

# Studien über die Spaltung racemischer Aminosäuren durch Pilze.

Von  
**Hans Pringsheim.**

(Aus dem chemischen Institut der Universität Berlin.)

(Der Redaktion zugegangen am 7. Februar 1910.)

Zur Spaltung racemischer Aminosäuren in die optisch aktiven Komponenten sind bisher nur eine geringe Anzahl niederer Organismen verwandt worden. Die zuerst über diesen Gegenstand veröffentlichten Angaben konstatierten die Verzehrung der in der Natur vorkommenden Komponente der Aminosäuren durch Schimmelpilze. So gewann Schulze<sup>1)</sup> durch Aussaat von *Penicillium glaucum* auf racemischem Leucin und racemischer Glutaminsäure die Antipoden des natürlichen Leucins und der natürlichen Glutaminsäure, so wurde racemische Asparaginsäure bei spontaner Infektion unter Verbrauch der natürlichen Komponente rechtsdrehend<sup>2)</sup> und inaktive Glutaminsäure beim Wachstum von *Penicillium glaucum* linksdrehend.<sup>3)</sup> Beim Wachstum von *Aspergillus niger* auf racemischem Alanin wurde das Verschwinden von 10% des natürlichen Alanins beobachtet.<sup>4)</sup> Weiterhin konnte mit Hilfe desselben Pilzes aus racemischem Cystin ein vorwiegend aus dem aktiven Isomeren des natürlichen Cystins bestehendes Produkt gewonnen werden.<sup>5)</sup> und neuerdings wird berichtet, daß Fäulnisbakterien das inaktive Valin asymmetrisch unter Aufzehrung der natürlichen Komponente angreifen.<sup>6)</sup>

Spezielle Angaben über den Verbrauch der in der Natur

<sup>1)</sup> Schulze und Bosshard, Diese Zeitschrift, Bd. X (1886), S. 138.  
— Schulze und Likiernick, Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Jg. XXIV (1891), S. 671. — Schulze, *Ibid.*, Jg. XXVI (1893), S. 57.

<sup>2)</sup> Engel, Compt. rend. de l'Acad., Bd. CVI (1888), S. 1734.

<sup>3)</sup> Menozzi und Appiani, Gaz. chim. ital., Bd. XXIV (1894), S. 382.

<sup>4)</sup> E. Fischer, Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Jg. XXXII (1899), S. 2451.

<sup>5)</sup> Neuberg und Mayer, Diese Zeitschrift, Bd. XLIV (1905), S. 508.

<sup>6)</sup> Neuberg und Karczag, Biochem. Zeitschr., Bd. XVIII (1909),

nicht vorkommenden Komponente einer Aminosäure, des Alanins, durch Schimmelpilze machten zuerst Mac Kensi und Harden.<sup>1)</sup> Sie fanden, daß *Penicillium glaucum* (Link), *Aspergillus niger* (van Tieghem) und *Aspergillus griseus* (Link) das natürliche aktive Isomere leichter angreifen als die andere Komponente und daß diese Elektio allein von der Spaltungsgeschwindigkeit der beiden Antipoden abhängt. Auch die Hefe besitzt trotz ihrer speziellen Bevorzugung der natürlichen Komponente verschiedener Aminosäuren<sup>2)</sup> die Fähigkeit, bei mangelnder Stickstoffernährung die andere Komponente anzugreifen<sup>2)</sup> und sie eventuell ganz zu verzehren.<sup>3)</sup>

Der Zweck meiner vorliegenden Untersuchungen war, das Verhalten einer etwas größeren Anzahl von Pilzen gegenüber racemischen Aminosäuren zu prüfen. Es war zu entscheiden, ob es niedere Organismen gibt, welche einen symmetrischen Angriff auf die genannten Stickstoffquellen vornehmen? Vor allem war auch der Versuch zu machen, Organismen zu finden, welche die Antipoden der in der Natur beobachteten Komponenten der Aminosäuren bevorzugen, denn Ulpiani und Condelli<sup>4)</sup> geben an, daß der *Bacillus cholerae-poli* racemisches Alanin in dieser Weise spaltet. Weiterhin sollten meine Untersuchungen eine Beziehung zu den Beobachtungen von Abderhalden und Pringsheim<sup>5)</sup> herstellen, welche fanden, daß das peptolytische Ferment einiger Schimmelpilze im Gegensatz zu dem höherer Organismen aus Polypeptiden auch die Antipoden der natürlichen Komponenten der Aminosäuren herauszuspalten imstande ist. Denn es war anzunehmen, daß die Wirkung dieses Fermentes seine Ergänzung in der Fähigkeit der hier in Betracht kommenden Pilze finden würde, die beiden abgespaltenen Komponenten der Aminosäuren auch weiter zu verarbeiten.

