

# 乳酸菌を酸から守る方法について

班員 浅野 歩、立川 悠花、戸澗 有珠佳、山崎 悠聖  
担当教諭 小路 智司

キーワード：乳酸菌、コーティング、人工胃液

We researched the effective way to protect lactic acid bacteria from gastric juice. We coated lactic acid bacteria with chocolate, cake syrup, or honey. We soaked each of them to artificial gastric juice. Then, more lactic acid bacteria survived. Also, chocolate was the most effective of the three. We considered it was related to the fact that chocolate hardens easily and contains oil.

## 1 はじめに

乳酸菌は酸に弱いといわれているが、腸まで届くというフレーズの宣伝がある。しかし、腸まで届くまでに乳酸菌は強酸の胃液のある胃の中を通る。そこで、どうすれば乳酸菌を生きたまま腸に届けることができるのか調べるために実験を行った。

先行研究では、チョコレートで乳酸菌をコーティングすると、人工胃液に入れたときに生存率が高くなったと報告されている。

## 2 材料

食塩水：水1000ミリリットルに対して塩化ナトリウムを2.0グラム入れ、十分に混ぜ合わせた。

人工胃液：水1000ミリリットルに対して塩化ナトリウム2.0グラムを入れ、塩酸でpHを1.8に調整した。

液体培地：水300ミリリットルに対して、トリプトン3.0グラム、酵母エキス1.5グラム、塩化ナトリウム3.0グラムを混ぜ、オートクレーブを使い120度で20分滅菌した。

乳酸菌：市販のフジッコ カスピ海ヨーグルト種菌セットを使用。

チョコレート：市販の森永製菓 ダース〈ミルク〉を使用。

ハチミツ：市販のものを使用。

ケーキシロップ：市販の朝日 ケーキシロップを使用。

## 3 方法

### 【実験Ⅰ】

目的：乳酸菌が酸に弱いことを確かめること。

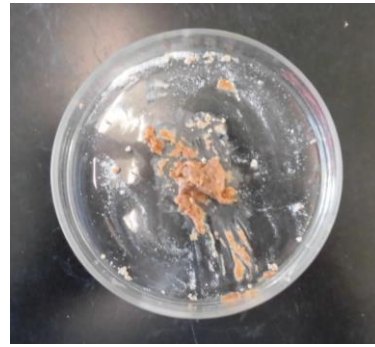
方法：人工胃液に乳酸菌を入れた場合と、人工胃液に入れずに液体培地で培養した場合の濁度を比較した。対照実験では、人工胃液の代わりに食塩水を用いても実験を行った。乳酸菌1.0グラムを人工胃液50ミリリットルに入れて1時間後と2時間後の2回マイクロピペットで3.0マイクロリットル取り出し液体培地10ミリリットルに入れた。対照実験として、乳酸菌を1.0グラム食塩水50ミリリットルに入れて、同様に1時間後と2時間後の2回マイクロピペットで3.0マイクロリットル取り出し液体培地10ミリリットルに入れた。液体培地に入れて1日培養し、翌日濁度測定を行った。平均をとるため、人工胃液は試験管2本ずつ作り、濁度は1本につき3回ずつ測定した。ブランクには乳酸菌を入れず、雑菌の増殖を防ぐため冷凍庫に保存した。人工胃液に入れた場合と入れなかった場合の濁度を比

