

vonole (Quercetin, Rhamnetin und Morin) als chemisch nahe verwandte Substanzen in unsere Versuche ein.

Die Prüfung der vorstehend erwähnten Verbindungen auf bakteriostatische Wirkung geschah nach der in unseren Laboratorien üblichen Untersuchungsmethoden an je einem Stamm von *Staphylococcus pyogenes aureus*, *Streptococcus haemolyticus*, *Pneumococcus* Typ I, *Corynebacterium diphtheriae*, *B. coli commune*, *B. typhi abdominalis*, *B. paratyphi B*, *B. enteritidis* Gaertner, *B. dysenteriae* Typ E und *Pseudomonas pyocyanea*. In allen unseren Versuchen zeigten die geprüften Substanzen in Konzentrationen von 1/10 und 1/50 Mol keine bakteriostatische Wirkung.

F. BLANK und R. SUTER

Aus den wissenschaftlichen Laboratorien der J. R. Geigy AG., Basel, den 7. November 1947.

Summary

Some anthocyanins and flavonols have been found to have no bacteriostatic effect on pathogenic microorganisms.

Über die Einwirkung von Pankreasfermenten auf DL-Methioninisopropylester

O. WARBURG hat seinerzeit festgestellt, daß aus dem Äthyl- und aus dem Normalpropylester des DL-Leucins in Gegenwart von «Pankreasferment» und Wasser durch asymmetrische Verseifung ein Gemisch von freiem L-Leucin und unverändertem D-Leucinester entsteht¹.

Der DL-Methioninisopropylester reagiert unter der Einwirkung von handelsüblichen Fermentpräparaten, wie Pankreatin, «Trypsin Difco» und «Pangestin Difco», in ähnlicher Weise wie die Ester des DL-Leucins. Über die Auswertung dieser Reaktion zur Gewinnung von D- und L-Methionin soll an anderer Stelle ausführlich berichtet werden.

Die Fermentreaktion beschränkt sich jedoch nicht in allen Fällen auf die Verseifung der im racemischen Ester vorhandenen L-Komponente. Dies wird besonders deutlich, wenn man ein bei der Firma Novo Therapeutisk Laboratorium, Kopenhagen, käufliches Pankreasenzym oder kristallisiertes Chymotrypsin² verwendet und die Vorschrift von WARBURG¹ etwas abändert. So werden aus 100 Teilen DL-Methioninisopropylester, 2 Teilen Ferment³ und 5 Teilen Wasser nach 15–20stündigem Stehen bei 38° rund 35 Teile eines ätherunlöslichen Reaktionsproduktes erhalten, das nur zu etwa $\frac{2}{3}$ aus freiem L-Methionin besteht. Der Rest setzt sich zur Hauptsache aus amorphen oder mikrokristallinen Substanzen zusammen, welche in kaltem Wasser schwer löslich sind. Ein Teil davon ist auch in heißem Wasser, Alkohol, verdünnter Salzsäure oder Natronlauge unlöslich. Das Gemisch der in heißem Wasser schwerlöslichen Verbindungen liefert bei energischer saurer Hydrolyse geringfügig racemisiertes L-Methionin.

¹ Z. physiol. Ch. 48, 205 (1906).

² Das von uns verwendete Präparat stammt aus dem Plaut Research Laboratory und ist bereits älteren Datums. Wir waren noch nicht in der Lage, es an Hand bekannter Substrate auf sein enzymatisches Verhalten zu prüfen. Für seine freundliche Überlassung sind wir Herrn Dr. P. C. ZAMECNIK, Boston, Mass., zu bestem Dank verpflichtet.

³ Das dänische Pankreasenzym wird vor dem Gebrauch zweckmäßig durch Dialyse gereinigt und lyophil getrocknet. Die angegebene Menge bezieht sich auf ein derart hergestelltes Trockenpräparat. – Bei Verwendung von kristallisiertem Chymotrypsin kann die Fermentmenge um mindestens 50% reduziert werden.

Wir halten es nicht für ausgeschlossen, daß es sich bei den schwerlöslichen Produkten um peptidartige Verbindungen handelt. Versuche zur Abklärung dieser Frage sind im Gange.

Der eine von uns (M. BRENNER) dankt der J.-R. Geigy-AG. in Basel für die Unterstützung dieser Arbeit.

M. BRENNER und V. KOCHER

Organisch-chemische Anstalt der Universität Basel, den 2. Dezember 1947.

Summary

Commercially available preparations of the proteolytic enzymes of the pancreas are suitable for asymmetric saponification of DL-methionine isopropyl ester. Certain preparations, including crystalline chymotrypsin, yield in addition to L-methionine insoluble products behaving like peptides of L-methionine when hydrolysed.

Enzymatic Breakdown of Nitrogen Compounds by the Nitrogen Fixing Bacteria of Insects

Symbiotic bacteria of plant lice can fix atmospheric nitrogen¹. The fixation takes place in a surviving system – a physiological salt-solution containing 0.2% succinic acid and 0.5% glucose – or in the same solution inoculated with cultivated symbiotic bacteria of insects. In investigations of surviving systems we found that the nitrogen-fixing capacity depends on the initial amount of nitrogen compounds in the system. It is shown in Table I that the lower the original nitrogen content of the system (according to KJELDAHL) the higher the nitrogen-fixing capacity.

