

Fettsäuren und Lipide in farblosen Algen

Fatty Acids and Lipids in Colourless Algae

H. Glasl und P. Pohl

Institut für Pharmazeutische Arzneimittellehre, Universität München

(Z. Naturforsch. 29 c, 399–406 [1974]; eingegangen am 25. Februar/4. April 1974)

Fatty Acids, Lipids, Colourless Algae

The colourless algae, *Prototheca portoricensis*, *Polytoma oviforme*, *Chlorella variegata* (Chlorophyta), and *Chilomonas paramecium* (Pyrrhophyta) mainly synthesize the 16 : 0, 18 : 1, and partly also 18 : 2 and 18 : 3 fatty acids.

The major lipids formed were neutral lipids (glycerides and sterol esters) and phospholipids.

In their fatty acid content, these organisms resembled fresh water green algae. They differed from the photosynthesizing fresh water green algae, however, in containing none or very low amounts of polyunsaturated C₁₆ acids (16 : 2, 16 : 3) and glycolipids.

Die im Salzwasser und die im Süßwasser lebenden Vertreter der Chlorophyta (Grünalgen) unterscheiden sich in charakteristischer Weise hinsichtlich ihrer Fettsäuren. Die Salzwasser-Grünalgen besitzen gesättigte und ungesättigte C₁₆- bis C₂₂-Fettsäuren mit bis zu 6 Doppelbindungen^{1–6}. Sie stellen in dieser Hinsicht die Pflanzengruppe mit der größten Vielfalt an gesättigten und ungesättigten Fettsäuren dar^{7, 8}.

Die Süßwasser-Grünalgen dagegen bilden vor allem gesättigte und ungesättigte C₁₆- und C₁₈-Fettsäuren⁵. Die C₂₀- und C₂₂-Fettsäuren werden von diesen Algen nicht oder nur in Spuren gebildet.

Alle obigen Salz- und Süßwasseralgen haben gemeinsam, daß die Chlorophyll besitzen und Photosynthese betreiben. Einige der von ihnen gebildeten Lipide (Phosphatidylglycerin, Sulfolipid, Monogalactosyldiglycerid, Digalactosyldiglycerid) und Fettsäuren (47,10-16:2; 47,10,13-16:3; 49,12-18:2; 49,12,15-18:3) sind typisch für photosynthetisierende Pflanzen^{9–19}.

Die Biosynthese dieser Verbindungen wird von Licht beeinflußt^{13, 15, 16, 19–23}.

Nun gibt es unter den Chlorophyta Verlustmutanten, die keine Chromatophoren mehr besitzen²⁴. Sie bilden keine Chlorophylle, sind also „farblos“ und wachsen heterotroph auf organischen Kohlenstoffquellen wie z. B. Acetat oder Glucose.

Sonderdruckanforderungen an Dr. H. Glasl, Institut für Pharmazeutische Arzneimittellehre der Universität München, D-8000 München 2, Karlstr. 29, Germany.

Im Anschluß an unsere vorhergehenden Arbeiten über die Fettsäuren in verschiedenen Algen^{2, 5, 19, 25} stellte sich daher die Frage, inwieweit sich diese farblosen Vertreter der Chlorophyta bei Züchtung unter den gleichen Bedingungen, also unter Belichtung, hinsichtlich ihrer Fettsäuren und Lipide von „grünen“ Vertretern unterscheiden.

Drei der untersuchten Algen (*Chlorella variegata*, *Prototheca portoricensis* var. *ciferrii* und *Polytoma oviforme*) gehören zu den Chlorophyta. Von diesen bilden *Prototheca p.* und *Polytoma o.* unter Belichtung kein Chlorophyll, während *Chlorella v.* im Dunkeln farblos und im Licht grün wächst. *Prototheca p.* ist eine farblose Parallelform von *Chlorella*, *Polytoma o.* eine farblose Parallelform von *Chlamydomonas*²⁶. *Chilomonas paramecium* gehört zu den Pyrrhophyta. Alle vier Algen lassen sich heterotroph in acetathaltigen Nährösungen züchten²⁷.

Material und Methoden

Algen

Chlorella variegata Beijerinck (einzellig, Süßwasser, Chlorophyta); *Prototheca portoricensis* var. *ciferrii* Ashford (einzellig, Süßwasser, Chlorophyta); *Polytoma oviforme* Pringsheim (einzellig, begeißelt, Süßwasser, Chlorophyta); *Chilomonas paramecium* Ehrenberg (einzellig, begeißelt, Süßwasser, Pyrrhophyta).

Abkürzungen: GC, Gaschromatographie; DC, Dünnschichtchromatographie; TG, Triglyceride; DG, Diglyceride; SE, Sterinester; MGDG, Monogalactosyldiglycerid; DGDG, Digalactosyldiglycerid; SL, Sulfolipid; PG, Phosphatidylglycerid; C, Cardiolipin; PE, Phosphatidylethanolamin; PI, Phosphatidylinositol; PC, Phosphatidylcholin.



Dieses Werk wurde im Jahr 2013 vom Verlag Zeitschrift für Naturforschung in Zusammenarbeit mit der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V. digitalisiert und unter folgender Lizenz veröffentlicht: Creative Commons Namensnennung-Keine Bearbeitung 3.0 Deutschland Lizenz.

