備。
- ②クリーンベンチ内でシャーレから乳酸菌を採取し1.5mlの食塩水で満たしたマイクロチューブに入れる。pH試液に関しては乳酸菌を溶かした0.5mlの食塩水に対し1.0mlを入れる。
- ③再びクリーンベンチ内でペトリフィルムにマイクロチューブ内の液を加える。

## 3. 結果

### 結果1

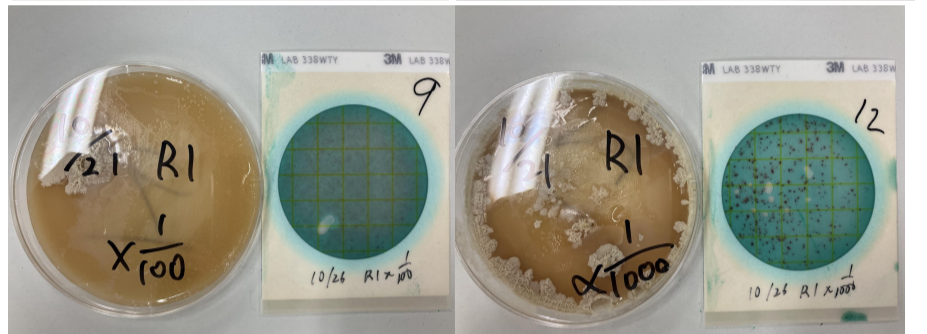
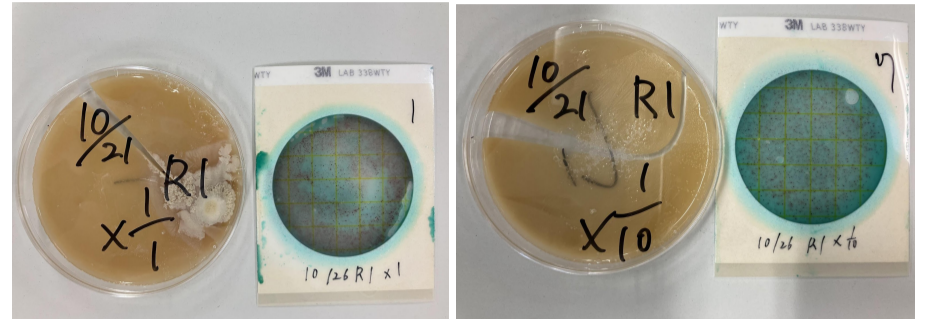


↑コロニーの形成が見られた

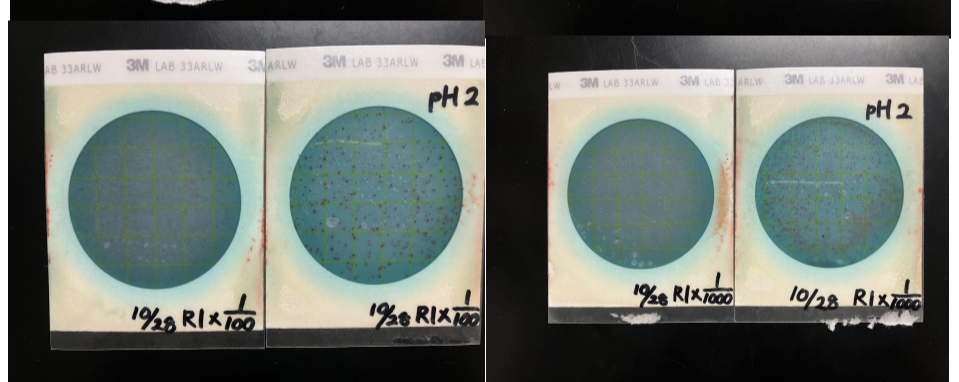
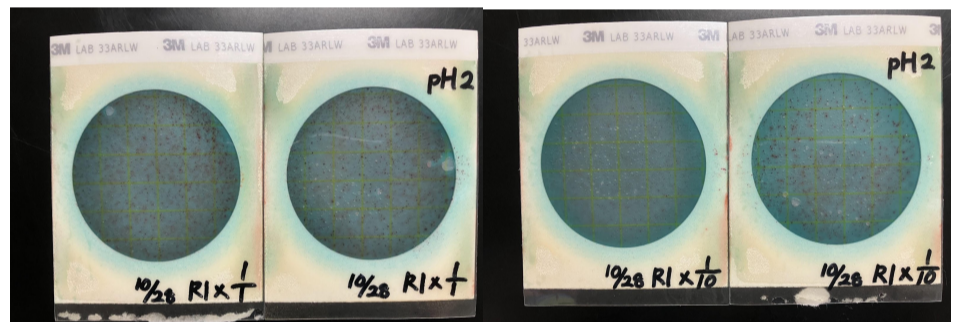


↑コロニーの形成をはっきりと確認することはできなかった

### 結果2



### 結果3



## 4. 考察

### 結果1

この結果からこれからの乳酸菌の培養にはR1 乳酸菌を使用することにした。(濃度ごとに4枚のシャーレ合計32枚で実施したが写真は一部省略する)

### 結果2

乳酸菌1/100倍濃度の液を入れたペトリフィルムにおいてその他の濃度の乳酸菌液よりも反応がはっきりしなかった。このことより1/100倍濃度では乳酸菌はあまり繁殖しにくいという仮説を立てた。

### 結果3

1/10倍、1/100倍、1/1000倍の濃度からは何もpHを設定していないペトリフィルムと比べて、pH:2に設定したペトリフィルムの方が、乳酸菌の反応がはっきりしていた。これより、1/10倍濃度からはpH:2の環境下のほうが乳酸菌は繁殖しやすいのではないかという仮説を立てた。

## 5. 今後の展望

今回の実験では発見が多かった。データとして価値のあるものにするために回数を重ねなければならない。そのために、作業の効率化を最重要課題としてこれからも頑張っていきたい。

## 6. 参考文献

MRS 培地を用いた乳酸菌の単離 Isolating a Lactobacillus by MRS Culture Medium SSH課題研究論文集2022.7月