

INHALTSSTOFFE VON ALGEN¹—II.

ÜBER DIE UNTERSCHIEDLICHE FETTSÄUREZUSAMMENSETZUNG VON SALZ- UND SÜBWASSERALGEN

P. POHL und H. WAGNER, unter Mitarbeit von T. PASSIG

Institut für Pharmazeutische Arzneimittellehre der Universität München, Deutschland

(Received 6 March 1968)

Zusammenfassung—Sechs Meeresalgen aus dem Stamm der Rhodophyta (*Laurencia obtusa*), der Phaeophyta (*Dictyopteris polypodioides*, *Styptocaulon scorpium*, *Taonia atomaria*, *Undaria pinnatifida*) und der Chlorophyta (*Valonia utricularis*), zwei gezüchtete einzellige Salzwassergrün- und- rotalgen (*Platymonas tetraphyle* und *Porphyridium cruentum*) und zwei gezüchtete Süßwassergreenalgen (*Chlorella variegata* und *Scenedesmus obliquus*) wurden auf ihre Fettsäurezusammensetzung untersucht. Die beiden gezüchteten Salzwasseralgen stimmen in der Fettsäurezusammensetzung gut mit den entsprechenden Meeresalgen überein. Dagegen enthalten die gezüchteten Süßwassergreenalgen in Übereinstimmung mit allen anderen bisher untersuchten Süßwassergreenalgen und im Gegensatz zu allen Salzwasseralgen keine ungesättigten C₂₀- und C₂₂-Fettsäuren mehr, sondern als höchst ungesättigte Verbindung lediglich die C₁₈ (3=)-Fettsäure (Linolensäure). Die Süßwassergreenalgen ähneln damit stark den Landpflanzen. Die Untersuchungen deuten darauf hin, daß möglicherweise die Anpassung der Chlorophyta vom Meereswasser an das Süßwasser im Verlauf der pflanzlichen Evolution für diese Verminderung der Fettsäure-Biosynthese verantwortlich ist.

Abstract—Six marine algae of the Rhodophyta (*Laurencia obtusa*), Phaeophyta (*Dictyopteris polypodioides*, *Styptocaulon scorpium*, *Taonia atomaria*, *Undaria pinnatifida*) and Chlorophyta (*Valonia utricularis*), two cultured unicellular sea-water algae of the Chlorophyta and Rhodophyta (*Platymonas tetraphyle* and *Porphyridium cruentum*) and two cultured freshwater algae of the Chlorophyta (*Chlorella variegata* and *Scenedesmus obliquus*) were analysed for their fatty acid content. The two cultured sea-water algae gave exactly the same compounds as the corresponding marine algae. However, there are remarkable differences between the sea-water and freshwater green algae. The latter do not contain unsaturated fatty acids with 20 and 22 carbon atoms, or the C₁₈(4=) fatty acid. In this respect, the freshwater green algae resemble the terrestrial plants. The results indicate that the adaption of the chlorophyta from sea-water to freshwater is probably responsible for this loss in fatty acid biosynthesis during plant evolution.

EINLEITUNG

MEERESALGEN haben im Gegensatz zu den phylogenetisch tieferstehenden Bacteriophyta und Phytoflagellatae und den höher entwickelten Landpflanzen die mannigfaltigste Fettsäurezusammensetzung unter allen Pflanzen.¹⁻³ Diese äußert sich in einer Vielzahl verschiedener Fettsäuren mit 12 bis 22 C-Atomen und 1 bis 6 Doppelbindungen. In neuerer Zeit wurde dieser Befund durch die Arbeiten von Ackman⁴ über *Skeletonema costatum* (Diatomeae), von Williams⁵ über sechs marine Algen aus verschiedenen Familien und von Chuecas⁶ über 8 Vertreter der Rhodophyta und Phaeophyta bestätigt.

¹ I. Mitteilung: H. WAGNER und P. POHL, *Biochem. Z.* **341**, 476 (1965).

² E. KLENK, D. EBERHAGEN und H. P. KOOR, *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* **334**, 44 (1963).