Zum 01.01.2015 ist eine Anpassung der Lizenzbedingungen (Entfall der Creative Commons Lizenzbedingung „Keine Bearbeitung“) beabsichtigt, um eine Nachnutzung auch im Rahmen zukünftiger wissenschaftlicher Nutzungsformen zu ermöglichen.

This work has been digitized and published in 2013 by Verlag Zeitschrift für Naturforschung in cooperation with the Max Planck Society for the Advancement of Science under a Creative Commons Attribution-NoDerivs 3.0 Germany License.

On 01.01.2015 it is planned to change the License Conditions (the removal of the Creative Commons License condition "no derivative works"). This is to allow reuse in the area of future scientific usage.

Herkunft der Algen

Die Algen wurden als bakterienfreie Algenkulturen von der Algensammlung des Pflanzenphysiologischen Instituts, 34 Göttingen, Nikolausberger Weg 18 (Dr. W. Koch) bezogen.

Züchtung der Algen

Nährlösung A

(Für *Chlorella variegata*, *Polytoma oviforme* und *Chilomonas paramecium*)

Na-acetat: 2,0 g; Hefe-Extrakt: 1,0 g; Bacto-Trypton: 1,0 g; Aqua dest: 1000 ml.

Nährlösung B

Na-acetat: 10,0 g; $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$: 1,0 g; $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$: 0,4 g; Vitamin B₁: 10 µg/ml; KCl: 0,6 g; $\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$: 0,015 g; $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$: 0,25 g; Spurenelementlösung A: 10 ml; Aqua dest. ad 1000 ml.

Spurenelementlösung A

EDTA: 200 mg; $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$: 700 mg; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$: 10 mg; $\text{MnSO}_4 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$: 2 mg; $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$: 0,005 mg; H_3BO_3 : 10 mg; $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$: 1 mg; $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$: 1 mg; Aqua dest.: 1000 ml.

Die Algen wurden wie die früher untersuchten Grünalgen^{5, 25} bei 25 °C in 7-l-Steilbrustflaschen unter Durchleitung von Luft und unter Belichtung (ca. 800 Lx) in den oben erwähnten Nährmedien bakterienfrei gezüchtet.

Chlorella variegata wurde im Licht und im Dunkeln gezüchtet.

Wachstumsdauer bis zum Erreichen der stationären Wachstumsphase

Chlorella v.: 10 Tage; *Prototheca p.*, *Polytoma o.* und *Chilomonas p.*: 5 Tage.

Extraktion der Gesamtlipide

Die Algen wurden nach Erreichen der stationären Wachstumsphase abzentrifugiert, gefriergetrocknet und gewogen. Anschließend wurden die getrockneten Algen mit Seeland fein verrieben und bei Zimmertemperatur mit Chloroform-Methanol (2:1) bis zur Farblosigkeit des Extraktionsmittels extrahiert. Daraufhin wurde nochmals vier Stunden unter Rückfluß und unter Stickstoff auf dem Wasserbad ausgezogen.

Der so erhaltene Lipidextrakt (Gesamtlipide) wurde im Vakuum bei 40 °C zur Trockene eingeengt, im Vakuum-Exsikkator über P_2O_5 bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und gewogen.

Gesamt fettsäuren

Die Isolierung der Gesamt fettsäuren erfolgte nach unserer früher beschriebenen Methode²⁹.

Ein Teil der hergestellten Methylester wurde gaschromatographisch untersucht, ein Teil hydriert und wiederum gaschromatographiert.

Der Hauptteil der Fettsäuremethylester wurde, wie früher beschrieben²⁹, in die Quecksilber(II)-acetat-addukte überführt.

Nach dünnenschichtchromatographischer Auftrennung der Addukte wurden die einzelnen ungesättigten Fettsäuremethylester aus den Adduktzonen regeneriert und gaschromatographisch identifiziert.

Die oxidative Spaltung mit KMnO_4 in Eisessig erfolgte wie früher beschrieben²⁹.

DC der Lipide

Kieselgel HF₂₅₄ Merck; Fließmittel: Aceton-Benzol-Wasser (91:30:8)²⁸.

Herstellung der Fettsäuremethylester der Einzel-Lipide

Nach der Dünnenschichtchromatographie der Gesamtlipide wurden die DC-Platten mit einer alkalischen Lösung von Rhodamin 6G (Mischung aus gleichen Volumina einer wäßrigen 0,006-prozentigen Rhodamin 6G-Lösung und einer 8-prozentigen NaOH-Lösung¹¹) besprüht, die Lipidzonen unter UV-Licht (366 nm) markiert und die bezeichneten Kieselgelzonen aus der Platte entnommen. Diese wurden direkt mit Na-methylat transmethyliert²⁸.

Gaschromatographie

Modell: Packard 7700;

1. **Fettsäuremethylester aus Gesamt- und Einzellipiden**
 - a. 15% EGSS-X auf Gaschrom P (100 – 120 mesh); Säule: 2,5 m × 4 mm i.D.; Temperatur: 185 °C isotherm.
 - b. 20% Reoplex 400 auf Chromosorb WS bzw. W NAW (45 – 60 mesh); Säule: 2,5 m × 4 mm i. D.; Temperatur: 190 °C isotherm.
2. **GC - Trennung der 18:1-Isomeren aus *Polytoma oviforme***
 - a. Säule: 4 m × 4 mm i. D.; Temperatur: 165 – 185 °C, linear programmiert mit 0,5 °C/min. Beginn der Programmierung bei Beginn des Luftpeaks.
 - b. Säule: 4 m × 2 mm i. D.; Temperatur: 180 °C isotherm; Trägergas: Argon; Gasdurchfluß: ca. 60 – 70 ml/min; Einspritzmenge: ca. 0,01 mg.

