

牛乳中の乳糖を乳酸菌が分解し、乳酸発酵を行うことでヨーグルトが生成される。牛乳を飲むと、乳糖不耐(乳糖を摂取することにより発症する下痢などの症状)を起こす人がヨーグルトを摂取しても別状がないのはこのためである。また、乳酸菌が乳酸発酵を行うことで酸を生成することから、ヨーグルト自体が酸性になり、腐敗菌や病原菌が増えるのを防ぐため、牛乳よりも長持ちすることが知られている。

今回行った中和滴定について

乳酸菌により生成された乳酸と水酸化ナトリウム水溶液の中和滴定により乳酸の定量を行った。なお、使用した1%水酸化ナトリウム水溶液は0.1mol/L シュウ酸標準水溶液を用いて予め濃度決定を行った。この中和滴定の滴定量は、乳酸菌が殺菌された度合いで決まる。滴定量が少ないほど乳酸菌が殺菌されたことになるので、その製品の殺菌効果が高いことになる。

使用した製品

日本薬局方 消毒用エタノール

成分：日本薬局方エタノール 83mL/100mL 中
内訳：エタノール 76.9~81.4vol%含有

試料 A ハンドソープ(無添加)

MIYOSHI せっけん泡のハンドソープ

成分：水(機能維持成分)、カリ石ケン素地(洗浄成分)

試料 B 薬用ハンドソープ

キレイキレイ 薬用液体ハンドソープ

成分：イソプロピルメチルフェノール(有効成分)、グリセリン、ラウリン酸、ソルビット液、ミスチリン酸、水酸化 K、アクリル酸アルキル共重合体エマルション-2、モノエタノールアミン、ポリスチレンエマルション、香料、EDTA、安息香酸塩

試料 C 薬用ハンドソープ

SARAYA 薬用 BVR ハンドソープ(Pa)

成分：イソプロピルメチルフェノール(有効成分)、エデト塩酸、香料

なお、試料 A、B、C はいずれもカリ石鹼である。この4種類の製品と純水で実験を行った。

今回使用した乳酸菌について

乳酸菌(ホモ型乳酸菌)

ブルガリア菌

L.Derbrueckii subsp.bulgaricus

サーモフィラス菌

St.thermophilus

ビフィズス菌(ヘテロ型乳酸菌)

Bifidobacterium lactis LKM512

また、前述した通り、ヘテロ型発酵を行うビフィズス菌も今回の実験の条件下では乳酸のみを生成する。また、気温が30℃を超える夏に実験を行う場合でも、室温で乳酸発酵が行われないように、発酵温度が40℃~45℃のものを使用した。

今回使用した牛乳について

北海道 3.8 牛乳

主な成分：水分 108.4g、タンパク質 6.8g、脂質 8.3g、炭水化物 9.5g、無機質ナトリウム 79 mg、カルシウム 230 mg

(栄養成分表示 製造者調べ)

なお、今回使用した牛乳は季節により、含まれるタンパク質の量が変化するが、1度の実験では同じ牛乳を使用したため、各実験内での結果には影響を与えていない。

今回使用したヨーグルトメーカーについて

ヨーグルトメーカー

ユーグルティア (株) タニカ電器

実験 I (手順)

試料 A、B、C の原液にそれぞれヨーグルト種菌を加え、さらに牛乳を加えたものの pH を測定した。

結果 I

	試料A	試料B	試料C
原液+種菌+牛乳 のpH	6.7	7.0	6.8

乳酸菌増殖可能 pH : 4.0-8.0

乳酸菌増殖最適 pH : 6.0-7.0

表 1 : 25°Cで発酵開始時の pH

考察 I

実験 I では、後の実験 II を行う上で、ハンドソープを加えた牛乳で乳酸菌が乳酸発酵を行えるかを確認するために行った。乳酸菌が最も乳酸発酵を行うのは、液内の pH が中性の時である。(表 1 参照) また、もし液内が塩基性を示すとき、乳酸発酵は行われぬ。表 1 において、原液+種菌+牛乳の pH が試料 A、B、C、のいずれも乳酸菌増殖最適 pH 内に収まっているので、pH の観点においては、牛乳で殺菌効果を抑えた後、乳酸発酵を乳酸菌が行ったと考えられる。

実験 II (試料、種菌、牛乳の組み合わせ)

- ① 牛乳のみを保温 (空気中に存在する乳酸菌のみで乳酸発酵を行う)
- ② 牛乳+ヨーグルト種菌を保温 (通常通りのヨーグルトを生成)
- ③ 「牛乳+試料」+種菌
- ④ 「種菌+試料」+牛乳