較して、人工胃液による乳酸菌への影響を調べた。

### 【実験Ⅱ】

目的: 先行研究にあるようにチョコレートでのコーティングが人工胃液に入れたときの乳酸菌の生存率を高めることを確かめること。

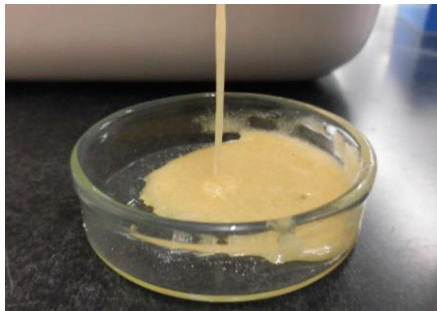
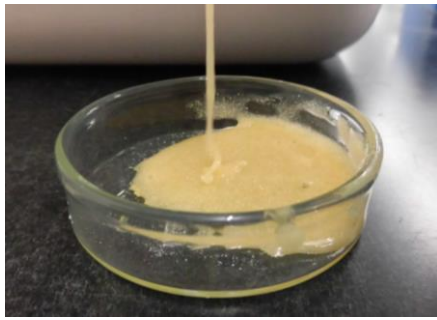
方法: 乳酸菌をチョコレートでコーティングして人工胃液に入れた場合と、入れなかった場合、コーティングせずに人工胃液に入れた場合の濁度を測定し、比較した。対照実験では、人工胃液の代わりに食塩水を用いても実験を行った。乳酸菌0.5グラムをチョコレートでコーティングし、人工胃液50ミリリットルに入れて1時間後と2時間後の2回マイクロピペットで3.0マイクロリットル取り出し液体培地10ミリリットルに入れた。対照実験として、同様にチョコレートでコーティングした乳酸菌0.5グラムを食塩水50ミリリットルに入れて、同様に1時間後と2時間後の2回マイクロピペットで3.0マイクロリットル取り出し液体培地10ミリリットルに入れた。コーティング無しの場合と濁度を比較するときチョコレート自体による濁度への影響を無くするため、ブランクにはチョコレートを入れて、実験1と同じく雑菌の増殖を防ぐため冷凍庫に保存した。平均をとるため、今回は人工胃液と食塩水の両方を試験管2本ずつ作り、濁度は実験1同様に1本につき3回ずつ測定した。コーティングの定義は、湯煎で融かしたチョコレートをシャーレに広げた乳酸菌にかけて、混ぜ合わせることにした。



### 【実験Ⅲ】

目的: チョコレート以外の食べ物でコーティングすることで乳酸菌を酸から守ることができないか調べること。

方法: 乳酸菌をハチミツとケーキシロップでコーティングし、その他の条件は実験2と同様にして実験を行った。対照実験では、人工胃液の代わりに食塩水を用いても実験を行った。乳酸菌0.5グラムをハチミツ、ケーキシロップでコーティングし、人工胃液50ミリリットルに入れて1時間後と2時間後の2回マイクロピペットで3.0マイクロリットル取り出し液体培地10ミリリットルに入れた。対照実験として、同様にコーティングした乳酸菌0.5グラムを食塩水に入れて、同様に1時間後と2時間後の2回マイクロピペットで3.0マイクロリットル取り出し液体培地10ミリリットルに入れた。実験2と同じくそれぞれのブランクにはハチミツ、ケーキシロップを入れて雑菌の増殖を防ぐため冷凍庫に保存した。平均をとるため、今回も人工胃液と食塩水の両方を試験管2本ずつ作り、濁度は実験1、2同様に1本につき3回ずつ測定した。コーティングの定義はシャーレに乳酸菌を広げて、ハチミツ、ケーキシロップをそれぞれかけて、混ぜ合わせることにした。

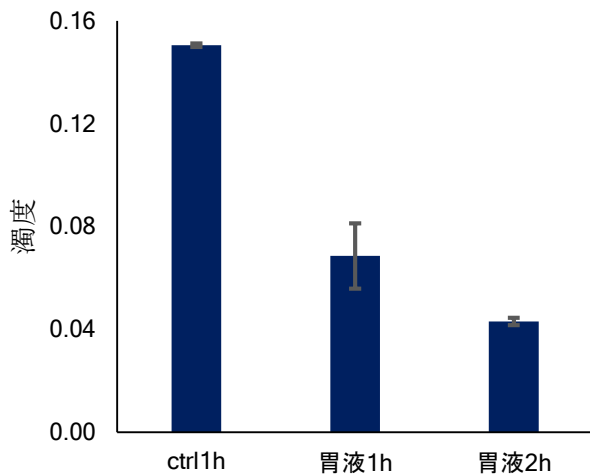


ハチミツ(上)、ケーキシロップ(下)

#### 4 結果と考察

##### 【実験Ⅰ】

濁度		
ctrl	胃液1h	胃液2h
0.15	0.069	0.043



実験Ⅰ

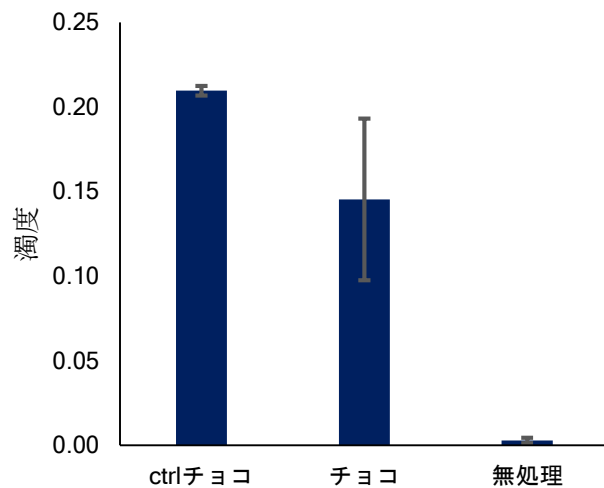
(グラフでは食塩水に入れた場合をコントロール、人工胃液に1時間入れた場合を胃液1h、2時間入れた場合を胃液2hと表記、グラフの縦軸は濁度の数値、濁度はコントロールが3回、胃液がそれぞれ6回計測した平均値)