Ergebnisse

Tab. I gibt eine Übersicht über die Trocken- gewichte, Gesamtlipide, Gesamt fettsäuren und den Chlorophyllgehalt aller Algen.

Tab. I. Trockengewichte, Gesamtlipide, Gesamt fettsäuren und Chlorophyllgehalt von *Chlorella variegata* (Licht- und Dunkelzüchtung), *Prototheca portoricensis*, *Polytoma oviforme* und *Chilomonas paramecium* (Züchtung im Licht).

	<i>Chlorella variegata</i> Licht	<i>Chlorella variegata</i> Dunkel	<i>Prototheca portoric.</i> Licht	<i>Polytoma oviforme</i> Licht	<i>Chilomonas paramecium</i> Licht
Alge					
Trockengewicht [g]	2,17050	3,7000	2,23451	4,03617	0,48235
Gesamtlipide [g]	0,24930	0,42331	0,26610	0,39621	0,06231
Gesamtlipide [% bez. auf Trockengewicht]	11,5	11,4	11,9	9,8	12,9
Fettsäure- methylester [g]	0,04850	0,15470	0,01245	0,03360	0,00732
Fettsäure- methylester [% bez. auf Gesamtlipide]	19,5	36,6	4,7	8,5	11,8
Fettsäure- methylester [% bez. auf Trockengewicht]	3,3	4,2	0,6	0,8	1,5
Chlorophyll- gehalt [% bez. auf Gesamtlipide]	7,4	—	—	—	—

Bezogen auf das Trockengewicht der Algen betrug der Lipidgehalt zwischen 10 und 13% und der Fettsäuregehalt zwischen 0,6 und 4%.

a. Gesamt fettsäuren (Tab. 2)

Chlorella variegata (Lichtzüchtung)

(Gesättigte Fettsäuren ca. 16%, ungesättigte Fettsäuren ca. 84%)

Bei den gesättigten Fettsäuren überwog die 16:0 (13%), während 12:0, 14:0, 18:0 und 20:0 nur

schwach nachweisbar waren. Bei den ungesättigten Fettsäuren wurden vor allem C₁₈-Verbindungen gebildet (18:2 (53%), 18:3 (16%), 18:1 (13%)). Daneben waren in geringen Mengen ungesättigte C₁₆-Fettsäuren vorhanden (16:1, 16:2, 16:3).

Chlorella variegata (Dunkelzüchtung)

(Gesättigte Fettsäuren ca. 19%, ungesättigte Fettsäuren ca. 81%)

Tab. II. Prozentuale Zusammensetzung der Gesamt-Fettsäuren von *Chlorella variegata* (Licht- und Dunkelzüchtung), *Prototheca portoricensis*, *Polytoma oviforme* und *Chilomonas paramecium* (Züchtung im Licht).

	<i>Chlorella variegata</i> Licht	<i>Chlorella variegata</i> Dunkel	<i>Prototheca portoric.</i> Licht	<i>Polytoma oviforme</i> Licht	<i>Chilomonas paramecium</i> Licht
12:0	Sp.	Sp.	0,5	0,2	3,2
14:0	1,2	1,0	0,6	2,5	7,3
16:0	13,5	16,2	24,2	39,3	32,2
7–16:1	2,0	0,3	0,9	1,9	2,1
7, 10–16:2	1,0	0,3	0,2	0,8	0,8
7, 10, 13–16:3	Sp.	—	—	0,9	—
18:0	1,9	2,5	2,1	3,2	2,2
5–18:1			—	9,3	—
9–18:1	13,4	25,5	18,0	22,1	17,2
9, 12–18:2	53,0	47,2	42,2	4,9	2,9
9, 12, 15–18:3	16,0	8,1	3,2	8,2	27,3
20:0	Sp.	Sp.	2,1	0,8	0,5
22:0	—	—	2,0	—	—
24:0	—	—	1,8	—	—

Unter den gesättigten Fettsäuren überwog die 16:0 (16%), während 12:0, 14:0, 18:0 und 20:0 nur in geringen Mengen vorhanden waren. Unter den ungesättigten Fettsäuren dominierten die C₁₈-Verbindungen (18:2 (47%), 18:1 (26%), 18:3 (8%)) gegenüber geringen Mengen an C₁₆-Verbindungen (16:1, 16:2, 16:3).

Prototheca portoricensis

(Gesättigte Fettsäuren ca. 33%, ungesättigte Fettsäuren ca. 67%)

Auch hier wurde unter den gesättigten Fettsäuren hauptsächlich die 16:0 (24%) gebildet, während 12:0, 14:0, 18:0 und 20:0 sowie die nur bei *Prototheca* gefundenen 22:0 und 24:0 nur in geringen Mengen vorhanden waren. Bei den ungesättigten Fettsäuren lag wieder das Hauptgewicht bei den C₁₈-Fettsäuren (18:2 (42%), 18:1 (18%), 18:3 (3%)) neben sehr geringen Mengen C₁₆-Fettsäuren (16:1, 16:2).