<sup>1)</sup> MacKensie und Harden, Proc. of the chem. Soc., Bd. XIX (1903), S. 48.

<sup>2)</sup> F. Ehrlich, Biochem. Zeitschr., Bd. I (1906), S. 7.

<sup>3)</sup> H. Pringsheim, Ibid., Bd. III (1907), S. 244.

<sup>4)</sup> Ulpiani und Condelli, Gaz. chim. ital., Bd. XXX (1900), S. 344.

<sup>5)</sup> E. Abderhalden und H. Pringsheim, Diese Zeitschrift, Bd. LIX (1909), S. 249.

Bei der Aussaat verschiedener Schimmelpilze und zweier Bakterien-species auf d-l-Leucin und d-l-Glutaminsäure zeigte sich nun, daß ein Angriff auf beide optischen Komponenten in der Tat erfolgt, denn in allen Fällen wurde weniger als die theoretische Menge der nicht natürlichen Komponente zurückgewonnen. Auch wurde die optische Drehung der zurückgewonnenen Aminosäuren in keinem Falle gleich der theoretischen einer Komponente gefunden. In etwa der Hälfte der untersuchten Spaltungen war der Angriff symmetrisch erfolgt, sodaß die zurückgewonnenen Aminosäuren keine optische Aktivität zeigten. Über ein derartiges Verhalten, von Fäulnisbakterien racemischer Glutaminsäure gegenüber, hat inzwischen auch Neuberg<sup>1)</sup> berichtet.

Der Grad der Auslese der einen Komponente durch die Pilze muß von Bedingungen abhängen, in die man nur schwer einen Einblick gewinnen kann; bei längerer Wachstumsperiode findet naturgemäß eine Anhäufung der schwerer angreifbaren optischen Isomeren in den unverzehrt zurückbleibenden Anteilen der Aminosäuren statt, sodaß es bei genügendem Ausgangsmaterial gelingen muß, mit Hilfe geeigneter Pilze zu den von racemischen Beimengungen, freien Antipoden der natürlichen Aminosäuren zu gelangen. Doch ist für praktische Zwecke die Ehrlichsche Methode der Hefegärung vorzuziehen.

Auch der symmetrische Angriff einiger Pilze auf die Aminosäuren ist keine feststehende Größe. Durch Bedingungen äußerer Natur, welche nicht den Pilzspecies als innere Eigenschaften anhaften, kann eine Elekion der natürlichen Komponente gehindert werden. — Die Gegenwart einer anderen Kohlenstoffquelle, in Gestalt von Glukose, scheint im allgemeinen die Auslese unter den Komponenten zu begünstigen, worüber Einzelheiten aus der Tabelle, welche die Resultate am Schluß zusammenfaßt, zu entnehmen sind. Doch ist auch diese Gesetzmäßigkeit nicht ohne Ausnahme, denn verschiedene Pilze griffen auch bei gleichzeitiger Gabe von Glukose symmetrisch an.

Geeignete, aber im speziellen schwer auffindbare Be-

<sup>1)</sup> C. Neuberg, Biochem. Zeitschr., Bd. XVIII (1909), S. 443.

dingungen vorausgesetzt, dürfte die Mehrzahl der Pilze eine Bevorzugung der natürlichen Komponente ausüben. Die Auffindung einer schärferen Gesetzmäßigkeit wird verborgen bleiben, bis es gelingt, die den Abbau der Aminosäuren auslösenden Fermente von der lebenden Zelle abzutrennen. Erst dann wird sich zeigen lassen, ob die Spaltung der Aminosäuren zuerst immer asymmetrisch verläuft, wie das bei der Abspaltung der Aminosäuren aus racemischen Polypeptiden von Abderhalden und Pringsheim beobachtet wurde.