なお、③、④は牛乳、試料、種菌を入れる量は同じで順序が異なる。試料とは、今回の実験で比較するハンドソープ等のことである。また、牛乳は有機物であり、多量の有機物を加えると、殺菌剤の作用が停止されることが知られている。このことから、③は殺菌剤の作用が失われた試料に、ヨーグルト種菌を入れることになる。④はヨーグルト種菌を各試料で殺菌した後牛乳を加え、殺菌剤の作用を停止させている。

③、④の作用時間 : 0 分~90 分 (30 分毎)

③は、牛乳と各試料を混ぜたもの自体が乳酸菌に与える効果を調べるために用意した。

実験 II (主に④での手順)

- 1、器具の乾熱滅菌を、250°Cで 90 分間行った。その際、ほこり等が器具に付着しないように器具にアルミホイルをかぶせた。
- 2、ヨーグルト種菌を 0.1g 量りとり、サンプル

管に入れた。

- 3、各試料 2ml をそれぞれのサンプル管に入れ、30 秒攪拌した後、25°Cに保たれたヨーグルトメーカーの中でそれぞれの時間 (0 分、30 分、60 分、90 分) 静置した。
- 4、牛乳 48g を入れ、殺菌剤の作用を停止させた。その後、アルミホイルで蓋をした。
- 5、40°C、9 時間でセットしたヨーグルトメーカーの中に、サンプル管を入れ、乳酸発酵させた。
- 6、5 の生成物をろ過し、ろ液を集めた。
- 7、各ろ液を 5 倍希釈し、その液 10ml と、シュウ酸標準溶液を用いて濃度決定を済ませておいた水酸化ナトリウム水溶液での乳酸量の定量 (中和滴定) を各液 3 回ずつ行った。

なお、各試料、1~7 の操作を 3 回行った。

結果 II

5 種類の試料の結果のグラフと、グラフの説明を表 2~表 7 に示した。

殺菌効果、増殖抑制効果、相加効果について

表 2 で示した③のラインは、試料の組み合わせ③の乳酸生成比である。③は牛乳により殺菌剤の作用が停止された試料にヨーグルト種菌を入れたので、殺菌効果は見られないが、殺菌効果以外で、乳酸量を減少させる効果が見られた。この効果を、**増殖抑制効果**と名付けた。また、表 2 で示した④の記号は、試料の組み合わせ④の乳酸生成比である。④では乳酸菌に働くすべての効果が見られるので、**相加効果**と名付けた。以上より、相加効果から増殖抑制効果を引いた分の効果を、**殺菌効果**と定義した。これにより、一般的に私たちが殺菌効果と認識していた効果は、実は、殺菌効果と増殖抑制効果を合わせた、相加効果であることが判明した。

考察 II

表 3 より消毒用エタノールには、殺菌効果と増殖抑制効果がどちらも均一に見られたことが分かる。表 4 で、純水には、増殖抑制効果が見

られなかったが、緩やかな殺菌効果は見られた。このことから、純水で手を洗うだけでも、洗浄効果の面だけではなく、殺菌効果の面でも意味があることがわかった。また、純水の殺菌効果は、浸透圧によるものだと考えられる。表5の通り、試料Aの結果はバラつきが見られたため、再現性がないデータとなった。原因として、この試料Aは無添加ハンドソープであるため、コロイド溶液であるハンドソープの濃度を均一にする添加物が含まれていないことから、3回の実験の中でハンドソープの濃度に差が出てしまったのではないかと考えられる。なお、他の試料では結果に有意差は出ていない。再現性が低いデータであるが、④の結果が③の結果の間に位置していることから、おそらく試料Aには殺菌効果はないと考えられる。表6から、試料Bには、純水と同様に、増殖抑制効果は見られず、時間の経過に伴って、殺菌効果は現れたことが分かった。表7で、試料Cでは、増殖抑制効果がかなり見られたことから、殺菌効果が見えづらくなっていた。乳酸菌を増やして実験を行えば、相対的に増殖抑制効果が下がるため、具体的な結果が得られると考えられるが、有効成分が試料Bと同じであるので、最終的には試料Bの90分後の結果と同程度の殺菌効果を示すと考えられる。

各製品の製品コンセプトについて

各試料の90分後の結果を比較し、表8に示した。それにより、各試料で見られた殺菌効果、増殖抑制効果のそれぞれの結果に差が生じていたことが分かった。このことを製品コンセプトという観点で考察してみることにした。そうすると、消毒用エタノールは、「殺菌・消毒」を目的としているため、二つの効果が均一にみられ、試料Aハンドソープは、「無添加」であることから、殺菌剤が含まれておらず、殺菌効果を示さなかったのではないかと考えられる。同様に考えると、試料Bの薬用ハンドソープは、「ばい菌バリア、常在菌保護」を製品コンセプトとしている通り、時間の経過に伴って緩やかな殺菌効果が見られたのではないかと考えられ