Polytoma oviforme

(Gesättigte Fettsäuren ca. 46%, ungesättigte Fettsäuren ca. 54%)

Unter den gesättigten Fettsäuren stellte wie bei den vorhergehenden Algen die 16:0 (39%) den Hauptanteil dar. 12:0, 14:0, 18:0 und 20:0 wurden nur schwach gebildet. Unter den ungesättigten Fettsäuren überwogen wieder die der C₁₈-Reihe (9-18:1 (22%), 18:3 (8%), 18:2 (5%)) neben geringen Mengen C₁₆-Fettsäuren (16:1, 16:2). Die 16:3 konnte jedoch bei *Polytoma* deutlich nachgewiesen werden.

Weiterhin wurde eine einfach ungesättigte C₁₈-Fettsäure mit einer Doppelbindung in 5-Stellung (5-18:1) gefunden.

Chilomonas paramecium

(Gesättigte Fettsäuren ca. 46%, ungesättigte Fettsäuren ca. 54%)

Wie bei *Polytoma* und im Gegensatz zu den anderen untersuchten Algen wurden bei *Chilomonas* etwa gleiche Mengen an gesättigten und ungesättigten Fettsäuren gebildet. Es dominierten unter den gesättigten Fettsäuren die 16:0 (32%) und 14:0 (7%). Weiterhin waren 12:0, 18:0 und 20:0 nachweisbar. Bei den ungesättigten Fettsäuren überwogen wie bei den anderen Algen die C₁₈-Verbindungen (18:3 (27%), 18:1 (17%), 18:2 (3%)), wäh-

rend bei den ungesättigten Fettsäuren der C₁₆-Reihe nur die 16:1 und 16:2 nachgewiesen werden konnten.

b. Gesamtlipide

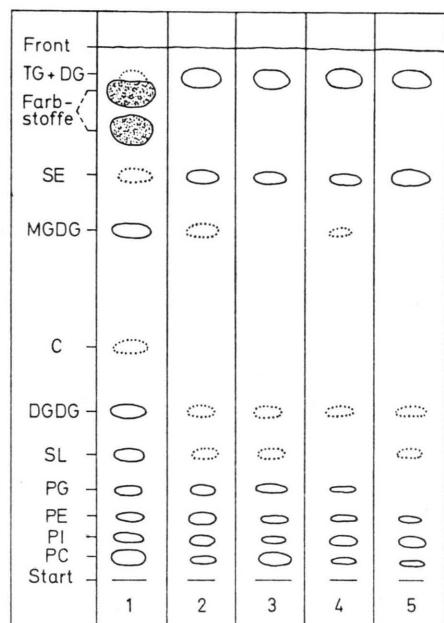


Abb. 1. DC der Gesamt-Lipide von: 1. *Chlorella variegata* Lichtzüchtung; 2. *Chlorella variegata* Dunkelzüchtung; 3. *Prototheca portoricensis* Lichtzüchtung; 4. *Polytoma oviforme* Lichtzüchtung; 5. *Chilomonas paramecium* Lichtzüchtung.

Chlorella variegata (Lichtzüchtung)

Bei den Gesamt-Lipiden überwogen auf Grund der DC-Analyse Phospholipide (vor allem PC, daneben PG, PE und PI) und Glycolipide (vor allem DGDG neben MGDG und SL). Es waren nur geringe Mengen an Neutrallipiden festzustellen (Spuren von DG und TG sowie SE).

. Außerdem konnte Cardiolipin in geringer Menge nachgewiesen werden.

Chlorella variegata (Dunkelzüchtung)

Unter den Gesamtlipiden waren hauptsächlich Neutrallipide vertreten, vor allem DG, TG sowie SE.

Die Phospholipide bestanden vor allem aus PC neben geringeren Mengen an PG, PE und PI.

Cardiolipin war nicht, MGDG und DGDG sowie SL nur schwach nachweisbar.

Prototheca portoricensis

Bei den Gesamtlipiden überwogen die Neutrallipide. Sie enthielten vor allem DG und TG neben geringeren Mengen an SE. Die Phospholipide bestanden vor allem aus PC neben wenig PG, PE und PI. Cardiolipin und MGDG waren nicht, DGDG und SL nur in sehr geringen Mengen vorhanden.

Polytoma oviforme

Unter den Gesamtlipiden überwogen wieder die Neutrallipide, die vor allem DG und TG enthielten.

Diese Alge enthielt nur sehr geringe Mengen an Phospholipiden. MGDG und DGDG waren nur in Spuren nachweisbar.

Chilomonas paramecium

Die DC der Gesamtlipide zeigte vor allem Neutrallipide, DG und TG sowie SE. Bei den Phospholipiden dominierte PI neben geringeren Mengen an PE und PC. PG, C und MGDG waren nicht nachweisbar, während DGDG und SL in geringer Menge zu finden waren.

Tab. III. *Chlorella variegata* (Lichtzüchtung). Prozentuale Zusammensetzung der Fettsäuren in den einzelnen Lipiden.