Eine Bevorzugung der in der Natur nicht aufgefundenen Komponente der Aminosäuren wurde bei keinem der sechzehn in den Kreis der Untersuchung gezogenen Pilze beobachtet. Ebenso führte ein Versuch, solche Pilze durch Elektivkultur zu isolieren, zu keinem Resultat. Der erste Versuch, einen solchen Pilz durch Luftexposition einer Lösung von Glukose als Kohlenstoff- und l-Alanin als Stickstoffquelle einzufangen, war schon wegen der von Abderhalden und Pringsheim beobachteten vorzüglichen Eignung des l-Alanins als Stickstoffquelle wenig aussichtsvoll. Der auf dieser Nährlösung isolierte Schimmelpilz griff das Leucin symmetrisch an. Aber auch ein auf l-Alanin als gleichzeitiger Kohlen- und Stickstoffquelle eingefangener Pilz zeigte keine Bevorzugung des d-Leucins; in einem Versuche verzehrte er im Gegenteil das l-Leucin schneller.

Trotzdem diese Befunde keinen strikten Beweis dafür liefern, daß es in der Natur keine Mikroorganismen gibt, welche die Antipoden der natürlichen Komponenten von Aminosäuren bevorzugen, so macht er diese Annahme doch wahrscheinlich. Auch hat ein derartiges Verhalten der niederen Organismen durchaus nichts Befremdendes. Die Bevorzugung der natürlichen Komponente ist als ein Anpassungszustand zu deuten, welcher sich mit fortschreitender Entwicklung im Organismenreiche ausgebildet und präzisiert hat.<sup>1)</sup> Die niederen Organismen sind bezüglich dieser Anpassung noch weniger scharf eingestellt als die höheren Pflanzen und Tiere. Ausgehend

<sup>1)</sup> Vgl. hierzu H. Pringsheim, Die Variabilität niederer Organismen. Eine deszendenztheoretische Studie, Julius Springer, Berlin 1910, S. 69.



vom symmetrischen Angriff dürften sie sich sowohl bezüglich der Abspaltung der natürlichen Komponenten aus Polypeptidbindungen, wie in bezug auf die Verarbeitung der abgespaltenen Aminosäuren, den ihnen in der Natur gebotenen Ernährungsbedingungen akkommodiert und auf die Bevorzugung der einen Komponente eingestellt haben. Denn bisher sind die Aminosäuren in der Natur nur in einer optischen Modifikation aufgefunden worden,<sup>1)</sup> die, wie wir gesehen haben, allein von Mikroorganismen bevorzugt zu werden scheint.

Mit diesen Anschauungen stehen die Befunde Pfeffers,<sup>2)</sup> welcher auf Links-Weinsäure eine diese Modifikation bevorzugende Bakterienart isoliert, nicht im Widerspruch. Denn stickstofffreie Substanzen kommen in der Natur in beiden optischen Isomeren vor. Bei der Vergärung von Zucker kann je nach der Art der wirksamen Bakterien Rechts- oder Links-Milchsäure gebildet werden; und wir kennen milchsäurezeretzende Bakterienarten, die je nach ihrer Species die eine oder die andere optische Isomere der Milchsäure schneller angreifen. Auch die Äpfelsäure wurde in racemischer Form in der Natur aufgefunden. Die Gelegenheit zur Anpassung an die Bevorzugung der einen wie der anderen Komponente stickstofffreier Nährmedien war also unter den Bedingungen des Vorlebens der Mikroorganismen in der Natur gegeben. Aber auch hier verrät die größere Verbreitung der die häufiger vorkommende Komponente bevorzugenden Mikroorganismen die Anpassung an die natürlichen Verhältnisse.

### Experimenteller Teil.

Die Reinkulturen der Pilze und Bakterien kamen auf 100 ccm sterilisierter Nährlösung, welche neben den racemischen Aminosäuren die nötigen Nährsalze ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4$ ,  $\text{NaCl}$  und Spuren von  $\text{FeSO}_4$ ), und in einzelnen Fällen Glukose enthielten, zur Aussaat. Wurde mehr Nährlösung angewandt, so ist das im einzelnen Falle speziell angegeben.

<sup>1)</sup> H. Pringsheim, Diese Zeitschrift, vorstehende Mitteilung.

<sup>2)</sup> Pfeffer, Jahrbücher f. wissenschaftliche Botanik, Bd. XXVIII, 1895, S. 207.

Das Leucin war aus Isovaleraldehyd hergestellt worden.<sup>1)</sup> Die racemische Glutaminsäure wurde nach dem Verfahren von Michael und Wing<sup>2)</sup> gewonnen.

