Pseudomonas fluorescens によるベタインの分解

木 俣 正 夫

(水産講習所)

Decomposition of Betain by *Pseudomonas fluorescens*.

Masao KIMATA

SYNOPSIS

Trimethylamin has been known to be produced from cholin and lecithin in the putrefactive process. It was thought that betain is similar to these compounds in construction and might produce trimethylamin as a decomposed product. Therefore, I have studied the decomposition of betain, which is contained in the muscle of cuttle-fish in great quantity, by the action of *Pseudomonas fluorescens*.

In the first place, I made a synthetic medium which is free from the nitrogen- and carbon-compounds, consisting of 500 c.c. of water, 1 gr. of K_2HPO_4 , 0.5 gr. of $MgSO_4$, 0.5 gr. of $NaCl$ and trace of $FeSO_4$ and $Ca_3(PO_4)_2$. This proved to be suited for the growth of *Pseudomonas fluorescens*. In the second place, to 500 c.c. of this synthetic medium 1 gr. of betain hydrochloride was added and neutralized with $NNaOH$. In this medium was cultivated for 3 weeks at $28^\circ C$. *Pseudomonas fluorescens*. Then MgO was added to the culture which was afterwards distilled by means of the steam distillation. The volatile alkali obtained in the distillate were determined by the WEBER and WILSON's method⁽²⁾, and the WOODWARD and ALSBERG's method⁽³⁾.

From the results of the experiment, it is clear that trimethylamin was not produced from betain, but ammonia was formed from it by the action of *Pseudomonas fluorescens*. Moreover organic volatile acids, alcohol and amino acids were not found as the decomposition products.

等は細菌によつて分解されてトリメチールアミンを發生すると云⁽¹⁾はれてゐるが、此等に其

チールアミンを發生するに非ずやと考へて此の研究を行つた。

實驗

供試細菌としては水中に最も普通に存在する *Pseudomonas fluorescens* を使用した。

培 養 基 此の研究にあつて培養基の選定は非常に重要であつて、合成培養基を使用するのが最も適當である。乍併一般に合成培養基は細菌の發育惡く、良好なものが少い。若

し比較的良好なものがあつても炭素源として醗類を含有してゐる爲め分解生産物の研究には不適當である。故に炭素源として糖類を含まない合成培養基を研究して次の様な組成のものが最も良好であることを見た、

水	500 ㊦,	K ₂ HPO ₄	1.0 瓦,	MgSO ₄	0.5 瓦,
FeSO ₄	痕跡,	Ca ₃ (PO ₄) ₂	痕跡,	NaCl	0.5 瓦

此の培養液 500 ㊦に研究せんとする炭素及窒素の兩元素を含む化合物約 1.0 瓦を添加し、常法により滅菌して使用する。若し此の培養液に細菌が發育しない場合には其の添加せる化合物が此の細菌によつて利用されないことが判る。本研究に於ては此の合成培養基 500 ㊦にベタイン・ハイドロクロライド 1.0 瓦を加へ、N-NaOH にて中和し滅菌して使用した。

アミン及アンモニアの分離 ベタインを含む合成培養基に *Pseudomonas fluorescens* を移植し、28°C に於て 3 週間放置發育せしめた後其 500 ㊦に MgO を加へて蒸氣蒸溜をなし、N/60 H₂SO₄ 247 ㊦に相當する揮發性アルカリを分離した。此を二分し、其一方に WEBER 及 WILSON⁽²⁾ 兩氏の方法に従つて 20 % NaOH 及 30 % Na₂CO₃ を等量に混合したアルカリ液 10 ㊦を加へ、500 ㊦となし、黃色酸化水銀約 3 瓦を加へ日光を遮斷して一時間振盪し、一晝夜放置した後、其濾液 200 ㊦を蒸氣蒸溜したが揮發性のアルカリを全く得ることが出来なかつた。之れによつて揮發性アルカリは全部アンモニアのみであつてアミン類を含まないことが判る。次に残りの半量を湯煎鍋上で蒸發濃縮し、WOODWARD 及 ALSBERG⁽³⁾ 兩氏の方法によつて MAYER 氏の試薬を用ひて直接トリメチールアミンの分離を行つたが (CH₃)₃N·HI·HgI₂ の黃色針狀結晶は全く得られなかつた。

揮發性有機酸の分離 先に MgO を加へて蒸溜した培養液を濾過し、硫酸酸性となし、N/60 NaOH 中に再び蒸溜を行つたが揮發酸は全く得られなかつた。又別に新しき培養液を蒸溜し、溜出液中よりアルコールの検出を常法によつて行つたが此れも亦検出し得られなかつた。

ベタイン及アミノ酸の検出 揮發性アルカリ及び酸を分離した後の培養液を低温で濃縮し、其の一部分に MAYER 氏試薬を加へたが全く黃色針狀結晶は得られず、又他の一部分で VAN SLYKE 氏法でアミノ酸を測定したが全く遊離窒素を發生しなかつた。

次に上記の培養基にベタイン・ハイドロクロライドの代りにトリメチールアミン・ハイドロクロライドを添加して *Pseudomonas fluorescens* を移植し、28°C に 2 週間放置しても全く發育せず、又之れに更に葡萄糖 1.0 瓦を加へても全く同様の結果を得た。之れによつて *Pseudomonas fluorescens* はベタインを分解してアンモニアを發生する其中間生成物としてトリメチールアミンを生成するとは考へられない。

摘 要

1. *Pseudomonas fluorescens* による炭素及び窒素の兩元素を含む化合物の分解及び利用の研究に對して良好なる合成培養基を發見した。

2. ベタインは *Pseudomonas fluorescens* によつて分解されてトリメチールアミンを發生しないでアンモニアを發生するが其分解過程は明らかではない。

擱筆するに當り御懇篤なる御指導を賜はりたる大谷武夫教授に謹んで深謝す。

文 献

- (1) BUCHANAN and FULMER :—Physiology and Biochemistry of Bacteria. Vol. III, Baltimore, 1930.
ABDERHALDEN :—Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden. Abt. 1, Teil 7, p. 361, Berlin 1923.
- (2) WEBER and WILSON :—J. Biol. Chem., **35**, 1918, 385.
- (3) WOODWARD and ALSBERG :—J. Biol. Chem., **46**, 1921.