	SE	MGDG	DGDG	SL	PG	C	PE	PI	PC
14:0	0,8	0,7	0,2	0,6	2,7	2,8	0,9	1,2	0,3
16:0	21,0	8,0	3,8	27,5	39,7	36,8	24,2	23,4	11,7
16:1	2,1	1,6	0,8	1,2	7,0	5,0	5,2	1,0	0,8
16:2	0,7	0,7	0,5	0,4	1,0	—	0,9	0,7	1,6
18:0	3,2	1,0	0,8	3,0	1,9	12,9	1,8	2,2	2,2
18:1	13,5	5,8	3,7	9,9	14,8	14,3	11,1	13,0	14,8
18:2	42,4	54,1	61,4	41,3	26,4	13,7	46,6	37,8	49,9
18:3	15,1	27,7	28,0	16,3	6,1	14,4	8,4	20,5	18,0
20:0	1,1	0,4	0,5	—	0,5	—	0,8	—	0,4

Tab. IV. *Chlorella variegata* (Dunkelzüchtung). Prozentuale Zusammensetzung der Fettsäuren in den einzelnen Lipiden.

	TG	SE	MGDG	DGDG	SL	PG	PE	PI	PC
12:0	0,1	0,7	—	—	—	—	0,5	—	—
14:0	1,3	0,9	5,3	1,0	0,2	1,3	0,8	0,6	0,3
16:0	11,9	19,7	17,3	7,0	28,4	39,2	20,6	24,7	17,7
16:1	0,2	0,8	1,6	0,6	0,4	1,7	0,4	0,8	0,4
16:2	0,2	0,8	—	—	—	1,0	0,8	0,9	0,7
18:0	2,5	2,9	7,9	1,5	3,6	3,5	2,3	4,2	2,6
18:1	30,2	18,7	18,1	12,8	14,0	18,3	16,4	17,8	21,3
18:2	44,4	45,5	36,0	58,6	38,6	26,3	51,5	43,0	48,3
18:3	8,7	8,4	13,7	18,3	14,9	8,5	6,8	8,2	8,5
20:0	0,5	1,8	—	—	—	—	—	—	—

Tab. V. *Prototheca portoricensis* (Lichtzüchtung). Prozentuale Zusammensetzung der Fettsäuren in den einzelnen Lipiden.

	TG	SE	DGDG	SL	PG	PE	PI	PC
12:0	0,2	1,2	2,2	2,5	1,0	1,7	0,1	—
14:0	0,5	1,7	0,8	2,1	0,8	0,6	0,3	0,1
16:0	21,8	14,5	5,8	11,8	23,9	36,6	27,7	37,8
16:1	0,9	1,5	1,7	2,8	1,3	1,5	0,9	0,5
16:2	0,3	1,7	—	—	—	0,2	0,1	—
18:0	5,5	5,5	2,9	4,5	5,1	3,4	0,8	0,6
18:1	24,3	11,2	6,6	21,1	21,1	28,6	14,4	18,0
18:2	22,2	21,9	50,1	46,5	33,0	21,5	45,5	41,7
18:3	4,4	2,8	12,9	6,8	12,5	4,7	6,0	1,2
20:0	7,7	8,6	1,6	1,7	1,0	1,3	0,3	0,1
22:0	6,3	14,1	7,2	—	—	—	—	—
24:0	5,4	14,5	7,9	—	—	—	—	—

Tab. VI. *Polytoma oviforme* (Lichtzüchtung). Prozentuale Zusammensetzung der Fettsäuren in den einzelnen Lipiden.

	TG	SE	MGDG	DGDG	PG	PE	PI	PC
12:0	0,1	0,4	0,5	0,4	0,4	0,5	0,4	0,7
14:0	2,6	2,6	3,4	2,7	2,8	2,1	2,0	1,6
16:0	46,2	35,8	29,5	48,0	64,1	60,1	72,3	57,4
16:1	1,6	2,4	1,6	1,5	1,4	1,7	0,9	1,8
16:2	0,5	1,2	1,6	1,0	0,3	0,5	0,2	0,4
16:3	0,8	1,9	1,7	1,6	—	1,0	0,7	0,7
18:0	3,3	3,5	6,3	3,9	2,1	1,8	1,6	2,5
5-18:1	8,1	9,6	12,1	7,4	10,4	7,0	6,1	5,0
9-18:1	28,4	18,3	16,8	17,2	10,4	9,2	8,8	13,5
18:2	2,8	7,9	11,8	9,1	3,2	6,5	3,0	6,3
18:3	3,8	15,3	14,7	7,2	4,7	9,5	3,7	9,4
20:0	0,5	1,1	—	—	—	—	—	—

Tab. VII. *Chilomonas paramecium* (Lichtzüchtung). Prozentuale Zusammensetzung der Fettsäuren in den einzelnen Lipiden.

	TG	SE	DGDG	SL	PE	Pi	PC
12:0	4,8	1,3	2,2	—	—	3,4	—
14:0	17,1	5,1	1,5	1,8	1,7	3,2	2,0
16:0	28,0	41,4	19,1	57,0	56,2	46,8	22,8
16:1	2,1	2,5	1,1	0,2	1,2	0,6	1,0
16:2	0,5	1,7	—	0,2	1,0	0,5	—
18:0	4,2	2,0	3,2	1,0	2,2	1,9	2,3
18:1	14,8	21,1	7,0	2,6	13,2	19,8	13,6
18:2	6,9	2,4	8,5	3,8	6,9	3,1	8,5
18:3	20,9	11,6	57,5	33,3	17,5	20,6	49,8
20:0	0,5	0,4	—	—	—	—	—

c. Fettsäuren in den einzelnen Lipiden

Die Tabn. III bis VII zeigen, daß bei den farblos wachsenden Algen kein Lipid für eine bestimmte Fettsäure besonders spezifisch ist. In allen Einzellipiden jeder Alge glich die Fettsäurezusammensetzung annähernd der der Gesamtfettsäuren. Leichte Abweichungen von dieser Regel ergaben sich nur in den Phospholipiden und im Sulfolipid, welche überdurchschnittlich viel 16:0 enthielten.