Nachdem bei geeigneter Temperatur reichliche Vegetation der Mikroorganismen erzielt worden war, wurde abfiltriert, um die Pilzdecke zu entfernen. Zur Zurückgewinnung des Leucins wurde zuerst auf dem Wasserbade eingedampft, dann mit Tierkohle aufgeköcht, um die Pilzfarbstoffe zu entfernen, und darauf auf dem Wasserbade zur Trockene verdampft. Der gepulverte Rückstand ergab nach dem Ausziehen mit Alkohol, dem geringe Mengen Ammoniak zugesetzt worden waren, beim Stehen im Eisschrank eine erste Krystallisation von Leucin. Zur möglichsten Zurückgewinnung der gesamten Leucinmenge wurde die Mutterlauge bis auf wenige Kubikzentimeter eingedampft und nochmals im Eisschrank aufbewahrt. Das im Vakuumexsikkator getrocknete Leucin wurde zuerst gewogen und darauf ein Teil oder die gesamte Menge je nach Bedürfnis zur Drehungsbestimmung verwandt.

Der leichteren Zersetzbarkeit der Glutaminsäure Rechnung tragend, mußte hier im Vakuum bei 40° zur Trockene verdampft werden. Nach dem Aufnehmen mit wenig Wasser krystallisierte die Glutaminsäure im Eisschrank aus. In einem Falle wurde die Glutaminsäure durch Zusatz konzentrierter Salzsäure als salzsaures Salz ausgefällt, das dann direkt zur Drehungsbestimmung verwandt wurde, während in den anderen Fällen für diesen Zweck die berechnete Menge Normalsalzsäure zugegeben wurde.

Die nachfolgenden Angaben enthalten die Aufzählung der Pilzarten, die Wachstumszeiten, die Mengen der verwandten und zurückgewonnenen Aminosäuren, den Prozentgehalt der Lösung an Glukose und die Resultate der optischen Bestimmungen.

I. *Aspergillus Wentii*. 0,5 % Leucin; 2 % Glukose;

<sup>1)</sup> Vgl. E. Fischer, Anleitung zur Darstellung organischer Präparate. Braunschweig 1905, S. 86.

<sup>2)</sup> Michael und Wing, Ber. der Deutsch. chem. Ges., Jg. XVII 1884, S. 2984.

zurückgenommen 0,0562 g Leucin. Wachstum 3. Dez. bis 8. Jan. 1909.

0,0562 g Leucin gelöst in 20%iger Salzsäure. Gesamtgewicht der Lösung 5,3326 g;  $d = 1,1$ . Drehung im 1-Dezimeterrohr —  $0,10^\circ$ .

Mithin  $[\alpha]_D^{20} = - 8,6^\circ$ .

II. *Aspergillus niger*. 1% Leucin, 2% Glukose; zurückgewonnen 0,0606 g Leucin. Wachstum 3. Dez. bis 10. Dez. 1908.

0,0606 g Leucin gelöst in 20%iger Salzsäure. Gesamtgewicht der Lösung 6,5714 g;  $d = 1,1$ . Drehung im 1-Dezimeterrohr —  $0,07^\circ$ .

Mithin  $[\alpha]_D^{20} = - 6,9^\circ$ .

III. *Penicillium purpurogenum*. 1. 200 ccm Nährlösung, 1% Glutaminsäure, 1% Glukose; zurückgewonnen 0,9 g Glutaminsäure vom Schmelzpunkt  $198^\circ$ . Wachstum 15. Nov. bis 22. Dez. 1909.

0,3614 g Glutaminsäure und ein Molgewicht Salzsäure. Gesamtgewicht der Lösung 5,3844 g;  $d = 1,028$ . Drehung im 1-Dezimeterrohr —  $0,23^\circ$ .

Mithin  $[\alpha]_D^{20} = - 3,3^\circ$ .

2. 1200 ccm Nährlösung, 0,5% Glutaminsäure, 1% Glukose. Wachstum 9. Dez. — 4. Jan. 1910.

0,3825 g Glutaminsäure und ein Molgewicht Salzsäure. Gesamtgewicht der Lösung 5,1422 g;  $d = 1,038$ . Drehung im 1-Dezimeterrohr —  $1,92^\circ$ .

Mithin  $[\alpha]_D^{20} = - 24,9^\circ$ .