³ H. WAGNER und P. POHL, *Phytochem.* **5**, 903 (1966).

⁴ R. G. ACKMAN, P. M. JANGAARD, R. J. HOYLE und H. BROCKERHOFF, *J. Fish. Res. Bd. Canada* **21**, 747 (1964).

⁵ P. M. WILLIAMS, *J. Fish. Res. Bd. Canada* **22**, 1107 (1965).

⁶ L. CHUECAS und J. R. RILEY, *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* **46**, 153 (1966).

Die Landpflanzen dagegen besitzen, abgesehen von wenigen Ausnahmen,⁷⁻¹⁶ keine höherungsgesättigten C₂₀- und C₂₂-Fettsäuren mehr, ja nicht einmal mehr die C₁₈(4=)-Fettsäure. Die am höchsten ungesättigte Fettsäure aller Landpflanzen ist in der Regel die Δ_{9,12,15}-C₁₈(3=)-Fettsäure (α-Linolensäure).

Beim evolutionären Übergang von den Meeresalgen zu den Landpflanzen, der sich nach unseren heutigen Kenntnissen aus den Chlorophyta, nicht aber aus den Rhodophyta und Phaeophyta vollzogen hat,¹⁷ ist also eine charakteristische Verminderung der Fettsäurebildung festzustellen.³ Wenn man annimmt, daß dieser Übergang zuerst durch eine Umgewöhnung der Grünalgen von Meereswasser auf Süßwasser und dann erst durch Anpassung

TABELLE 1. FETTSÄUREZUSAMMENSETZUNG: RHODOPHYTA UND PHAEOPHYTA
(in %, bezogen auf die Gesamt fettsäuren*)

Fett säure	Rhodophyta				Phaeophyta			
	PC†	GC	LO	SM	DP	SS	TA	UP
12:0	—	1,9	Sp.	0,9	0,2	8,6	0,7	0,6
14:0	0,4	8,1	6,7	6,0	7,4	3,7	7,5	7,2
14:1	0,3	0,7	Sp.	0,5	0,3	1,1	0,8	0,9
16:0	26,2	18,2	54,4	26,2	18,3	13,3	16,2	27,9
16:1	2,3	3,4	4,0	1,3	2,3	4,0	9,1	7,8
16:2	Sp.	Sp.	—	Sp.	0,3	1,4	0,9	0,4
18:0	1,2	1,0	3,7	1,8	0,9	1,3	1,0	1,8
Δ ₉ -18:1	3,8	16,1	11,7	5,3	13,9	8,1	9,0	15,8
Δ _{9,12} -18:2	15,3	1,7	4,3	22,1	9,7	11,6	5,9	9,2
Δ _{9,12,15} -18:3	0,4	0,8	0,9	—	11,9	9,0	9,4	7,2
Δ _{6,9,12,15} -18:4	2,2	0,5	—	—	15,0	16,0	18,7	6,9
19:0	—	—	—	Sp.	0,6	—	1,7	0,2
20:0	0,6	1,3	Sp.	Sp.	1,4	2,2	2,0	1,8
20:3	—	—	—	—	—	—	—	—
Δ _{5,8,11,14} -20:4	33,0	45,5	5,3	28,1	8,3	7,6	7,3	8,6
Δ _{5,8,11,14,17} -20:5	11,2	0,4	8,9	7,6	8,4	10,3	7,2	3,4
22:0	2,7	0,5	—	—	1,1	1,2	1,4	0,3
22:5	—	—	—	—	—	—	—	—
Δ _{4,7,10,13,16,19} -22:6	—	—	—	—	—	—	—	—

* Die angegebenen Prozentzahlen wurden durch Flächenberechnung aus den Gas-chromatogrammen ermittelt.

† Gezüchtet (Abkürzungen nach Tabelle 2).

⁷ M. TSUJIMOTO und H. KOYANAGI, *J. Soc. Chem. Ind. Japan* **36**, 110B, 673B (1933).