Die gesättigten Fettsäuren 20:0, 22:0 und 24:0 waren fast nur in den Neutrallipiden nachzuweisen.

Ein anderes Bild ergab sich nur in *Chlorella variegata* bei Lichtzüchtung. Hier konnte deutlich eine Anhäufung der höher ungesättigten C₁₈-Fettsäuren im MGDG und DGDG nachgewiesen werden.

Ergänzend zu den Punkten a, b und c ist zu vermerken, daß *Polytoma oviforme* und *Chilomonas paramecium* nur in acetathaltigen, nicht aber in glucosehaltigen Nährösungen wuchsen. *Chlorella variegata* und *Prototheca portoricensis* ließen sich auch mit Glucose züchten, ohne daß aber hinsichtlich der Lipide und Fettsäuren Unterschiede gegenüber den auf Acetat gezüchteten Algen zu beobachten waren.

Weiterhin wurden *Prototheca p.*, *Polytoma o.* und *Chilomonas p.* auch im Dunkeln gezüchtet. Es ergaben sich hierbei aber keine wesentlichen Fettsäure- und Lipidunterschiede gegenüber der Züchtung dieser drei Algen im Licht. In dieser Veröffentlichung wurden zum Zweck eines korrekten Vergleiches mit den früher von uns untersuchten lichtgezüchteten Algen^{2,5} nur die Ergebnisse der Lichtzüchtung der farblosen Algen herangezogen.

Diskussion

Von den hier untersuchten Algen sind *Prototheca p.*, *Polytoma o.* und *Chilomonas p.* obligat heterotroph und wachsen farblos, d. h., sie bilden bei Züchtung im Dunkeln wie im Licht keine Chlorophylle.

Um einen Vergleich mit den von uns schon früher untersuchten chlorophyllbildenden Grünalgen^{2,5} zu ermöglichen, wurden die obigen drei Algen unter denselben Bedingungen, d. h. unter Belichtung gezüchtet. *Chlorella variegata* wächst im Dunkeln ebenfalls farblos, bildet bei Belichtung aber Chlorophylle.

Die farblosen Algen stimmten hinsichtlich ihrer Fettsäuren untereinander weitgehend überein. Sie

bildeten vor allem Palmitinsäure (16:0), Ölsäure (18:1) sowie in unterschiedlichen Mengen Linolsäure (18:2) und Linolensäure (18:3). So überwog in *Chlorella variegata* bei Dunkel- und Lichtzüchtung und in *Prototheca* die Linolsäure. Auffallend war bei allen farblosen Algen der geringe Anteil an ungesättigten C₁₆-Fettsäuren. Nur die 16:1- und 16:2-Fettsäuren waren bei allen Algen in geringen Mengen feststellbar. Die 16:3-Fettsäure war nur bei *Polytoma o.* zu finden, während die von uns in einigen Grünalgen⁵ gefundene 16:4-Fettsäure vollständig fehlt.

Auch hinsichtlich ihrer Lipide stimmten die farblosen Algen untereinander überein. Sie bildeten vor allem Neutral-Lipide (DG und TG sowie SE) und Phospholipide. Ähnliche Fettsäure- und Lipidmuster finden sich aus in anderen farblosen Pflanzen, wie *Candida*³⁰, *Claviceps*³¹, *Penicillium*³², *Saccharomyces*^{33–36} und weiteren Vertretern der Mycophyta (Fungi)^{37–42}.

Da wir in früheren Untersuchungen mit verschiedenen Süßwassergrünalgen^{5, 8} gezeigt hatten, daß diese im Gegensatz zu Salzwassergrünalgen keine höherungesättigten C₁₈- bis C₂₂-Fettsäuren (vor allem 18:4, 20:4, 20:5, 22:5 und 22:6) bilden und damit hinsichtlich ihrer Fettsäuren gut mit den Landpflanzen übereinstimmen, war es für uns zunächst von Interesse, ob die farblosen Vertreter der Chlorophyta, die ja in süßwasserähnlichen Medien gezüchtet wurden, hinsichtlich ihrer Fettsäuren tatsächlich den Süßwassergrünalgen ähneln. Das Fehlen der erwähnten ungesättigten C₁₈- bis C₂₂-Fettsäuren zeigt, daß dies der Fall ist.

Innerhalb der Süßwassergrünalgen unterscheiden sich aber die von uns untersuchten farblosen Vertreter auf Grund ihrer Fettsäuren und Lipide deutlich von den chlorophyll-bildenden Organismen. Diese enthalten bekanntlich in größeren Mengen höherungesättigte C₁₆-Fettsäuren (16:2, 16:3, 16:4)⁵.

Ihre Lipide bestehen, soweit untersucht, vor allem aus Glycolipiden (SL, MGDG und DGDG) sowie Phospholipiden (vor allem PC, PE und PG)^{10, 16, 21, 43–45}.

