

**2P-089 Metabolite changes during fermentation of nuruk with different water contents**

Se Hee Lee<sup>1</sup>, Seong-Yeol Baek<sup>1</sup>, Ji-Eun Kang<sup>1</sup>, Han-Seok Choi<sup>1</sup>, Ji-Young Mun<sup>1</sup>, Seok-Tae Jeong<sup>1</sup>, Dae-Hyuk Kim<sup>2</sup>, Che Ok Jeon<sup>3</sup>,  
○Soo-Hwan Yeo<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>Fermented Food Sci. Div., Dept. Agrofood Resour., NASS, <sup>2</sup>Dept. Mol. Biology, Chonbuk Natl. Univ., <sup>3</sup>Dept. Life Sci., Chung-Ang Univ.)  
yeobio@korea.kr

Nuruk is a fermented agent, have been used for the fermentation of Korean traditional rice wine. To investigate the effects of water contents on the nuruk, three sets of nuruk with 20%, 26%, and 30% water contents were prepared and fermentation temperature, pH, microbial abundance and metabolites were monitored for 30 days. The fermentation temperature were quickly increased and decreased only in the 26% and 30% water contents nuruk during the early fermentation period. The abundances bacteria and fungi were increased rapidly regardless of the water contents during the early fermentation period however the increases were greater in nuruk samples with higher water contents. Metabolite analysis using 1H-NMR showed that the levels of saccharide and organic acids were increased were greater in nuruk samples with higher water contents during the entire fermentation period. The concentrations and profiles of amino acid were almost similar. However glutamate and proline in the 26% and 30% water contents nuruk were higher than those in the 20% water contents nuruk. This study suggests that the range of 26-30% water contents might be the appropriate water contents for the production of nuruk with high saccharification and proteolytic activity.

**Metabolite changes during fermentation of nuruk with different water contents**

Se Hee Lee<sup>1</sup>, Seong-Yeol Baek<sup>1</sup>, Ji-Eun Kang<sup>1</sup>, Han-Seok Choi<sup>1</sup>, Ji-Young Mun<sup>1</sup>, Seok-Tae Jeong<sup>1</sup>, Dae-Hyuk Kim<sup>2</sup>, Che Ok Jeon<sup>3</sup>, ○Soo-Hwan Yeo<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>Fermented Food Sci. Div., Dept. Agrofood Resour., NASS, <sup>2</sup>Dept. Mol. Biology, Chonbuk Natl. Univ., <sup>3</sup>Dept. Life Sci., Chung-Ang Univ.)

**Key words** nuruk, metabolites, 1H-NMR

**2P-090 異なる窒素供給下の *Halomonas* sp. KM-1 によるビルビン酸の分泌生産**

○河田 悦和<sup>1</sup>, 坪田 潤<sup>2</sup>, 松下 功<sup>2</sup>, 西村 拓<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>産総研・バイオメディカル, <sup>2</sup>大阪ガス)  
y-kawata@aist.go.jp

(概要) 我々は好塩好アルカリ菌 *Halomonas* sp. KM-1 株を用いて、化成品中間体を生産する研究を実施している。KM-1 株は、培養に酵母エキス等を要せず、C5糖や腐グリセロールを資化し、中程度の高塩濃度、pH9-10で好適に生育するため、雑菌の混入が生じにくく、滅菌に必要な大量のエネルギーが不要である。今回、菌体中にバイオフィラストック PHB 合成を行う過程で、PHB 合成が抑制され、ビルビン酸を分泌する条件を見出したので報告する。(方法と結果) 炭素源としてグルコース、窒素源として、硝酸ナトリウム、尿素をそれぞれ用い、33℃、37℃、40℃で培養し、菌体および培地組成を分析した。尿素を用いた場合、すべての培養温度で、菌体内に PHB が蓄積し、上清には、40℃においてビルビン酸の分泌が見られた。一方、硝酸ナトリウムを用いた場合は、33℃では、尿素と同じく菌体内に PHB の蓄積が見られ、ビルビン酸分泌は見られなかった。一方、37℃及び40℃では、培養初期は、PHB の蓄積が見られたが、その後、PHB の蓄積が停滞し、代わってビルビン酸などが著量分泌することを見いだした。ハロモナス菌において、ビルビン酸生産の報告はなく、好アルカリ性の微生物による有機酸の生産は、その生理メカニズムの観点からも興味深いものと思われる。

**Effective secretion of pyruvate from *Halomonas* sp. KM-1 under different nitrogen condition**

○Yoshikazu Kawata<sup>1</sup>, Jun Tubota<sup>2</sup>, Isao Matsushita<sup>2</sup>, Taku Nishimura<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>Biomed. Res. Inst., AIST, <sup>2</sup>Osaka Gas Co., Ltd.)