⁸ T. TUTIYA, *J. Chem. Soc. Japan* **61**, 717 (1940).

⁹ H. P. KAUFMANN und M. KELLER, *Chem. Ber.* **81**, 152 (1948).

¹⁰ H. P. KAUFMANN, *Chem. Ber.* **81**, 159 (1948).

¹¹ H. WAGNER und H. KÖNIG, *Biochem. Z.* **339**, 212 (1963).

¹² B. M. CRAIG und M. K. BHATTY, *J. Am. Oil Chemist's Soc.* **41**, 209 (1964).

¹³ C. R. SMITH, J. W. HAGEMANN und I. A. WOLFF, *J. Am. Oil Chemist's Soc.* **41**, 290 (1964).

¹⁴ R. KLEIMAN, F. R. EARLE und I. A. WOLFF, *J. Am. Oil Chemist's Soc.* **41**, 459 (1964).

¹⁵ H. SCHLENK und J. L. GELLERMANN, *J. Am. Oil Chemist's Soc.* **42**, 504 (1965).

¹⁶ H. WAGNER und H. FRIEDRICH, *Naturwissenschaften* **52**, 305 (1965).

¹⁷ E. STRASBURGER, F. NOLL, H. SCHENK und A. F. SCHIMPER, *Lehrbuch der Botanik*. G. Fischer-Verlag, Stuttgart, 1958 (S. 613).

¹⁸ E. KLENK und W. KNIPPRATH, *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* **317**, 243 (1959).

¹⁹ E. KLENK und W. KNIPPRATH, *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* **327**, 283 (1962).

²⁰ H. SCHLENK, H. K. MANGOLD, J. L. GELLERMANN, W. E. LINK, R. A. MORISSETTE, R. T. HOLMAN und H. HAYES, *J. Am. Oil Chemist's Soc.* **37**, 547 (1960).

der Algen an die Bedingungen außerhalb des Wassers erfolgt ist, erhebt sich die Frage, in welcher Phase des Überganges die beobachtete Verminderung der Fettsäurebildung eingetreten ist. Interessant waren in diesem Zusammenhang frühere Arbeiten von Ackman,⁴ Williams,⁵ Klenk^{18,19} und Schlenk,²⁰ die in den Süßwassergrünalgen *Ankistrodesmus*, *Chlorella* und *Scenedesmus* keine höher ungesättigten C_{20} - und C_{22} -Fettsäuren festgestellt hatten.

Es erschien uns daher im Anschluß an unsere früheren Untersuchungen über die Fettsäuren in Algen¹ wichtig, neben weiteren Meeresalgen* auch züchtbare einzellige Salzwasser-† und Süßwasseralgen auf ihren Gehalt an ungesättigten Fettsäuren zu untersuchen. Zu diesem Zweck wurde die Fettsäure-Zusammensetzung von sechs Meeresalgen und vier gezüchteten Algen (eine Salzwasserrotalge, eine Salzwassergrünalge und zwei Süßwassergrünalgen) bestimmt.

RESULTATE

In den Tabellen 1 und 2 sind die Fettsäuregehalte der untersuchten Algen angegeben.

TABELLE 2. FETTSÄUREZUSAMMENSETZUNG: CHLOROPHYTA
(in %, bezogen auf die Gesamtfettsäuren)