Die hier untersuchten farblosen Algen dagegen bilden auf Grund der dünnenschichtchromatographischen Untersuchung der Lipide nur geringe Mengen an SL, PG, MGDG und DGDG, dafür überwiegend Neutral-Lipide.

An *Chlorella variegata* konnten diese Fettsäure- und Lipid-Unterschiede zwischen farblosen und grünen Formen gezeigt werden.

Bei Züchtung unter Belichtung erhöhte sich gegenüber der dunkelgezüchteten Kultur der Anteil der 16:1-, 16:2-, 18:2- und 18:3-Fettsäuren, während die 16:0- und 18:1-Fettsäuren in geringerer Menge gebildet wurden. Das stimmt mit früheren Beobachtungen an *Euglena gracilis* überein¹⁹. Diese Alge wächst im Dunkeln farblos und bildet dann vor allem Neutral-Lipide (Wachsester und Glyceride) und 14:0-, 16:0- und 18:1-Fettsäuren. Bei Belichtung ergrünt sie und es finden sich überwiegend SL, PG, MGDG und DGDG sowie höher ungesättigte C₁₆- und C₁₈-Fettsäuren (16:2, 16:3, 16:4, 18:2 und 18:3).

Auch hinsichtlich der Fettsäurezusammensetzung in den Einzel-Lipiden ergibt sich ein Unterschied zwischen farblosen und chlorophyllbildenden Algen.

Von verschiedenen Autoren^{21, 43, 44, 46} ist bekannt, daß bei den „grünen“ Algen die einzelnen Lipide charakteristische Fettsäremuster zeigen. So findet sich z.B. im SL vorwiegend Palmitinsäure, im PG eine trans-3-16:1-Fettsäure und in den Galactolipiden überwiegend ungesättigte C₁₆- und C₁₈-Fettsäuren. Im Gegensatz hierzu ließ sich bei den farblosen Algen keine solche Spezifität der einzelnen Lipide zu bestimmten Fettsäuren feststellen. Alle untersuchten Einzel-Lipide hatten eine ziemlich einheitliche Fettsäurezusammensetzung. Möglicherweise tritt also eine Spezialisierung der Einzel-Lipide in Richtung auf bestimmte Fettsäuren nur im Zusammenhang mit der Photosynthese auf.

Sehr interessant ist die Tatsache, daß *Polytoma oviforme* eine für Algen ungewöhnliche Fettsäure bildet, die 5-18:1-Fettsäure. Wir konnten die miteinander isomeren 5- und 9-18:1-Fettsäuren durch programmierte Gaschromatographie an einer langen Säule gut voneinander trennen. Auch die Quecksilber(II)-acetat-addukte der beiden Isomeren trennten sich bei der Dünnschichtchromatographie auf, so daß wir beide Säuren für die oxidative Spaltung rein gewinnen konnten. Über das Vorkommen dieser Verbindung ist bei Algen bisher noch nicht berichtet worden. Sie scheint im Pflanzenreich wenig verbreitet zu sein, da sie bisher nur bei *Bacillus megaterium*⁴⁷, in *Carlina sp.*⁴⁸, *Ephedra*⁴⁹ und einigen Vertretern der Limnanthaceae und Ranunculaceae^{50–53} gefunden wurde.

Bei unseren Untersuchungen fanden wir stets nur die α -Linolensäure (9,12,15-18:3), nicht aber die γ -Linolensäure (6,9,12-18:3). Erwin und Bloch⁹ hatten bei der Züchtung der farblosen Alge *Polytoma uvella* festgestellt, daß diese Pflanze neben geringeren Mengen an α -Linolensäure überwiegend die γ -Linolensäure bildet. Bei der von uns gezüchteten *Polytoma oviforme* konnten wir für diese Lichtab-

hängigkeit der α -Linolensäure keinen Anhaltspunkt finden. James und Nichols⁵⁴ haben ebenfalls die α -Linolensäure in dunkelgezüchteter *Chlorella vulgaris* gefunden.

Unser Dank gilt der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die Unterstützung dieser Arbeit durch Sachbeihilfen.

