

**Abstracts**

**Poster Presentation**  
**(High School Students)**

## PH-001

### Antimicrobial effects of various foodstuff for *Escherichia coli*, etc 大腸菌等に対する各種食材の抗菌効果について

○ Ayaka Goto

Teiseigakuen High school

E-mail: wisteria8022@yahoo.co.jp

【はじめに】 前回は納豆菌、対象として手指にいる*Bacillus*属菌を用いた各食材に対する抗菌作用を調べ、わさび、練からし、梅干しに効果があることが分かった。今回は大腸菌のほかサルモネラ菌、腸炎ビブリオ菌等の下痢を引き起こす菌の食材に対する抗菌作用について実験を行った。【材料と方法】 使用した菌は大腸菌、サルモネラ菌、腸炎ビブリオの3種類。食材は梅干し、練からし（イオン／チューブ入り）、ミョウガ（生）、大葉（生）、青じそ（エスピー食品／チューブ入り）、唐辛子（ハウス食品）、スペアミント（生）、パセリ（生）、国産純粋蜂蜜（明治屋）、バジル（生）を使用した。実験に使用する培地は、固形コンソメ、グラニュー糖、粉末寒天を用いて、シャーレで作成した。3種類の菌液を塗った培地の中心に穴をあけて調べる材料を置き、35℃ 24時間好気培養後に阻止円の大きさを計測して抗菌効果を観察した。【結果】 阻止円を測定した結果、梅干しでは、大腸菌30mm、サルモネラ菌29mm、腸炎ビブリオ>60mm。練からしでは3種類ともに>60mm。蜂蜜ではサルモネラ菌40mm、腸炎ビブリオ46mm。また腸炎ビブリオはこれらの材料の他にミョウガ、青じそ、唐辛子でも阻止円が出来ていた。【考察】 大腸菌では梅干し、練からしに抗菌効果が認められたが、他の2菌種では蜂蜜にも効果が認められた。腸炎ビブリオではさらにミョウガ、青じそ、唐辛子にも阻止円があった。前回の実験で使用した納豆菌、手指の*Bacillus*属菌と違い、菌の種類によって効果のある食材が違うことが分かった。梅干しの抗菌効果は梅肉エキスの持つクエン酸と胆汁酸によるもの、練からしは辛み成分が持つアリルイソチオシアネートという物質によるものと考えられた。蜂蜜は過酸化水素、高糖濃度、pHが低いことにより抗菌作用が得られると考えられるが、今回大腸菌では阻止円ができなかった。これは使用した蜂蜜が国産純粋蜂蜜でありマヌカハニーではなかったことが原因と思われるが、再度大腸菌を用いて実験を行う。また各種食材のpHについても調べる。

## PH-002

### Quest for flower yeast ~Measuring fermentative capacity of alcohol~

### 花酵母の探索 ~アルコール発酵能の測定~

○ Kako Uehara、○ Rin Oshiro、○ Seita Shimabukuro、○ Hitoshi Nakamura

Senior High School Affiliated to Showa Pharmaceutical University

E-mail: ybkqs429@yahoo.co.jp

**【目的】** 泡盛醸造において、泡盛への新たな特色(香りや風味)を付加させるため自然界から野生酵母を単離し、醸造に使用する試みが求められている。本研究では、泡盛醸造に適した酵母サッカロマイセス・セレビスエを野生の花から単離し、単離した酵母のアルコール生産能などの有能な特性を見出すことを目的とする。2014年から研究に着手し、セレビスエを選抜するため、スクリーニング法とエタノール定量法の工夫について2年半取り組んできた。2016年、セレビスエを1株(J株)単離することに成功した。2017年以降、J株の特性を評価している。

**【方法】** (研究1:酵母の単離と同定) 野生酵母にスクリーニング(TTC染色試験、顕微鏡観察、アルコール発酵試験)を行い、選抜された候補株の種を特定した。(研究2:J株のアルコール発酵試験) J株の発酵能を評価すべく、101号酵母をコントロールとし、温度条件(30、35、40℃)、pH条件(4.0、3.5)、糖濃度条件(10、20、30、40%)を設定し、アルコール発酵試験を行い、エタノール濃度を比色法と分光光度計で測定した。(研究3: J株の生育試験) J株の糖耐性と浸透圧耐性を評価すべく、101号酵母とS288Cを指標とし、糖濃度条件(20、40%グルコース)、浸透圧条件(1M Sorbitol、1M NaCl)を設定し、30、40℃下で菌の生育実験を行った。