食塩水に入れた場合の濁度が最も大きくな

り、人工胃液に入れた場合の濁度が小さくなったことから、乳酸菌は酸に弱いことが確かめられた。

##### 【実験Ⅱ】

濁度		
ctrlチョコ	チョコ	無処理
0.21	0.15	0.0028



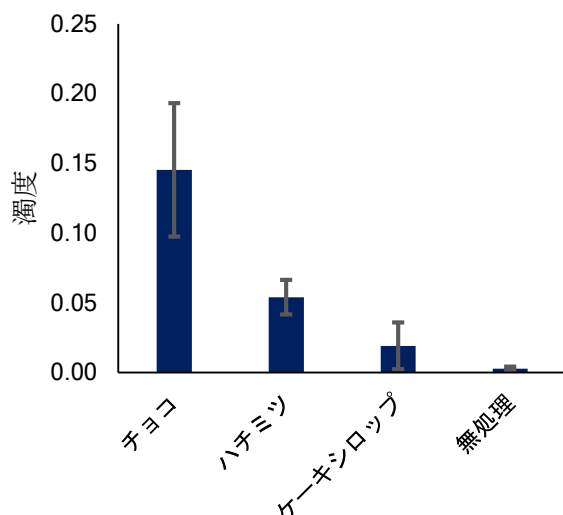
実験Ⅱ

(グラフではコーティングして食塩水に入れた場合をコントロールチョコ、コーティングして人工胃液に入れた場合をチョコ、コーティング無しで人工胃液に入れた場合を無処理と表記、グラフの縦軸は濁度の数値、濁度は全て6回計測した平均値)

チョコレートでコーティングして人工胃液に入れた場合の濁度が、コーティング無しで人工胃液に入れた場合の濁度よりも大きくなったことから、先行研究のとおり、チョコレートでのコーティングが人工胃液に入れたときに乳酸菌の生存率を高めることが確かめられた。

##### 【実験Ⅲ】

濁度			
チョコ	ハチミツ	シロップ	無処理
0.15	0.054	0.019	0.0028



実験Ⅲ

(グラフではチョコレートでコーティングして人工胃液に入れた場合をチョコ、ハチミツの場合をハチミツ、ケーキシロップの場合をケーキシロップ、コーティング無しで人工胃液に入れた場合を無処理と表記、グラフの縦軸は濁度の数値、濁度は全て6回計測した平均値)

ハチミツ、ケーキシロップでコーティングした場合は、濁度がチョコレートでコーティングした場合よりは小さいが、コーティング無しの場合よりも大きくなった。このことから、チョコレートの他に、ハチミツ、ケーキシロップでコーティングすることでも、人工胃液に入れたとき乳酸菌の生存率が高まることが分かった。

実験より乳酸菌は酸に弱いことが確かめられた。また、先行研究のチョコレートでコーティングすることで、乳酸菌を人工胃液に入れたときの生存率が高くなることが確かめられた。加えて、チョコレート以外の物質では、ハチミツ、ケーキシロップでコーティングすることで、程度に差はあるが乳酸菌を人工胃液に入れたときの生存率が高まることが分かった。

チョコレートが最も効果が高い原因としては、ハチミツ、ケーキシロップと比べて固

まることと、含まれている油分に疎水性があることが挙げられる。それによって、乳酸菌が酸の強い人工胃液に触れなかったと考えられる。

## 5 まとめ

これらのことから今後の展望として、チョコレートと同じように、コーティングしたときに固まる物質 (ex.ゼラチン、飴など) や、油分を含む物質 (ex.食用油、マヨネーズなど) で乳酸菌をコーティングして実験を行う。

また、細菌を色素によって染め分ける方法の一つである、グラム染色によって乳酸菌を染色して顕微鏡で見ることで乳酸菌の増加を見る。

- 米島 靖記, 久 景子, 松原 由以子. チョコレートでとる乳酸菌 乳酸菌を腸で活躍させるために. 化学と生物. 56(1). 2018. 47 - 51
- Yasunori Yonejima, Keiko Hisa, Marina Kawaguchi, Hiroaki Ashitani, Toshiyuki Koyama, Yoko Usamikrank, Nayumi Kishida, Shigenobu Kishino, Jun Ogawa. Lactic acid bacteria-containing chocolate as a practical probiotic product with increased acid tolerance. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 4(4), 773-777(2015).