- ¹ E. Klenk, D. Eberhagen u. H. P. Koof, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **334**, 44 [1963].
- ² H. Wagner u. P. Pohl, Biochem. Z. **341**, 476 [1965].
- ³ P. M. Williams, J. Fish. Res. Bd. Canada **22**, 1107 [1965].
- ⁴ L. Chuecas u. J. R. Rilley, J. Mar. Biol. Ass. U. K. **46**, 153 [1966].
- ⁵ P. Pohl, H. Wagner u. T. Passig, Phytochem. **7**, 1565 [1968].
- ⁶ G. R. Jamieson u. E. H. Reid, Phytochem. **11**, 423 [1972].
- ⁷ H. Wagner u. P. Pohl, Phytochem. **5**, 903 [1966].
- ⁸ P. Pohl u. H. Wagner, Fette, Seifen, Anstrichmittel **74**, 424 [1972].
- ⁹ J. Erwin u. K. Bloch, Biochem. Z. **338**, 496 [1963].
- ¹⁰ J. S. O'Brien u. A. A. Benson, J. Lipid Res. **5**, 432 [1964].
- ¹¹ C. F. Allen, P. Good, H. F. Davies, P. Chisum u. S. D. Fowler, J. Amer. Oil Chemist's Soc. **43**, 223 [1966].
- ¹² A. A. Benson, J. Amer. Oil Chemist's Soc. **43**, 265 [1966].
- ¹³ A. Rosenberg, J. Gouaux u. P. Milich, J. Lipid Res. **7**, 733 [1966].
- ¹⁴ T. E. Weier u. A. A. Benson, Amer. J. Bot. **54**, 389 [1967].
- ¹⁵ G. Constantopoulos u. K. Bloch, J. Biol. Chem. **242**, 3538 [1967].
- ¹⁶ B. W. Nichols, Lipids **3**, 354 [1968].
- ¹⁷ A. Radunz, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **349**, 303 [1968].
- ¹⁸ L. Appelquist, J. E. Boyton, P. K. Stumpf u. D. v. Wettstein, J. Lipid Res. **9**, 425 [1968].
- ¹⁹ P. Pohl u. H. Wagner, Z. Naturforsch. **27b**, 53 [1972].
- ²⁰ D. Halunicka, J. Erwin u. K. Bloch, J. Biol. Chem. **239**, 2778 [1964].
- ²¹ B. W. Nichols, Biochim. Biophys. Acta **106**, 274 [1965].
- ²² A. Rosenberg u. M. Pecker, Biochemistry **3**, 254 [1964].
- ²³ A. Rosenberg u. J. Gouaux, J. Lipid Res. **8**, 80 [1967].
- ²⁴ E. G. Pringsheim, Farblose Algen, p. 95; p. 415, Gustav-Fischer-Verlag, Stuttgart 1963.
- ²⁵ P. Pohl u. H. Wagner, Phytochem. **10**, 1505 [1971].
- ²⁶ A. Engler, Syllabus der Pflanzenfamilien, Bd. I, Verlag Gebrüder Bornträger, Berlin-Nikolassee 1954.
- ²⁷ R. A. Lewin, Physiology and Biochemistry of Algae 1962.
- ²⁸ P. Pohl, H. Glasl u. H. Wagner, J. Chrom. **49**, 488 [1970].
- ²⁹ P. Pohl, H. Glasl u. H. Wagner, J. Chrom. **42**, 75 [1969].
- ³⁰ C. M. Brown u. A. H. Rose, J. Bacteriol. **99**, 371 [1969].
- ³¹ L. J. Morris, Lipids **3**, 260 [1968].
- ³² S. Nakajima u. S. W. Tanenbaum, Arch. Biochem. Biophys. **127**, 150 [1968].
- ³³ L. Kovac, J. Subik, G. Russ u. K. Kollar, Biochim. Biophys. Acta **144**, 94 [1967].
- ³⁴ D. Jollow, G. M. Kellerman u. A. W. Linnane, J. All. Biol. **37**, 221 [1968].
- ³⁵ H. Suomalainen u. A. J. A. Keraenen, Chem. Phys. Lipids **2**, 296 [1968].
- ³⁶ F. Paltauf u. G. Schatz, Biochemistry **8**, 335 [1969].
- ³⁷ R. C. M. Jack, J. Bacteriol. **91**, 2101 [1966].
- ³⁸ J. L. Sumner u. E. D. Morgan, J. Gen. Microbiol. **59**, 215 [1969].
- ³⁹ R. O. Mumma, C. L. Fergus u. R. D. Sekura, Lipids **5**, 100 [1970].
- ⁴⁰ R. O. Mumma, R. D. Sekura u. C. L. Fergus, Lipids **6**, 584 [1971].
- ⁴¹ R. O. Mumma, R. D. Sekura u. C. L. Fergus, Lipids **6**, 589 [1971].
- ⁴² M. Gunasekaran u. D. J. Weber, Phytochemistry **11**, 3367 [1972].
- ⁴³ B. W. Nichols, A. T. James u. J. Breuer, Biochem. J. **104**, 486 [1967].
- ⁴⁴ B. W. Nichols u. R. S. Appleby, Phytochemistry **8**, 1907 [1969].
- ⁴⁵ A. Radunz, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **350**, 411 [1969].
- ⁴⁶ C. F. Allen, P. Good, H. F. Davies u. S. D. Fowler, Biochim. Biophys. Acta **84**, 613 [1964].
- ⁴⁷ A. J. Fulco, R. Levy u. K. Bloch, J. Biol. Chem. **239**, 998 [1964].
- ⁴⁸ G. F. Spencer, R. Kleiman, F. R. Earle u. I. A. Wolff, Lipids **4**, 99 [1969].
- ⁴⁹ R. Kleiman, G. F. Spencer, F. R. Earle u. I. A. Wolff, Chem. and Ind. London, 1326 [1967].
- ⁵⁰ M. O. Bagby, C. R. Smith jr., K. L. Mikolajczak u. I. A. Wolff, Biochemistry **1**, 632 [1962].
- ⁵¹ M. O. Bagby, C. R. Smith jr., T. K. Miwa, R. L. Lohmar u. I. A. Wolff, J. Org. Chem. **25**, 1770 [1960].
- ⁵² M. K. Bhatty u. B. M. Craig, Can. J. Biochem. **44**, 311 [1966].
- ⁵³ C. R. Smith jr., R. Kleiman u. I. A. Wolff, Lipids **3**, 37 [1968].
- ⁵⁴ A. T. James u. B. W. Nichols, Nature **210**, 372 [1966].