

## ÜBER DAS VORKOMMEN VON FLÜCHTIGEN OELEN BEI SEEALGEN

S. Čmelik

Das Vorkommen von flüchtigen Ölen war bisher nur bei Landpflanzen bekannt. Nach den Ansichten mancher Forscher<sup>1)</sup> sollte die Bildung solcher Öle nur auf die Landpflanzen beschränkt sein. Nach der Ausführung von Vorversuchen auf verschiedenen Rot- und Braunalgen, die sich durch einen starken und eigentümlichen Geruch auszeichnen, wurde festgestellt, dass die Braunalge *Dictyopteris polypodioides* ein mit Wasserdampf flüchtiges Öl enthält. Durch quantitative Bestimmungen nach Ungar wurde ermittelt, dass der Ölgehalt in der trockenen Alge 0,06% beträgt.

Für die vorliegenden Untersuchungen wurden etwa 25 kg frischer Pflanzen an der Luft getrocknet und nachträglich der Wasserdampfdestillation unterworfen. Das Öl wurde durch Ausschütteln des Wasserdampfdestillates mit Aether erhalten, 25 kg frischer Algen lieferten etwa 3,5 g eines leicht beweglichen, gelbbraunen Öles. Es besass einen eigentümlichen und durchdringenden Geruch, der etwas an den Geruch der Senföle erinnerte. Sein spezifisches Gewicht war kleiner als das des Wassers.

Es wurden folgende Kennzahlen bestimmt:

Brechungsindex $n_D^{20}$	1,4899
Säurezahl	24,8
Verseifungszahl	124,6
Esterzahl	99,8
Azetylzahl	97,1

Es fällt auf, dass die Säurezahl dieses Öles ziemlich hoch ist. Diese Erscheinung ist bei anderen aetherischen Ölen recht selten. Die ebenso grosse Verseifungszahl deutet auf erhebliche Mengen von verseifbaren Verbindungen, was ja auch aus der Esterzahl ersichtlich ist. Zwischen der Esterzahl und der Azetylzahl besteht kein nennenswerter Unterschied, woraus man schliessen kann, dass sich das Öl nicht azetylieren lässt.

Durch qualitative Analyse wurde eine grosse Menge Schwefel nachgewiesen. Stickstoff konnte dagegen nicht nachgewiesen werden. Danach urteilend wird es sich nicht um ein Öl vom Typus der Isothiocyanatverbindungen, sondern um eine polysulfidähnliche Verbindung handeln. Die Anwesenheit organischer Schwefelverbindungen war schon früher bei einigen Tangarten nachgewiesen. So gelang es Haas<sup>2)</sup> aus *Polysiphonia fastigiata* und

*Polysiphonia nigrescens* Methylsulfid zu isolieren. Challenger und Simpson<sup>3)</sup> stellten fest, dass das Dimethyl-2-carboxyethylsulfonium-hydroxyd die Vorstufe für die Entstehung des Dimethylsulfids in den erwähnten Algen bildet. Das Vorkommen von Dimethylsulfid deuten sie aber als eine abnorme Erscheinung, da die lebendige Alge im Meere kein solches aufweist. Die Entwicklung von Dimethylsulfid konnte erst nach dem Beschädigen der Zellstruktur beobachtet werden und wird wahrscheinlich ein enzymatischer Vorgang sein. Dagegen machen wir aufmerksam, dass die Alge *Dictyopteris polypodioides* auch in lebendem Zustande einen intensiven, vom flüchtigen Öl stammenden, Geruch verbreitet. Mit dem Vorkommen dieses Geruches könnte vielleicht auch die Erscheinung, dass die genannte Alge niemals von Epiphyten besiedelt wird, in Zusammenhang gebracht werden.