る。また、試料Cは、「広範囲のウイルス細菌除去」を目的としているため、石鹼主剤、有効成分が同じ試料Bよりも増殖抑制効果はるかに高くなるような添加物が含まれているのではないかと考えられる。

時間の経過と現れる効果の関係について

今回の実験で使用したヨーグルト種菌というのは、乳酸菌のコロニーであるため、分解してから殺菌される。その分殺菌に時間がかかるため、実験を最大90分まで行った。それに対して、実際手に付着している菌は分解するという過程を必要としない。故に今回の実験に要した時間よりもはやく殺菌されると推測できるが、長時間手を洗うことで、より効果が期待できると思われる。逆に今回の実験においては、手に付着している菌を殺菌に時間を要するヨーグルト種菌に見立てることで、乳酸量と時間の経過の関係が見やすくなり、各試料で見られる効果の差もわかりやすくなっているといえる。

結論

滴定手法で試料のヨーグルト種菌に対する増殖抑制効果と殺菌効果を比較することが可能であることを本実験で示した。一般的に私たちが殺菌効果と捉えている効果は、殺菌効果と増殖抑制効果を合わせた相加効果であることも示した。また、試料B、試料Cのように、石鹼主剤と有効成分が同じでも、各製品の製品コンセプトに応じた添加物の違いによって、増殖抑制効果に差を生じさせていることが明らかとなった。このことから、私たちが日常生活で手を洗う際、季節や様々な場面に応じて製品を使い分けてみるといいといえる。例えば、徹底した衛生管理が必要な飲食店では、試料Cのような製品を選ぶといいだろう。また、普段手を洗っていないという人には、水だけでも手を洗うことを本論では推奨する。

参考文献

- 1) 同文研出版（2013）新名史典（編著）サラヤ株式会社 隈下裕一 加藤信一「ビジュアル図解洗浄と殺菌のはなし」
- 2) 牛乳の酸度測定 愛知県総合科学センター 愛知エースネット <<http://www.aichi-c.ed.jp/contents/rika/koutou/kagaku/kalo/gyunyuu/gyuyu.htm>>
- 3) 乳酸菌の効果 <nyusankin-kouka.com>

先行研究

大阪府立岸和田高等学校文理学科

2016年度科学ゼミ酸性エタノール殺菌班 「滴定手法を用いた酸性アルコールの殺菌効果の検証」

謝辞

本研究に関して、サラヤ株式会社バイオケミカル研究所の隈下祐一様より、洗浄、殺菌に関する多くのご助言をいただきました。

また、本校の教員である、村上嘉信先生からも、ご指導、ご助言をいただきました。

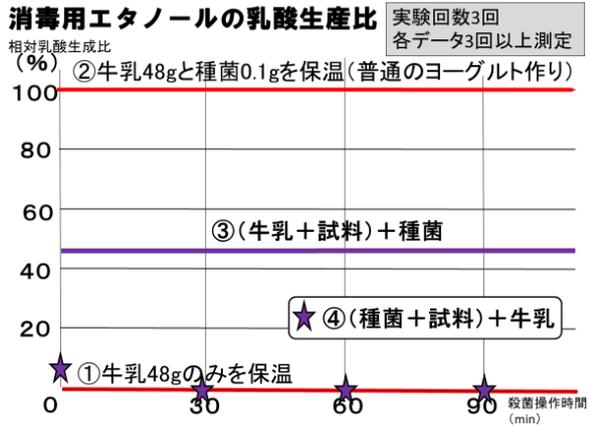


表 2 : 消毒用エタノールの結果を用いた表 3—表 7 の説明

縦軸は乳酸生成比、横軸は時間をとる。

(表 3—表 7 も同様)

試料ごとで実験を行った季節が異なり、牛乳中の成分の量も、1 回の実験では同じであるが、各実験では異なるため、乳酸量を、具体的な数値ではなく比で示した。

表での①—④はそれぞれ、試料の組み合わせ①—④を示す。①の、牛乳のみで生成したときの乳酸生成比を 0%とし、②の、通常通りのヨーグルトを生成したときの乳酸生成比を 100%とする。