We carried out further experiments with very high nitrogen content. In these experiments large numbers of plant lice (*Aphis sambuci* L.) were used in the surviving system. It was found that in this case no nitrogen fixation took place, rather a loss in the amount of nitrogen (Table II).

The same results were obtained in the experiments with cultivated bacteria. The bacteria fixed atmospheric nitrogen in a culture medium containing no nitrogen but salts, succinic acid, and glucose. If peptone or ammonium sulphate were added, a breakdown of these compounds was found instead of fixation (Table III).

It follows that the fixation of atmospheric nitrogen by the symbionts of insects is a reversible enzymatic process. When the concentration of the end product – the nitrogen compounds – is low the reaction tends towards fixation, if it is high, breakdown takes place.

We have some evidence that the end product of the nitrogen breakdown is a low-degree nitrogen compound, or perhaps gaseous nitrogen. It follows from our findings that ammonium salts are also broken down. But experiments were made to prove directly whether ammonia could be the end product. In the experiments where breakdown took place, we found in most cases no ammonia either in the surviving experiments or in the experiments with isolated bacteria. In some cases, where a certain amount of ammonia could be detected,

¹ L. TÓTH, The Biological Fixation of Atmospheric Nitrogen. Budapest, 1946. Monographs Natural Sciences 5. – L. TÓTH, A. WOLSKY, and M. BÁTORI, Z. vergl. Physiol. 30, 67 (1942–44). – L. TÓTH, A. WOLSKY, and E. BÁTYKA, Z. vergl. Physiol. 30, 300 (1942–44).

Table I

Number of experiment	Nitrogen content of the system			Change in nitrogen content after			
	mg% after			24 hours		48 hours	
	0 hour	24 hours	48 hours	mg	%	mg	%
I	5.8	12.6	—	+ 6.8	+ 117	—	—
II	6.4	14.0	—	+ 7.6	+ 118	—	—
III	7.6	14.0	—	+ 6.4	+ 84	—	—
IV	12.4	18.4	—	+ 6.0	+ 48	—	—
V	18.2	22.8	28.8	+ 4.6	+ 25	+ 10.6	+ 58
VI	23.0	26.6	31.0	+ 3.6	+ 16	+ 8.0	+ 35
VII	32.4	38.4	—	+ 6.0	+ 18	—	—

Table II

Number of experiment	Nitrogen content of the system			Change in nitrogen content after			
	mg% after			24 hours		48 hours	
	0 hour	24 hours	48 hours	mg	%	mg	%
I	79.6	76.4	75.2	— 3.2	— 4.0	— 4.4	— 5.5
II	104.6	102.6	101.6	— 2.0	— 2.0	— 3.0	— 3.0

Table III

Number of experiment	Nitrogen in the nutrient solution	Nitrogen content of the cultures			Change in nitrogen content after			
		mg% after			24 hours		48 hours	
		0 hour	24 hours	48 hours	mg	%	mg	%
I	—	0.3	0.4	0.7	+ 0.1	+ 33	+ 0.4	+ 133
II	—	0.3	0.4	0.5	+ 0.1	+ 33	+ 0.2	+ 67
III	—	0.3	0.3	0.7	0.0	0	+ 0.4	+ 133
IV	0.5 % peptone	10.1	—	6.3	—	—	— 3.8	— 38
V	0.5 % peptone	8.7	—	6.3	—	—	— 2.4	— 28
VI	0.5 % peptone	9.1	6.3	—	— 2.8	— 31	—	—
VII	0.5 % peptone	10.0	6.7	—	— 3.3	— 33	—	—
VIII	0.5 % ammonium sulfate	15.1	—	12.6	—	—	— 2.5	— 17
IX	0.5 % ammonium sulfate	14.8	—	12.4	—	—	— 2.4	— 16
X	0.5 % ammonium sulfate	10.2	5.6	—	— 4.6	— 46	—	—
XI	0.5 % ammonium sulfate	11.0	6.5	—	— 4.5	— 41	—	—

this amount was not higher than 5 % of the nitrogen which had disappeared from the system.

T. Z. CsÁKY and L. TÓTH

Hungarian Biological Research Institute, Tihany, and Biological Laboratory of the Hungarian National Museum, Natural History, Budapest, October 18, 1947.

Zusammenfassung

Die Intensität der Stickstoffbildung aus der Luft im überlebenden System der Blattläuse steht mit dem Stickstoffgehalt des Systems in Zusammenhang. Je niedriger der Ausgangswert des Gesamtstickstoffes, desto energischer ist die Stickstoffbindung. Bei hohem Stickstoffgehalt kann — anstatt einer Anreicherung — ein Verlust an Stickstoff festgestellt werden (Tabelle I und II).

Diese Erscheinung konnte auch bei den gezüchteten Bakterien der Blattläuse bestätigt werden (Tabelle III).

Es ist wahrscheinlich, daß es sich hier um einen reversiblen enzymatischen Prozeß handelt. Das Endprodukt des Abbauprozesses dürfte eine niedrige Stickstoffverbindung sein. Wie aus unseren Experimenten hervorgeht, kann es sich aber nicht um Ammoniak handeln.

Some new Substrates for Determinations of Phosphatase

For determining the activity of phosphomonoesterase glycerophosphoric acid often has been used. For that purpose the amount of phosphate that has been split is measured.

KING and ARMSTRONG choose phenylphosphoric acid for the substrate and determine the amount of phenol that has been liberated. Of late it has been attempted to simplify the determination of phosphatase by using other esters of phosphoric acid. Thus HUGGINS and