Fettsäure	Salzwasseralgen					Süßwasseralgen			
	PT*	CE	HT	UF	VU	CV*	CP*	AB*	SO*
12:0	0,4	2,4	0,6	1,3	Sp.	0,4	Sp.	Sp.	—
14:0	2,0	4,4	10,1	0,8	3,4	2,5	0,15	Sp.	1,4
14:1	0,4	0,8	0,6	Sp.	Sp.	0,9	Sp.	—	1,1
16:0	11,2	10,9	18,3	19,2	37,3	14,8	13,6	33,0	4,0
16:1	4,0	10,2	6,4	3,9	3,4	4,7	3,2	Sp.	1,8
16:2	2,4	3,0	1,7	1,3	1,2	13,7	7,0	—	0,4
Δ7,10,13-16:3	3,5	1,6	3,0	—	4,9	5,9	5,1	—	0,2
Δ4,7,10,13-16:4	14,0	—	—	3,0	—	—	—	—	†
18:0	9,2	2,0	2,0	0,5	3,2	0,5	3,5	Sp.	0,9
Δ9-18:1	12,9	18,3	26,3	20,7	18,4	6,0	34,7	54,0	5,2
Δ9,12-18:2	12,4	9,7	12,9	7,5	7,5	23,0	17,7	Sp.	†
Δ9,12,15-18:3	16,0	16,4	5,2	13,5	9,8	27,6	14,6	13,0	19,3
Δ6,9,12,15-18:4	7,6	4,9	1,9	21,2	Sp.	—	—	—	3,6
19:0	3,0	Sp.	—	1,2	3,5	—	—	—	—
20:0	5,0	6,2	0,8	Sp.	Sp.	—	—	—	—
20:3	0,1	—	2,0	0,3	—	—	—	—	—
Δ5,8,11,14-20:4	2,0	4,8	2,4	1,4	5,8	—	—	—	—
Δ5,8,11,14,17-20:5	3,8	3,6	3,6	0,4	1,5	—	—	—	—
22:0	—	0,7	0,5	0,9	Sp.	—	—	—	—
22:5	—	—	—	3,4	—	—	—	—	—
Δ4,7,10,13,16,19-22:6	—	—	1,5	—	—	—	—	—	—

* Gezüchtet.

† $16:4 + 18:2 = 59,4\%$.

Abkürzungen:

PC: *Porphyridium cruentum*; GC: *Gracilaria confervoides*; LO: *Laurencia obtusa*; SM: *Sebdenia monardiana*; DP: *Dictyopteris polypodioides*; SS: *Styptocaulon scorpiarium*; TA: *Taonia atomaria*; UP: *Undaria pinnatifida*; CV: *Chlorella variegata*; CP: *Chlorella pyrenoidosa*; AB: *Ankistrodesmus braunii*; SO: *Scenedesmus*

* Im Meer wachsende vielzellige Algen.

† Einzellige Algen, die bakterienfrei in einem künstlichen, meerwasser-ähnlichen Medium gezogen wurden.

obliquus; PT: *Platymonas tetrathelae*; CE: *Codium elongatum*; HT: *Halimeda Tuna*; UF: *Ulva fasciata*; VU: *Valonia utricularis*.

Die Algen GC, SM, CE, HT und UF wurden bereits früher von uns¹ und die Algen CP und AB von Schlenk²⁰ und Williams²¹ untersucht. Ihre Fettsäuregehalte werden hier zusätzlich zum Vergleich herangezogen.

DISKUSSION

Beim Vergleich der in Tabelle 1 und 2 aufgeführten drei Algenstämme wird für alle von uns neu untersuchten Meeresalgen zunächst ein aus früheren Arbeiten¹⁻³ bekanntes Bild bestätigt. Bei den Rhodophyta überwiegen die ungesättigten C₂₀-Fettsäuren mit 4 und 5 Doppelbindungen, bei den Phaeophyta besteht eine ziemlich ausgeglichene Verteilung an ungesättigten C₁₈- und C₂₀-Fettsäuren und bei den Chlorophyta dominieren die ungesättigten C₁₈-Fettsäuren neben relativ geringen Mengen von C₂₀- und teilweise auch C₂₂-Fettsäuren. Bei den Chlorophyta tritt zusätzlich noch die C₁₆(3=)-Fettsäure auf, außerdem kommen vereinzelt extrem hoch ungesättigte Fettsäuren, wie z.B. die C₁₆(4=)-, C₂₂(5=)- und die C₂₂(6=)-Fettsäuren vor.

