

7. 植物由来乳酸菌および過酸化水素の添加がウシ胃液からのメタン発生の及ぼす影響（抗菌物質の生成に適した培地および培養方法4）

畜産衛生学研究部門 西田武弘

メールアドレス nishtake@obihiro.ac.jp

研究の概要

【目的】

本研究では、植物性乳酸菌 *L. plantarum* TUA1490L のメタン抑制効果を最大にする培養条件および抗菌物質の同定を目的とし、*in vitro* 連続発酵ガス解析システムを用いて追究した。ルーメン液との混合培養においてより高いメタンの抑制効果を得られる、安定した乳酸菌の培養方法の確立を目的とし、No.20 の試験結果を受け、使用する培地および培養方法を変更して、改めて TUA1490L の増殖曲線を寒天平板希釀培養法によって調査した。さらに、乳酸菌の生成する抗菌性物質によるメタン抑制効果の有無を *in vitro* 予備試験で調査した。

【方法】

乳酸菌は、*Lactobacillus plantarum* TUA1490L を用いた。培養には、抗菌性物質の產生に適した酵母主体の GYKP 培地を使用した。本培養での菌液接種量は、1ml と 1 白金耳 ($2 \mu l$) に設定した。本培養の開始 0, 4, 8, 12, 16, 20, 24 時間後にサンプルを 1ml 採取し、寒天平板希釀培養法でコロニー数を測定した。本試験では通気性のあるシリコセン(信越ポリマー)に変更し、振盪方法を No.20 の回転式から、本試験では左右の往復式に変更することで、曝気状態を維持して培養した。滅菌水、GYKP 培地、培養菌液、および培養上澄み液を添加することによる、*in vitro* ルーメンメタン連続培養試験を行った。

【結果】

接種量 1ml では培養菌液と培養上澄み液でメタン抑制効果が確認でき、*in vitro* 連続培養開始直後に培養菌液と培養上澄み液の ORP がプラスに転じており、嫌気度が低くなったことを示している。一方、接種量 1 白金耳ではメタンの抑制効果は得られなかった。両者の違いは、接種量以外では増殖曲線がピークに達する時間、すなわち最大増殖量到達時間が異なっていた(それぞれ 12 時間と 20 時間)。予備試験では、いずれも 20 時間培養した TUA1490L の菌液をルーメン液に投与しており、接種量 1ml では最大増殖量に達してからさらに 8 時間培養しているが、接種量 1 白金耳の場合は最大増殖量に達した時点で培養を終え、*in vitro* 試験に使用している。このことから、乳酸菌 TUA1490L による抗菌物質の生成は、乳酸菌が活発に分裂する増殖期ではなく、増殖が最大量に到達して、静止期に移行してから行われている可能性が高いと考えられた。