**【結果・考察】** 研究1より、335株の菌株を単離し、サッカロマイセス・セレビスエを1株単離した(J株)。分離源は、リュウキュウボタンヅルである。研究2より、J株は101号酵母と比べて、40℃でもエタノールの上昇があった。また、J株は30℃、35℃の条件においても、発酵速度、最終エタノール濃度ともに101号酵母と比べて、大きかった。研究3より、J株、101号酵母、S288Cの3種ともに高糖濃度(40%)と1M NaClの高浸透圧に耐性が弱く、低糖濃度(20%)と1M Sorbitolの低浸透圧に強い耐性を持つと考えられる。

**【結論・課題】** 野生で希少であるサッカロマイセス・セレビスエを1株選抜することができた。J株のアルコール発酵能については、J株は101号酵母に比べて、最終濃度が同程度あり、高温耐性も有するので、泡盛醸造の実用可能な酵母であると考えられる。またJ株は、低pH耐性や低糖度耐性をもつことが確認できた。今後、J株が産業に活用できるよう、J株の特性を評価すべく、ストレス条件下における生育やアルコール生産能などに関して解析を進める。

## PH-003

### Exploring Functionality of Chocolate Containing Lactic Acid Bacteria through Mouse Intestinal Flora

#### マウス腸内フローラから乳酸菌入りチョコレートの機能性を探る

○ Onozawa Nao

Yamamurakokusai High School Biology Club

E-mail: yamori0511@outlook.jp

【背景】生物部の研究テーマは微生物「真正細菌」である。ここ数年は、マウス腸内フローラや微生物をマーカーとした食品の抗菌効果（機能性）を追求している。生物部の先行研究では、健康食品のマヌカハニーをマウスに投与すると、腸内フローラの善玉菌（乳酸菌）が増加して悪玉菌が減少した。そこで、この腸内フローラの先行研究から、女子に人気のある「乳酸菌チョコ」でも腸内フローラが改善されるのか興味をもった。

【目的】「乳酸菌入りチョコ」は、(株)ロッテから「乳酸菌ショコラ」と森永製菓(株)から「ビフィズス菌チョコレート」と「シールド乳酸菌チョコレート」などが販売されており、それぞれのキャッチコピーも「腸内環境を改善」や「腸の調子を整える」とかいろいろある。ヨーグルトが苦手な人にも、チョコレートであれば手軽に「乳酸菌」を摂取できると考え（仮説）。どの商品が腸内フローラの改善（善玉菌の増加と悪玉菌の減少）を図るのか？マウス腸内フローラから機能性を探ってみた。

【実験計画】メーカーから販売されている「乳酸菌入りチョコ」は多くあるので、女子好みのプレーンな3商品（「乳酸菌ショコラ」・「ビフィズス菌チョコレート」・「シールド乳酸菌チョコレート」）を選んだ。これら「乳酸菌入りチョコ」のマウスへの投与は、餌と水は自由摂取させ、「おやつ」としてヒトの体重60kgあたりメーカー奨励の摂取量に換算して、一日1回2週間連続して投与した。したがって、実験区は3区、対照区は1区の設定となった。試験マウスには6週齢のC57BL/6J（♂）を3匹1区とした。腸内フローラのプロファイル解析はT-RFLP（16SrRNA）法により行った。

【実験予測】「乳酸菌入りチョコ」は、『生きて腸まで届く』とある様に、「乳酸菌ショコラ」や「シールド乳酸菌チョコレート」は善玉菌の乳酸桿菌を増加させるのではないだろうか？また「ビフィズス菌チョコレート」は、70%のカカオポリフェノールの食物繊維も入っているので、これが善玉菌の餌となればビフィズス菌を増加させるのではないだろうか？チョコレートは乳酸菌の保存に適した食材（加工時や加工後、乳酸菌へのダメージが少ない）といわれているので、現在解析中の実験結果は女子必見である。詳細はポスターにて発表する。

## PH-004

### Functionality of Manuka Honey as Observed through Mouse Ulcerative Colitis Model

#### マウス潰瘍性大腸炎モデルから観察したマヌカハニーの機能性

○ Ichika Arai

Yamamurakokusai High School Biology Club

E-mail: yamori0511@outlook.jp

【背景】生物部の研究テーマは微生物「真正細菌」である。ここ数年は、マウス腸内フローラや微生物をマーカーとした食品の抗菌効果（機能性）を追求している。先行研究では、特に高価なマヌカハニー（抗菌活性成分の含有量が多い）には強い抗菌力が存在し、健康食品としての高い機能性（善玉菌の優勢と悪玉菌の駆除）を報告した。しかし安価なマヌカハニーでも、サポート食材との同時摂取により、高価なマヌカハニーと同等な機能性の発揮を腸内フローラから検証した。この新たな機能性の検証により、高価なマヌカハニーに高いお金を払うことなく、安価なマヌカハニーでもセルフケア（健康の維持増進）に適した健康食品であると報告した。