Die Strukturbestimmung an den höher ungesättigten Fettsäuren durch oxydative Abbau ergab die bekannten Strukturen des Ölsäuretyps [Δ 9-C₁₈(1=)], des Linolsäuretyps [Δ 9,12-C₁₈(2=) und Δ 5,8,11,14-C₂₀(4=)] und des Linolensäuretyps [Δ 7,10,13-C₁₆(3=), Δ 4,7,10,13-C₁₆(4=), Δ 9,12,15-C₁₈(3=), Δ 6,9,12,15-C₁₈(4=), Δ 5,8,11,14,17-C₂₀(5=) und Δ 4,7,10,13,16,19-C₂₂(6=)]. Wie aus anderen Arbeiten bekannt, finden sich diese Strukturen auch im Plankton^{22,23} und in Fischölen.²⁴⁻²⁷ Vereinzelt traten nach der Fettsäurespaltung neben den erwarteten Abbauprodukten in geringen Konzentrationen noch Spaltstücke auf, die u.U. von isomeren Fettsäuren mit ungewöhnlicher Lage der Doppelbindungen herrühren. Die Untersuchungen über diese Verbindungen sind noch nicht abgeschlossen.

Die gezüchtete Salzwasser-Rotalge *Porphyridium cruentum* (PC) stimmt hinsichtlich der Fettsäuren qualitativ und quantitativ gut mit den entsprechenden Meeresrotalgen (GC, LO, SM; s. Tabelle 2) überein. Das Gleiche scheint für die Chlorophyta zu gelten. Die gezüchtete Salzwassergrünalge *Platymonas tetrathelae* (PT) weicht nämlich in der Fettsäurezusammensetzung praktisch nicht von den Meeresgrünalgen (CE, UF, VU) ab.

Sehr bemerkenswert ist, daß sich die von uns gezüchtete Salzwassergrünalge *Platymonas tetrathelae* sowie alle bisher untersuchten Meeresgrünalgen^{1,2} in charakteristischer Weise sowohl von den von uns untersuchten Süßwassergrünalgen *Chlorella variegata* und *Scenedesmus obliquus* als auch von allen anderen bisher untersuchten Süßwassergrünalgen (*Ankistrodesmus braunii*,²¹ *Chlorella pyrenoidosa*²⁰ und *Chlorella* sp.²⁸⁻³⁰ unterscheiden. Diese Süßwassergrünalgen enthalten im Gegensatz zu allen Salzwasseralgen keine ungesättigten C₂₀- und C₂₂-Fettsäuren mehr und nur in wenigen Fällen (*Scenedesmus obliquus*,² (s. auch Tabelle 2) und *Chlorella vulgaris*³² die C₁₈(4=)-Fettsäure. Sie ähneln deshalb in dieser Hinsicht bereits stark den Landpflanzen.^{3,16,31}

²¹ V. R. WILLIAMS und R. McMILLAN, *Science* **133**, 459 (1961).

²² P. B. KELLY, R. REISER und D. W. HOOD, *J. Am. Oil Chemists' Soc.* **36**, 104 (1959).

²³ E. KLENK und D. EBERHAGEN, *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* **328**, 189 (1962).

²⁴ P. B. KELLY, R. REISER und D. W. HOOD, *J. Am. Oil Chemists' Soc.* **35**, 189 (1958).

²⁵ P. B. KELLY, R. REISER und D. W. HOOD, *J. Am. Oil Chemists' Soc.* **35**, 503 (1958).

²⁶ E. KLENK und D. EBERHAGEN, *Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem.* **328**, 180 (1962).

²⁷ E. H. GRUBER, R. W. NELSON und M. E. STANSBY, *J. Am. Oil Chemists' Soc.* **41**, 662 (1964).

²⁸ H. W. MILNER, *J. Biol. Chem.* **176**, 813 (1948).

²⁹ R. F. PASCHKE und D. H. WHEELER, *J. Am. Oil Chemists' Soc.* **31**, 81 (1954).

³⁰ J. IWATA, *Agr. Biol. Chem.* **28**, 610 (1964).

³¹ A. RADUNZ, *Phytochem.* **6**, 399 (1967).

³² F. HAVERKATE, Dissertation, Univ. Utrecht (1965).