**Key words** *Halomonas*, Pyruvate, Biorefinery

**2P-091 窒素源の違いによる *Halomonas* sp. KM-1 の代謝シフトに関する検討**

○松下 功<sup>1</sup>, 坪田 潤<sup>1</sup>, 西村 拓<sup>1</sup>, 河田 悦和<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>大阪ガス, <sup>2</sup>産総研・バイオメディカル)  
imatsu@osakagas.co.jp

(概要) 我々は好気条件で PHB を蓄積し、微好気条件で PHB を 3-ヒドロキシ酪酸に分解する *Halomonas* sp. KM-1 の産業利用を検討している。*Halomonas* sp. KM-1 において、窒素源の種類、C/N 比、培養温度により PHB が優先的に蓄積する条件、及びビルビン酸が優先的に分泌される条件が見出された。そこで、各培養条件における菌体内の主要な酵素活性を比較し、この代謝シフトの原因を調べた。

(方法) グルコースを炭素源とする培養において、窒素源を硝酸ナトリウムおよび尿素とし (C/N 比 10 または 30) でバッチ培養を行った後に得られた菌体を破碎して、菌体内の PHB 合成に関わる PhaC 活性、及びビルビン酸の合成と代謝に関わるビルビン酸キナーゼ(PK)、ビルビン酸デヒドロゲナー(PDH)活性を調べた。

(結果) 尿素を窒素源として C/N 比 10 では、C/N 比 30 に比べ、PHB 合成が優先し、PK、PDH、PhaC 活性が促進された。一方、硝酸を窒素源とした場合、C/N 比 10 では、C/N 比 30 に比べ、PHB の合成は抑制され、ビルビン酸分泌が優先し、PK 活性は促進されたが、PDH、及び PhaC 活性は低下していた。この結果から、ビルビン酸の分泌が引き起こされたことが示唆された。

**Analysis of metabolic shift of *Halomonas* sp. KM-1 under different nitrogen source**

○Matsushita Isao<sup>1</sup>, Jun Tsubota<sup>1</sup>, Taku Nishimura<sup>1</sup>, Yoshikazu Kawata<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>Osaka Gas Co., Ltd., <sup>2</sup>Biomed. Res. Inst., AIST)

**Key words** *Halomonas*, (R)-3-Hydroxy butyrate, Pyruvate, Biorefinery

**2P-092 *Halomonas* sp. KM-1 を用いた(R)-3-ヒドロキシ酪酸およびビルビン酸の選択的生産**

○坪田 潤<sup>1</sup>, 松下 功<sup>1</sup>, 西村 拓<sup>1</sup>, 河田 悦和<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>大阪ガス, <sup>2</sup>産総研・バイオメディカル)  
jtsubota@osakagas.co.jp

(概要) PHB 蓄積菌である *Halomonas* sp. KM-1 は好気条件で PHB を蓄積したのち、酸素供給を制限すると蓄積した PHB を速やかに(R)-3-ヒドロキシ酪酸に分解、菌体外に放出する。また培養条件を変えることによりビルビン酸デヒドロゲナーゼ活性を抑制すると PHB を蓄積することができず、ビルビン酸を菌体外へ放出する。2000 L の化学反応釜を転用した簡易な培養装置で、(R)-3-ヒドロキシ酪酸とビルビン酸の選択的生産を行った。

(方法と結果) (R)-3-ヒドロキシ酪酸生産：グルコース 10%を含む 1300L の SOT 培地に対し 60%グルコースを含む 260L の SOT 培地を流しながら 37℃、pH8.5、kLa950 で 25 時間好気培養したのち、通気、攪拌を止め、さらに 4.5 時間培養したところ 43 g/L の (R)-3-ヒドロキシ酪酸を生産することができた (生産速度 1.5g/L/hr)。ビルビン酸生産：グルコース 10%を含む 1100L の SOT 培地に対し 60%グルコースを含む 220L の SOT 培地を流しながら 37℃、pH8.5、kLa600 で 34.5 時間培養したところ 70 g/L のビルビン酸を生産することができた (生産速度 2.0g/L/hr)。同一の菌、同一の設備で異なる有機酸を高濃度で生産することに成功した。

**Selective production of (R)-3-Hydroxybutyrate and Pyruvate by *Halomonas* sp. KM-1**

○Jun Tsubota<sup>1</sup>, Isao Matsushita<sup>1</sup>, Taku Nishimura<sup>1</sup>, Yoshikazu Kawata<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>Osaka Gas Co., Ltd., <sup>2</sup>Biomed. Res. Inst., AIST)

**Key words** *Halomonas*, (R)-3-Hydroxy butyrate, Pyruvate, Biorefinery