IV. *Mucor mucedo*. 1. 0,5% Leucin, 2% Glukose; zurückgewonnen 0,1330 g Leucin. Wachstum 3. Dez. bis 11. Jan. 1909.

0,1330 g Leucin gelöst in 20%iger Salzsäure. Gesamtgewicht der Lösung 5,5126 g;  $d = 1,1$ . Drehung im 1-Dezimeterrohr —  $0,26^\circ$ .

Mithin  $[\alpha]_D^{20} = - 9,8^\circ$ .

2. 1% Leucin, keine Glukose; zurückgewonnen 0,62 g Leucin. Wachstum 5. Dez. — 3. Febr. 1909.

0,2264 g Leucin gelöst in 20%iger Salzsäure. Gesamtgewicht der Lösung 5,9412 g;  $d = 1,1$ . Drehung im 1-Dezimeterrohr  $0^{\circ}$ .

Mithin  $[\alpha]_D^{20} = 0^{\circ}$ .

V. *Mucor corymbifer*. 0,5% Leucin, 2% Glukose; zurückgewonnen 0,19 g Leucin. Wachstum 3. Dez. bis 11. Jan. 1909.

0,1868 g Leucin gelöst in 20%iger Salzsäure. Gesamtgewicht der Lösung 5,555 g;  $d = 1,1$ . Drehung im 1-Dezimeterrohr  $0^{\circ}$ .

Mithin  $[\alpha]_D^{20} = 0^{\circ}$ .

VI. *Mucor rhizopodiformis*. 1. 1% Leucin, 1% Glukose; zurückgewonnen I. Fraktion 0,2681 g, II. Fraktion 0,1754 g Leucin. Wachstum 28. Juni — 2. Juli 1909.

I. Fraktion 0,2681 g Leucin gelöst in 20%iger Salzsäure. Gesamtgewicht der Lösung 5,0326 g;  $d = 1,1$ . Drehung im 1-Dezimeterrohr  $0^{\circ}$ .

II. Fraktion 0,1754 g Leucin gelöst in 20%iger Salzsäure. Gesamtgewicht der Lösung 5,4298 g;  $d = 1,1$ . Drehung im 1-Dezimeterrohr  $0^{\circ}$ .

Mithin  $[\alpha]_D^{20} = 0^{\circ}$ .

2. 1% Leucin, 1% Glukose; zurückgewonnen 0,54 g Leucin. Wachstum 25. Okt. — 3. Nov. 1909.

0,2230 g Leucin gelöst in 20%iger Salzsäure. Gesamtgewicht der Lösung 4,2430 g;  $d = 1,1$ . Drehung im 1-Dezimeterrohr  $= - 0,19^{\circ}$ .

Mithin  $[\alpha]_D^{20} = - 3,3^{\circ}$ .

3. 200 ccm Nährlösung, 0,85% Glutaminsäure, 0,5% Glukose. Wachstum 6. August — 25. Okt. 1909.

0,0676 Glutaminsäurechlorhydrat, entsprechend 0,0510 g Glutaminsäure. Gesamtgewicht der Lösung 3,2601 g. Drehung im 1-Dezimeterrohr  $- 0,66^{\circ}$ .

Mithin  $[\alpha]_D^{20} = - 3,2^{\circ}$ .

VII. *Mucor javanicus*. 1% Leucin, keine Glukose; zu-

rückgewonnen 0,1754 g Leucin. Wachstum 26. Febr. bis 7. Juni 1909.

0,1754 g Leucin, gelöst in 20%iger Salzsäure. Gesamtgewicht der Lösung 5,7254 g;  $d = 1,1$ . Drehung im 1-Dezimeterrohr  $-0,29^{\circ}$ .

Mithin  $[\alpha]_D^{20} = -8,6^{\circ}$ .

VIII. *Rhizopus tonkinensis*. 1. 1% Leucin, 2% Glukose: zurückgewonnen 0,4490 g Leucin. Wachstum 3. Nov. bis 27. Nov. 1908.

0,3469 g Leucin, gelöst in 20%iger Salzsäure. Gesamtgewicht der Lösung 7,1280 g;  $d = 1,1$ . Drehung im 1-Dezimeterrohr  $-0,26^{\circ}$ .

Mithin  $[\alpha]_D^{20} = -4,9^{\circ}$ .