Der charakteristische Unterschied zwischen Meeresgrünalgen, gezüchteten Salz- und Süßwassergrünalgen ist in Abb. 1 in drei Gaschromatogrammen dargestellt.

Wie wir schon früher festgestellt hatten,³ hat sich im Pflanzenreich die Fähigkeit zur Biosynthese von ungesättigten Fettsäuren im Verlaufe der Evolution von den Bacteriophyta über die Phytoflagellatae und Meeresalgen bis hin zu den Landpflanzen in einer charakteristischen Entwicklungskurve ausgebildet. Diese Kurve erreichte ihren Höhepunkt mit der größten Vielfalt an ungesättigten Fettsäuren bei den Meeresgrünalgen und ging dann im Verlauf des Überganges von den Meeresgrünalgen zu den Landpflanzen wieder bis etwa auf das Niveau der $C_{18}(3=)$ -Fettsäure zurück.

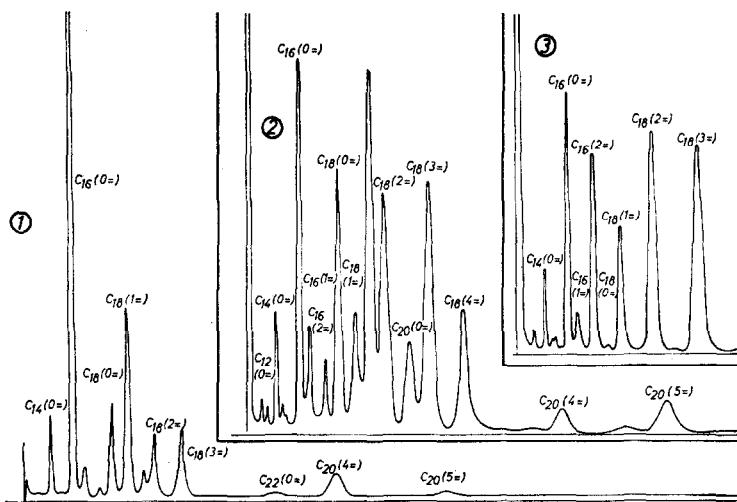


ABB. 1. GASCHROMATOGRAPHIE DER GESAMTFETTSÄUREMETHYLESTER VON DREI GRÜNALGEN.

1. *Valonia utricularis* (Meeresalge).
2. *Platymonas tetrathale* (gezüchtete Salzwasser-alge).
3. *Chlorella variegata* (gezüchtete Süßwasser-alge).

Ausnahmen von dieser Regel bilden einige Vertreter der Bryophyta, Pteridophyta und Gymnospermae^{15,16} (Gehalt an $C_{18}(4=)$ und $C_{20}(4=)$ -FS) sowie der Angiospermae (Boraginaceae,¹¹⁻¹⁴ *Parinarium*,⁷ *Impatiens*,^{8,9} *Iris*,¹⁰ *Nymphaea*,¹⁰ *Antirrhinum*³³ (Gehalt an $C_{18}(4=)$ -FS)).

Abgesehen von diesen Ausnahmen sind die Landpflanzen nicht fähig, höher ungesättigte Fettsäuren mit mehr als 18 C-Atomen und drei Doppelbindungen zu bilden. Die Gründe für dieses Phänomen sind bis heute unbekannt.

Auf Grund unserer früheren Untersuchungen^{1,3} hängt diese Erscheinung jedoch offensichtlich mit dem evolutionären Übergang der Pflanzen vom Meer auf das Land zusammen. Dieser Übergang vollzog sich von den Meeresgrünalgen zu den Landpflanzen und ist höchstwahrscheinlich nicht unmittelbar aus dem Seewasser auf das Land vor sich gegangen, sondern nur allmählich unter Anpassung der Grünalgen vom Seewasser her an Süßwasser und schließlich vom Süßwasser aus an die Bedingungen außerhalb des Wassers.

Es ergibt sich hieraus die Frage, ob das Verschwinden der höher ungesättigten C_{20} - und C_{22} -Fettsäuren und der $C_{18}(4=)$ -Fettsäure erst beim Übergang vom Süßwasser auf das

³³ H. DEBUCH, Z. Naturforsch. 16, 561 (1961).