【目的】安価なマヌカハニーとサポート食材による腸内フローラのバランス改善は、本当にマヌカハニーの機能性によるものなのか？今回、マウスにDSS（デキストラン硫酸ナトリウム）を自由摂取させ、潰瘍性大腸炎の誘発により腸内フローラを全てリセットした状態からマヌカハニーと数種類の食物繊維を組み合わせることにより、このマヌカハニーが高い機能性を発揮すると考え（仮説）、マウス腸内フローラから検証を行った。

【実験計画】DSSをマウスに与え血便を誘発した状態（リセットとした）から治療を開始した。治療には、マヌカハニーや食物繊維をヒトの体重60kgあたりの摂取量に換算して、一日1回投与し、糞便のスコア値が改善するまで検証した。また予防では、実験開始からDSSとマヌカハニーや食物繊維を同時に摂取させ検証した。試験マウスには6週齢のC57BL/6J（♂）を36匹使用し3匹1区とした。なお腸内フローラ解析はT-RFLP（16SrRNA）法によった。また、あわせて血液組成（赤血球の減少（貧血）と白血球の増加（炎症））や大腸組織（HE染色による肛門側病変部）と腸内フローラを比較した。

【実験予測】大腸炎の誘発により乱れた腸内フローラでも安価なマヌカハニーと食物繊維の同時摂取により、改善（善玉菌の優勢と悪玉菌の駆除）につながる機能性の発揮を予測している。特に今回は、善玉菌（特にビフィズス菌）の餌となる食物繊維にシクロデキストリンを加えているので、安価なマヌカハニーでも抗菌活性成分が悪玉菌を駆逐し、この食物繊維により善玉菌が増加すれば潰瘍性大腸炎の軽減につながる抗炎症作用が機能するのではと考えている。詳細はポスターにて発表する。

## PH-005

### Microbial community in soil environment at Ohnukidani Park in Kanagawa prefecture, Japan with a special reference to microscopic organismus.

#### 大貫谷公園微生物群集発見・捕獲大作戦－その2

Kanon Miyamoto、Satoshi Morishima、Masahiro Ariga、Reika Shoji

Kokusai Gakuen Education Institute SEISA High School

横浜市旭区に位置する大貫谷公園において、土壌に生息する顕微鏡サイズの微生物に焦点を当て3年前から調査・研究を進めている。土壌微生物の研究は、農業等人間生活と関連の深い微生物を対象に進められてきた。また、細菌群集については当学会でも多くの報告がなされたが、原生動物のような顕微鏡サイズの微生物の生態に関する報告は多くはない。本研究を始めた当初は、計数方法も明らかでないことから、クラスの誰もが等しく一定量の土壌中の微生物の計数値を得る手法を決定して、昨年の本学会で報告した。今回はその方法に基づいて調査した大貫谷公園の微生物群集の構成について、公園における地形環境の異なる6採取地点において微生物の検出を行ない、環境との関連をもとに微生物群集の差異を明らかにしようとしたものである。得られた結果と、発見された微生物の種類に関して報告する。

春休みと授業の比較的少ない時期に4回(3/9、4/12、4/17、4/26)土壌試料を採取して計数した。今回用いた土壌は上部のリター層を取り除いた、A層の上部5cmである。土壌の微生物群集を1人ですべて計数することは専門家でも容易ではない。特に古い土壌が保存されている都市緑地公園における微生物相はまだ全容も明らかにされておらず、個々の微生物の識別も容易ではない。また、計数に際して繰り返しの顕微鏡観察により、一人ですべてを検鏡・記載するには時間的にも多大の労を要する。そこで本報では度重なる計数においてすべての計数者が発見できる微生物を選び出し、1人が2種類ずつを担当して計数した後、それを合算したものを微生物数として、変動要因を考察することとした。検討した微生物は(1)センチュウ・ヒルガタワムシ(2)ナベカムリ・ツボカムリ(3)フクロワムシ・アメーバ(4)センチュウ・ストケシア(5)フクロワムシ・ヒルガタワムシ・ベンモウチュウである。これら(1)～(4)については4人で採取試料ごとに担当微生物を順次変更した。(5)に関しては近村英子教諭がすべての試料に関して計数した。また環境要因に関しては、採取時に気温・地温を、採集した試料に関して理科室に戻ってpHを測定したが、有機物量に関する分析も予定である。6地点は公園における位置づけが異なり、また構成する樹種も異なる。同定困難な微生物も数多く見出されたので、その写真も合わせて報告する。