2. 1% Leucin, 2% Glukose. Der Pilz war in diesem Falle vorher auf 200 ccm 2%iger Rohrzuckerlösung mit  $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4$  als Stickstoffquelle herangezogen worden, auf der er vom 28. Okt. — 3. Nov. 1908 gewachsen war. Er wurde am 3. Nov. in die Leucinlösung übertragen und wirkte in ihr bis zum 27. Nov. Zurückgewonnen 0,1918 g Leucin.

0,1918 g Leucin, in 20%iger Salzsäure gelöst. Gesamtgewicht der Lösung 5,5620 g;  $d = 1,1$ . Drehung im 1-Dezimeterrohr  $-0,31^{\circ}$ .

Mithin  $[\alpha]_D^{20} = -8,1^{\circ}$ .

3. 0,5% Leucin, 1% Glukose; zurückgewonnen 0,2189 g Leucin. Wachstum 3. Nov. — 27. Nov. 1908.

0,2189 g Leucin, in 20%iger Salzsäure gelöst. Gesamtgewicht der Lösung 4,8837 g;  $d = 1,1$ . Drehung im 1-Dezimeterrohr  $0^{\circ}$ .

Mithin  $[\alpha]_D^{20} = 0^{\circ}$ .

4. 0,5% Leucin + 0,5% Witte-Pepton, 1% Glukose; zurückgewonnen 0,2810 g Leucin.

0,2810 g Leucin, gelöst in 20%iger Salzsäure. Gesamtgewicht der Lösung 5,5354 g;  $d = 1,1$ . Drehung im 1-Dezimeterrohr  $0^{\circ}$ .

Mithin  $[\alpha]_D^{20} = 0^{\circ}$ .



IX. *Oidium lactis*. 1% Leucin, keine Glukose: zurückgewonnen 0,1496 g Leucin.

0,1496 g Leucin, gelöst in 20%iger Salzsäure. Gesamtgewicht der Lösung 5,5554 g;  $d = 1,1$ . Drehung im 1-Dezimeterrohr  $-0,36^\circ$ .

Mithin  $[\alpha]_D^{20} = -12,1^\circ$ .

X. *Allescheria Gayonii*. 1. 1% Leucin, 2% Glukose: zurückgewonnen I. Fraktion 0,39 g Leucin, II. Fraktion 0,25 g Leucin. Wachstum 27. Okt. — 31. Nov. 1908.

I. Fraktion 0,2926 g, gelöst in 20%iger Salzsäure. Gesamtgewicht der Lösung 5,0363 g;  $d = 1,1$ . Drehung im 1-Dezimeterrohr  $0^\circ$ .

Mithin  $[\alpha]_D^{20} = 0^\circ$ .

Auch die II. Fraktion zeigte keine Drehung.

2. 1% Leucin, keine Glukose: zurückgewonnen 0,30 g Leucin. Wachstum 3. Dez. 1908 — 3. März 1909.

0,1554 g Leucin, gelöst in 20%iger Salzsäure. Gesamtgewicht der Lösung 5,7244 g;  $d = 1,1$ . Drehung im 1-Dezimeterrohr  $0^\circ$ .

Mithin  $[\alpha]_D^{20} = 0^\circ$ .

XI. *Monilia candida*. 1% Leucin, 2% Glukose: zurückgewonnen 0,6798 g Leucin. Wachstum 4.—30. Nov. 1908. Gärung beobachtet 14. Nov.

0,3598 g Leucin, gelöst in 20%iger Salzsäure. Gesamtgewicht der Lösung 6,6109 g;  $d = 1,1$ . Drehung im 1-Dezimeterrohr  $0^\circ$ .

Mithin  $[\alpha]_D^{20} = 0^\circ$ .

XII. *Hypomyces rosellus*. 1% Leucin, 1% Glukose: zurückgewonnen 0,2924 g Leucin. Wachstum 1.—27. Mai 1909.

0,2924 g Leucin, gelöst in 20%iger Salzsäure. Gesamtgewicht der Lösung 6,3268 g;  $d = 1,1$ . Drehung im 1-Dezimeterrohr  $0^\circ$ .

Mithin  $[\alpha]_D^{20} = 0^\circ$ .

XIII. *Phoma betae*. 1% Leucin, keine Glukose; zurückgewonnen 0,0754 g Leucin. Wachstum 27. April — 7. Juni 1909.

0,0754 g Leucin, gelöst in 20%iger Salzsäure. Gesamtgewicht der Lösung 5,4758 g;  $d = 1,1$ . Drehung im 1-Dezimeterrohr  $- 0,10^{\circ}$ .