Land durch Anpassung an die Bedingungen außerhalb des Wassers oder aber schon vorher innerhalb der Chlorophyta während der allmählichen Umgewöhnung von Meerwasser auf Süßwasser eingesetzt hat.

Die hier vorgelegten Resultate legen die Vermutung nahe, daß die zweite Möglichkeit zutrifft. Welche äußeren Faktoren für dieses Phänomen verantwortlich sind (Veränderungen des osmotischen Druckes oder der Salzzusammensetzung des Wassers etc.), wird z.Zt. von uns untersucht.

MATERIAL UND METHODEN

(A) Meeresalgen

Die folgenden 5 Algen wurden von Mai bis Juni 1966 und 1967 im Golf von Neapel gesammelt, sofort tiefgefroren und gefriergetrocknet.

Rhodophyta. *Laurencia obtusa* (Huds.) Lam.; *Undaria pinnatifida* (Harv.) Suring. Diese Alge wurde uns freundlicherweise von Frau Dr. E. Willweber, Kyoto, Japan, zur Verfügung gestellt.

Phaeophyta. *Dicthyopteris polypodioides* (Desf.) Lamour.; *Styptocaulon scorpiarium* (L.) Kütz.; *Taonia atomaria* (Good. et Wood.) Ag.

Chlorophyta. *Valonia utricularis* (Roth) C. Ag.

(B) Gezüchtete Salzwasseralgen

Chlorophyta. *Platymonas tetrathele* West.; *Nährmedium*: Anorganisches, seewasserähnliches Medium nach Provasoli.³⁴

Rhodophyta. *Porphyridium cruentum* (Ag.) Naegeli.; *Nährmedium*: Anorganisches, seewasserähnliches Medium nach Jones.³⁵

(C) Gezüchtete Süßwasseralgen

Chlorophyta. *Chlorella variegata* Beijerinck.; *Nährmedium*: Na-Aacetat 2,0 g; Hefeextrakt 1,0 g; Bacto-Trypton 1,0 g; H₂O 1000 ml.

Scenedesmus obliquus (Turp.) Kütz. (bezogen von der Kohlenstoffbiologischen Forschungsstation e.V., Dortmund).

Die Algen *Platymonas tetrathele*, *Porphyridium cruentum* und *Chlorella variegata* wurden als bakterienfreie Agar-Kulturen vom Pflanzenphysiologischen Institut, 34 Göttingen, Nikolausberger Weg 18 (Dr. W. Koch) bezogen und bei 25° in 7 l. Steilbrustflaschen unter Durchleitung von Luft und unter Belichtung mit 3000 Lux in den oben erwähnten, der Literatur entnommenen Nährmedien bakterienfrei gezüchtet.

(D) Extraktion der Lipoide und Isolierung der Fettsäuren

Die Zuchtalgen wurden kurz nach Beginn der stationären Wachstumsphase (ca. 20–35 Tage) aus der Nährlösung abzentrifugiert, gefriergetrocknet und ebenso wie die gefriergetrockneten Meeresalgen mit Seesand fein zerrieben und bei Zimmertemperatur mit CHCl₃–Methanol (1:2) unter N₂ und unter Schütteln bis zur Farblosigkeit des Extraktionsmittels extrahiert. Die so erhaltenen Gesamtlipoide wurden im Vakuum bei 40° zur Trockene

³⁴ L. PROVASOLI, J. J. A. McLAUGHLIN und M. R. DROOP, *Arch. Mikrobiol.* **25**, 392 (1957).

³⁵ R. F. JONES, H. L. SPEER und W. KURY, *Physiol. Plantarum* **16**, 636 (1963).

eingeengt, mit methanolischer N-KOH unter N_2 90 Min verseift, nach quantitativer Entfernung des unverseifbaren Anteiles (mit Äther) angesäuert, die Fettsäuren mit Petroläther extrahiert, mit Wasser gewaschen und sofort mit CH_2N_2 nach der Mikromethode von Schlenk³⁶ methyliert. Die erhaltenen Mengen sind in Tabelle 3 aufgeführt.