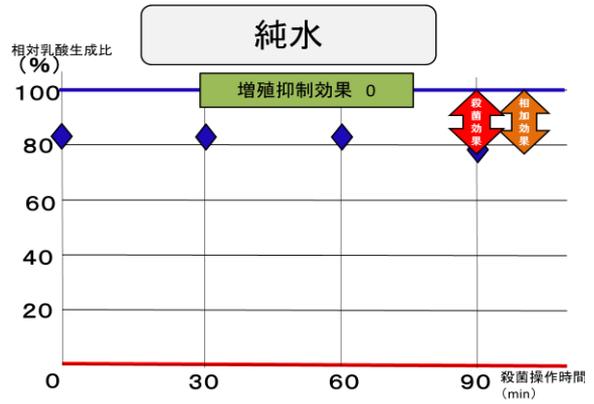


表 4 : 純水の結果

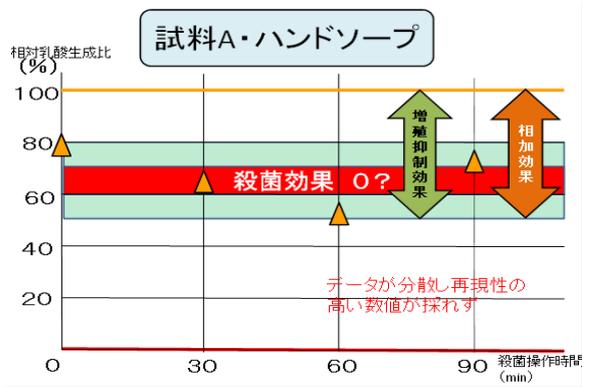


表 5 : 試料 A の結果

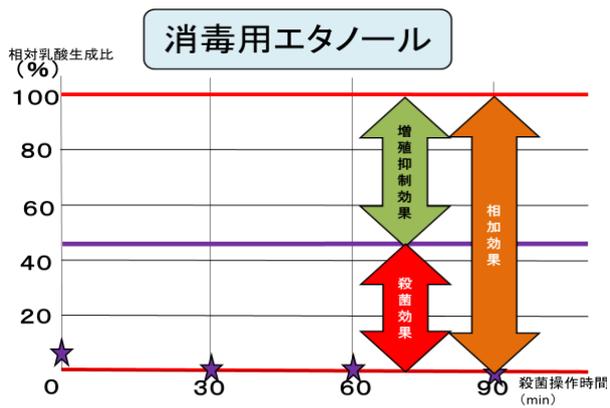


表 3 : 消毒用エタノールの結果

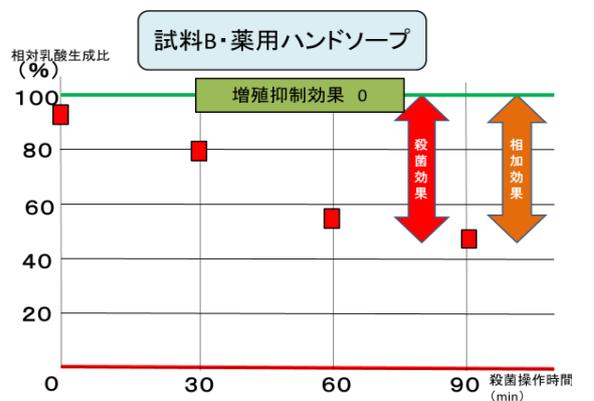


表 6 : 試料 B の結果

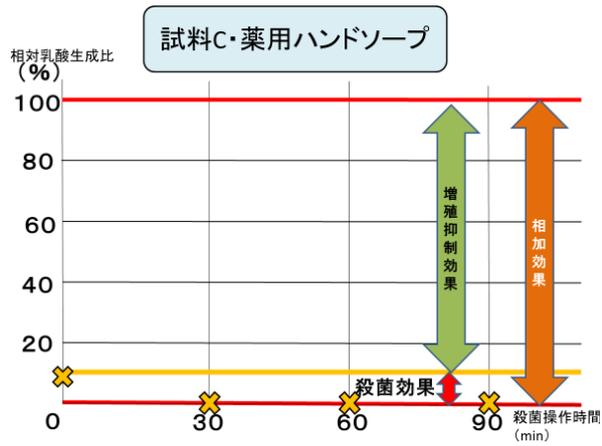


表7：試料Cの結果

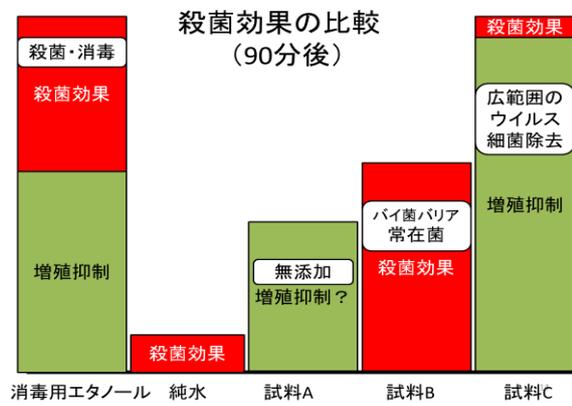


表8：各試料の90分後の結果比較