Um festzustellen, ob es sich um eine einheitliche Verbindung, oder um ein Gemisch verschiedener Verbindungen handelt, wurde das Öl mit Alkalien und Säuren behandelt. Durch Ausschütteln mit Natriumcarbonat wurde 1,14% gelblicher und krystallisierter Säuren erhalten. Anschliessend wurde durch Ausschütteln mit Natronlauge 8,7% einer farblosen, krystallisierten Substanz gewonnen. Die Substanz gibt mit  $\text{FeCl}_3$  eine rotviolele Farbe und wird wahrscheinlich ein Phenol darstellen.

Durch Behandeln mit Schwefelsäure konnte nur eine ganz geringe Menge basischer Substanzen (0,4%) herausgeholt werden.

Der Rest (81,38%) besteht aus neutralen Substanzen. Er wurde in Pyridin benzyliert und über  $\text{Al}_2\text{O}_3$  nach Brockmann, (Merck) chromatographiert. Der Hauptanteil (57,6%) besteht aus einem gelben Öl, aus dem durch alkalische Hydrolyse Benzoessäure zurückgewonnen wurde. Der unverseifbare Anteil besteht aus einem braunen Öl widerlichen Geruches, in dem man Schwefel nachweisen konnte. Bei der Abspaltung der Benzoessäure kommt es zu einer teilweisen Zerlegung der benzylierten Verbindung, weil man Schwefelwassertstoff als Spaltprodukt beweisen konnte. Die anderen, mit Benzol, Aether und Methylalkohol eluierten Fraktionen des Chromatogrammes bestehen aus krystallisierten nicht schwefelhaltigen Benzoessäureestern.

Eine weitere Anzahl Rot- und Braunalgen wie z. B. *Laurentia obtusa*, *Vidalia volubilis*, *Phyllophora nervosa*, *Fucus virsoides*, *Cystoseira abritanifolia*, *Cystoseira crinita* die sich ebenso durch ihren eigentümlichen Geruch, auszeichnen wurden auf den Gehalt an flüchtigen Ölen geprüft, jedoch ohne Erfolg.

## EXPERIMENTELLER TEIL

### Gewinnung des Öles

Etwa 25 kg frischer Pflanzen wurden im Schatten möglichst schnell getrocknet. Die getrockneten und fein zerkleinerten Pflanzen wurden dann in einer vorschriftsmässigen Apparatur der Wasserdampfdestillation unterworfen. Da das Öl zu Emulsionsbildung neigte, versetzte man das Destillat zuerst mit Kochsalz und schüttelte dann mit Aether aus. Nach dem Filtrieren der aetherischen Lösung über geglühtes Natriumsulfat, wurde das Lösungsmittel vorsichtig abgedampft. Das gewonnene Öl wurde bis zur weiteren Verarbeitung unter Lichtschutz im Eisschrank aufbewahrt.

### Bestimmung der Kennzahlen

Die Esterzahl bzw. Säure- und Verseifungszahl wurde durch eine von *Vernazza* und *Nadali*<sup>4)</sup> vorgeschlagene Kombination der Verfahren von *Gildemeister*<sup>5)</sup> und *Jeancaud* ausgeführt. Etwa 1,5—2 g Öl wurden in 15 ccm neutralen Alkohol gelöst und mit 0,1 n KOH unter Zufügung von Phenolphthalein neutralisiert. Dann setzte man 15 ccm etwa 0,5 n alkoholischer Kalilauge dazu und kochte auf dem siedendem Wasserbade eine Stunde. Da sich die Lösung während des Verseifens braun färbt, musste man vor der Titration mit 200 ccm ausgekochten destillierten Wassers verdünnen. Die Titration wurde mit 0,25 n  $H_2SO_4$  ausgeführt. Die Azetylzahl wurde nach dem üblichen Verfahren durch behandeln mit Essigsäureanhydrid und darauf folgende Verseifung des azetylierten Produktes bestimmt.