Mithin  $[\alpha]_D^{20} = - 6,6^{\circ}$ .

XIV. *Bacillus coli communis*. 0,5% Leucin, 2% Glukose: zurückgewonnen 0,1094 g. Wachstum bei Bruttemperatur 15. Dez. 1908 — 20. Januar 1909.

0,1094 g Leucin, gelöst in 20%iger Salzsäure. Gesamtgewicht der Lösung 5,2591 g;  $d = 1,1$ . Drehung im 1-Dezimeterrohr  $0^{\circ}$ .

Mithin  $[\alpha]_D^{20} = 0^{\circ}$ .

XV. *Clostridium Americanum*.<sup>1)</sup> 1000 ccm Nährlösung, 0,2% Glutaminsäure, 0,5% Glukose. Zur Neutralisation der bei der Gärung sich bildenden Säuren wurde nicht  $\text{CaCO}_3$ , sondern  $\text{BaCO}_3$  zugesetzt, damit das in Lösung gegangene Baryum vor dem Eindampfen mit Schwefelsäure quantitativ entfernt werden konnte; zurückgewonnen 1,1 g Glutaminsäure. Gärung 26. Nov. — 15. Dez. 1909.

0,3590 g Glutaminsäure und ein Molgewicht Salzsäure. Gesamtgewicht der Lösung 5,2643 g;  $d = 1,030$ . Drehung im 1-Dezimeterrohr  $- 0,37^{\circ}$ .

Mithin  $[\alpha]_D^{20} = - 5,3^{\circ}$ .

XVI. Spontane Infektion. 1% Leucin, keine Glukose: zurückgewonnen 0,1117 g. Wachstum eines Schimmelpilzes 3. Dez. — 26. Jan. 1909.

0,1117 g Leucin gelöst in 20%iger Salzsäure. Gesamtgewicht der Lösung 5,430 g;  $d = 1,1$ . Drehung im 1-Dezimeterrohr  $- 0,17^{\circ}$ .

Mithin  $[\alpha]_D^{20} = - 7,5^{\circ}$ .

XVII. Der hier verwandte Schimmelpilz wurde isoliert, indem ein 0,5%ige Glukoselösung, die 0,5% l-Alanin als Stickstoffquelle enthielt, der Luft exponiert wurde. Von der auf

<sup>1)</sup> Vgl. hierzu H. Pringsheim, Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. XVI (1906), S. 795; Bd. XX (1908), S. 248; Bd. XXI (1908), S. 673; B. XXIII (1909), S. 300; Bd. XXIV (1909) S. 488; Bd. XXVI (1910); S. 221 u. S. 226.

Pflaumendekoktagar isolierten Kultur wurden Sporen in die Leucinlösung abgeimpft.

1% Leucin, 1% Glukose: zurückgewonnen 0,2080 g Leucin. Wachstum 25. Juni — 5. Juli 1909.

0,2080 g Leucin gelöst in 20%iger Salzsäure. Gesamtgewicht der Lösung 5,3584 g;  $d = 1,1$ . Drehung im 1-Dezimeterrohr  $0^\circ$ .

Mithin  $[\alpha]_D^{20} = 0^\circ$ .

XVIII. Der hier verwandte Schimmelpilz wurde isoliert, indem 0,5% l-Alanin als gleichzeitige Kohlen- und Stickstoffquelle der Luft exponiert wurde. Das in beiden Fällen angewandte l-Alanin zeigte die Drehung  $[\alpha]_D^{20} = -10,4^\circ$  in salzsaurer Lösung. Es war also reines l-Alanin.<sup>1)</sup> Von der auf Pflaumendekoktagar isolierten Kultur wurden Sporen in die Leucinlösungen abgeimpft.

1. 1% Leucin, keine Glukose: zurückgewonnen 0 g. Es war bei einem Wachstum vom 16. Juli — 23. Okt. 1909 offenbar die gesamte Menge der beiden Antipoden des Leucins aufgebraucht worden.

2. 1% Leucin, keine Glukose; zurückgewonnen 0,77 g Leucin. Wachstum 23. Okt. — 16. Nov. 1909.

0,2776 g Leucin gelöst in 20%iger Salzsäure. Gesamtgewicht der Lösung 4,1175 g;  $d = 1,1$ . Drehung im 1-Dezimeterrohr  $0^\circ$ .