TABELLE 3. RESULTATE DER ALGEN-EXTRAKTIONEN (IN g)

	Rhodophyta				Phaeophyta			
	PC*	GC	LO	SM	DP	SS	TA	UP
Naß-Gewicht	19,5	325	196	350	410	145	310	295
Trocken-Gewicht	2,8	49	22	52	60	35	90	49
Gesamt-Lipoide	0,85	2,5	1,7	5,0	9,4	2,0	7,2	4,6
Gesamt-Fettsäuren	0,07	0,71	0,31	0,72	1,8	0,33	1,8	1,2

Chlorophyta								
Süßwasseralgen				Salzwasseralgen				
CV*		SO*	PT*	CE	HT	UF	VU	
Naß-Gewicht	20,4	—	5,1	520	300	380	470	
Trocken-Gewicht	4,8	25,0	1,3	37	52	83	35	
Gesamt-Lipoide	1,5	3,7	0,2	4,5	3,8	10,1	2,8	
Gesamt-Fettsäuren	0,41	0,45	0,07	0,81	0,53	2,0	0,46	

* Gezüchtet. (Abkürzungen nach Tabelle 2.)

(E) Analyse der Fettsäuremethylester

Die genaue Bestimmung der Fettsäurezusammensetzung und die Isolierung der Einzelester wurde mit einer bereits früher von uns angegebene Kombination von präparativer Dünn-schicht und Gaschromatographie durchgeführt.³⁷

1. *Präparative Dünn-schichtchromatographie.* Die Fettsäuremethylester wurden in ihre Quecksilber(II)-Acetat-Addukte überführt und mit Hilfe der Laufmittel Isobutanol-Ameisensäure-Wasser (100:0,5:15,7), Petroläther-Äther (2:1) oder Äthylmethylketon-Ameisensäure (100:0,1) auf Kieselgel-Kieselgur (3:7)-Platten in die gesättigten und die ungesättigten Verbindungen aufgetrennt. Die Anwendung der jeweiligen Laufmittel richtete sich nach der aus der Gaschromatographie ermittelten Fettsäurezusammensetzung. Die Bestimmung der einzelnen Fettsäuren erfolgte nach Spaltung der aus den Platten eluierten Einzeladdukte durch Gaschromatographie der regenerierten Fettsäuremethylester auf die bisher übliche Weise.³⁷

2. *Strukturbestimmung.* Der Abbau der Fettsäuremethylester erfolgte nach einer neuen, von uns ausgearbeiteten Mikro-Methode* durch oxidative Spaltung mit $KMnO_4$ in Eisessig und gaschromatographische Bestimmung der erhaltenen Mono- und DikarbonsäureEster.

* Eine ausführliche Beschreibung der von uns angewandten Methodik wird in Kürze veröffentlicht.

³⁶ H. SCHLENK und J. L. GELLERMANN, *Anal. Chem.* 32, 1412 (1960).

³⁷ H. WAGNER und P. POHL, *Biochem. Z.* 340, 337 (1964).

3. *Gaschromatographie.* Modell Packard (FID), Säule: 2 m × 4 mm; Säulenmaterial: 15% EGSS-X auf Gaschrom P (100–120 mesh); Säulentemperatur: (a) 180° (für langkettige gesättigte und ungesättigte Ester), (b) von 60° auf 180° programmiert (Zuwachsrate 3°/Min) (für Mono- und Dicarbonsäureester aus der Fettsäurespaltung); Gasdurchfluß: 65 ml Argon/Min; Einspritzmenge: 0,1 mg.

Danksagung—Unser Dank gilt dem Direktor der Zoologischen Station von Neapel, Herrn Dr. Peter Dohrn, für die großzügige Unterstützung bei der Beschaffung der Meeresalgen und dem Bayerischen Staatsministerium für Unterricht und Kultus für die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes in Neapel. Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.