



MRS培地を用いた乳酸菌の単離

～乳酸菌数測定用プレートによる乳酸菌の有無を調べる～

1. 先行研究について

○乳酸菌の培養方法

MRS培地を用いて培養した

乳酸菌とMRS培地とは...

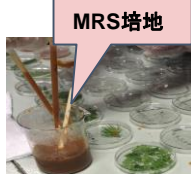
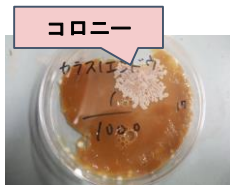
乳酸菌とは、特定の細菌の名前ではなく、生育に必要なエネルギーを得るために糖を分解して大量の乳酸を作り出す細菌の総称

●乳酸菌の種類

Lactobacillus属菌 Streptococcus属菌
Leuconostoc属菌 Lactococcus属菌
Pediococcus属菌 Enterococcus属菌

→今回は先行研究と同じく、一般的な乳酸菌で自然界に多く生息する

Lactobacillus属菌を培養させる。



○乳酸菌の有無の調べ方

牛乳に乳酸菌をいれると固まる原理を利用して、牛乳に培養したコロニーを入れ、固まるかどうかで調べた

2. 今回の研究の目的

先行研究ではヨーグルトは固まったが、本当に乳酸菌かどうかはわからなかったため、**確実に乳酸菌かどうか突き止める**。また、前回は学校に生息している植物を試料に実験したため、今回は身近な果物から乳酸菌を検出することができるか実験する。

3. 乳酸菌と特定する方法

前は...

牛乳に入れて固まるかどうかの実験

今回は...

乳酸菌数測定用プレートを用いた実験



乳酸菌数測定用プレートとは...

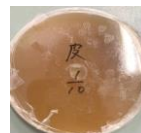
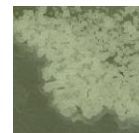
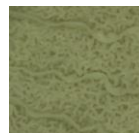
- ・乳酸菌以外の雑菌を抑制し、**選択的に検出**することが可能
- ・フィルム内で無酸素状態を作り出すため酸素をその状態をつくるシステムが不要
- ・48時間で乳酸菌数を測定
- ・気泡の有無により**ホモ型とヘテロ型の区別**が可能

5. 実験結果

○培養(手順④)後のコロニーの有無

	みかん			りんご			レモン		
	皮	実	アルベド	皮	実	種	皮	実	種
1	○	×	○	○	×	×	○	×	×
1/10	×	×	○	×	×	×	×	×	×
1/100	×	○	○	×	×	×	×	×	×
1/1000	×	○	○	×	×	×	×	×	×

※アルベドとはみかんに付いている白い筋のこと。



○培養(手順⑤)後の乳酸菌の有無

みかん・皮 1/1	レモン・皮 1/1	りんご・皮 1/1	みかん・実 1/100	みかん・実 1/1000
○	×	×	○	○
ヘテロ型			ヘテロ型	ヘテロ型
みかん・アル 1/1	みかん・アル 1/10	みかん・アル 1/100	みかん・アル 1/1000	
○	○	×	○	
ヘテロ型	ヘテロ型		ヘテロ型	

ホモ型とは...

乳酸菌のなかでも糖を分解して**乳酸のみ**を作るタイプ。

ヘテロ型とは...

乳酸菌のなかでも糖を分解して**乳酸と酢酸又はアルコール、炭酸ガス**を生成するタイプ。

4. 実験方法

① 水にMRS培地を溶解し、それに寒天と炭酸カルシウムを加え、**オートクレーブ滅菌**する。

※オートクレーブとは、真空内に対象物を入れ、水蒸気で加熱して滅菌する装置

② 乳酸菌を取りだすための試料であるりんご、みかん、レモンを種、皮、実(みかんはアルベド※白い筋、皮、実)に分け、0.5gずつ取って食塩水で試料の成分を溶け出させる。

③ ②で作った懸濁液を1倍、10倍、100倍、1000倍の薄さに希釈する。

④ ③で作った全36個のシャーレに①を入れ、多くの乳酸菌が増殖しやすい温度である37°Cで培養する。

※一般に乳酸菌の生育温度は30~37°Cで、多くの乳酸菌が37°Cで良好に増殖するから。

⑤ プレートに④のコロニーを接種し、37°Cでさらに48時間培養する。 ※コロニーが形成されたもののみ

6. 考察

- ・MRS培地によって試料(りんご・みかん・レモン)の部位ごとに乳酸菌を単離させ、コロニー形成の有無を確認することができたことから、果実の部位ごと乳酸菌の分布が違うことが考えられる。
- ・単離した乳酸菌はヘテロ型であったことが考えられる。

7. 展望

今回の研究で果物にも乳酸菌を確認することができたため、食品などに応用していきたいと思えます。

8. 謝辞

本研究を行うにあたって、後藤先生にご教授いただきました。ありがとうございました。

9. 参考文献

食品からの乳酸菌の分離・簡易同定に関する操作

(http://www.fmic.or.jp/fd/fmanual/100755_suzukic.pdf)

実践 有用微生物培養のイロハ 試験管から工業スチールまで