Mithin  $[\alpha]_D^{20} = 0^\circ$ .

3. 1% Leucin, keine Glukose; zurückgewonnen 0,2284 g Leucin. Wachstum 16. Nov. — 9. Dez. 1909.

0,2284 g Leucin gelöst in 20%iger Salzsäure. Gesamtgewicht der Lösung 4,7345 g;  $d = 1,1$ . Drehung im 1-Dezimeterrohr  $-0,33^\circ$ .

Mithin  $[\alpha]_D^{20} = -6,6^\circ$ .

Bei stärkerem Angriff findet also auch hier eine Elektion der natürlichen Komponente des Leucins statt.

<sup>1)</sup> E. Fischer, Untersuchungen über Aminosäuren, Polypeptide und Proteine. Berlin 1906, S. 561, fand  $-10,3^\circ$ .

Pilzspecies	Prozent- gehalt der Nährlösung an d-l-Leucin %	Prozent- gehalt der Nähr- lösung an Glukose %	Drehung des zu- rückge- wonnenen Leucins in 20%iger HCl [ $\alpha$ ] <sub>D</sub> <sup>20</sup>	Prozent- gehalt des zurück- gewonnenen Leucins an d-Leucin % d-Leucin
<i>Aspergillus Wentii</i> . . . . .	0,5	2	— 8,63°	54
» <i>niger</i> . . . . .	1	2	— 6,9°	43
<i>Mucor mucedo</i> . . . . .	0,5	2	— 9,8°	61
» . . . . .	1	0	0°	0
» <i>javanicus</i> . . . . .	1	0	— 8,6°	54
» <i>corymbifer</i> . . . . .	0,5	2	0°	0
» <i>rhizopodiformis</i> . . . . .	1	1	0°	0
» . . . . .	1	1	— 3,3°	21
<i>Rhizopus tonkinensis</i> . . . . .	1	2	— 4,9°	31
» . . . . .	1	2	— 8,1°	51
» . . . . .	0,5	1	0°	0
» . . . . .	0,5 + 0,5 % Pepton	1	0°	0
<i>Oidium lactis</i> . . . . .	1	0	— 12,1°	76
<i>Allescheria Gayonii</i> . . . . .	1	2	0°	0
» . . . . .	1	0	0°	0
<i>Monilia candida</i> . . . . .	1	2	0°	0
<i>Hyphomyces rosellus</i> . . . . .	1	1	0°	0
<i>Phoma betae</i> . . . . .	1	0	— 6,6°	42
<i>Bac. coli communis</i> . . . . .	0,5	2	0°	0
Spontane Infektion . . . . .	1	0	— 7,5°	47
Schimmelpilz auf l-Ala- nin + Glukose isoliert	1	1	0°	0
Schimmelpilz auf l-Ala- nin isoliert . . . . .	1	0	0°	0
Desgl. . . . .	1	0	— 6,6°	42
	Prozentgehalt der Nährlösung an d-l-Glutamin- säure		Drehung der zurückge- wonnenen Glutamin- säure als HCl-Salz	Prozentgehalt der zurückge- wonnenen Glutaminsäure an l-Glutamin- säure
<i>Penicillium purpuro- genum</i> . . . . .	1	1	— 3,3°	11
Desgl. . . . .	0,5	1	— 24,9°	81
<i>Mucor rhizopodiformis</i> . . . . .	0,85	0,5	— 3,2°	10
<i>Clostridium Americanum</i>	0,2	0,5	— 5,3°	17

Die vorstehende Tabelle enthält eine Übersicht über die Resultate. Der Prozentgehalt an aktiver Komponente berechnet sich aus der Drehung des d-Leucins in 20%iger Salzsäure =  $-15,9^{\circ}$  und der l-Glutaminsäure als salzsaures Salz =  $-30,45^{\circ}$ .

Bemerkenswert ist noch, daß das Leucin als gemeinsame Kohlen- und Stickstoffquelle für verschiedene Pilze als gutes Nährmedium gedient hatte, während von anderer Seite eine gegenteilige Beobachtung vorliegt.<sup>1)</sup> Auch die l-Glutaminsäure erwies sich ohne Gegenwart einer andern Kohlenstoffquelle als sehr geeigneter Nährstoff für *Aspergillus niger*.

<sup>1)</sup> O. Emmerling, Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Jg. XXXV (1902), S. 2289.