### Quantitative Bestimmung der Bestandteile

1,2903 g Öl wurden in 50 ccm Aether gelöst und im Scheidetrichter mit 15 ccm 2 n Sodalösung ausgeschüttelt. Die untere Schicht wurde dann gesondert mit 2 n Schwefelsäure bis zur schwach sauren Reaktion angesäuert und mit Aether ausgeschüttelt. Die aetherische Lösung der Säuren wurde nach dem Waschen mit Wasser in einen Kolben über Natriumsulfat filtriert. Nach dem Verdampfen des Aethers verblieben 0,0148 g gelblicher und kristallisierter Säuren.

Die aetherische Lösung wurde dann mit 15 ccm 2 n Natronlauge ausgeschüttelt. Dabei färbte sich die alkalische Lösung tief braun und es schied sich ein reicher Niederschlag ab, was auf die Anwesenheit von polyvalenten Phenolen schliessen lässt.

Nach dem Ansäuern wurde die Lösung ausgeäthert und die obere Schicht mit Wasser bis zur neutralen Reaktion gewaschen. Nach dem Filtrieren der Lösung und Abdampfen des Aethers verblieben 0,1132 g einer fast farblosen, krystallisierten Substanz, deren Lösung in Alkohol mit  $\text{FeCl}_3$  eine rotviolette Farbe gibt.

Das Abtrennen von basischen Bestandteilen wurde durch Ausschütteln mit 2 n Schwefelsäure durchgeführt. Der Extrakt wurde dann mit Lauge schwach alkalisch gemacht und mit Aether ausgeschüttelt. Nach dem Verdampfen des Aethers verblieb nur eine ganz geringe Menge (0,0056 g) basischer Substanzen.

Der Rest von 1,0502 g, der aus neutralen Substanzen bestand, wurde in 3 ccm. Pyridin gelöst und diese Lösung tropfenweise mit 2 ccm Benzoylchlorid versetzt. Nach dem das Reaktionsgemisch 6 Stunden bei Zimertemperatur stand, wurde es in 100 ccm Wasser gegossen und 3 mal mit Aether ausgeschüttelt. Die aetherische Lösung wurde abwechselnd mit 5% Schwefelsäure, Wasser, Natriumhydrocarbonat und wieder mit Wasser gewaschen. Nach dem Filtrieren über geglühtes Natriumsulfat wurde der Aether abdestilliert und der Rückstand im Vakuum getrocknet. Es wurden 2,1573 g eines lichtbraunen Öles, dessen Geruch an Benzoessäureester erinnert, gewonnen.

### Chromatographie des benzoylierten Produktes

2,1573 g wurden in 50 ccm. Petrolaether (Siedepunkt 40—60°) gelöst und über eine Säule von Aluminiumoxyd nach Brock-

No.	Eluierungsmittel	E l u a t		Bemerkung
		mg	%	
1—3	Petrolaether	1242,4	57,6	gelbes Öl
4	Benzol	100,5	4,9	braun, teilweise krystallisiert
5—7	Benzol	107,2	5	weiss, krystallisiert
8—11	Benzol	40,5	1,8	„ „
12—15	Aether	98,6	4,5	„ „
16—19	Methanol	314,5	14,5	„ „

man n (Merck) filtriert. Bei dem Eluieren sind Fraktionen von je 50 ccm gesondert aufgefangen worden.

Die Fraktionen 1—3 bestehen aus einem gelben Öl, das den Hauptbestandteil des benzoilierten Gemisches bildet. Durch Verseifung dieses Öles mit 0,5 n alkoholischer Kalilauge wurden 43% eines braunen und dickflüssigen Öles erhalten. Durch qualitative Elementaranalyse wurde in diesem Öl eine bedeutende Menge Schwefel nachgewiesen. Bei der Hydrolyse kommt es zur teilweisen Abspaltung von Schwefel, weil bei dem Ansäuern der alkalischen Schicht der Geruch nach Schwefelwasserstoff auftritt. Aus dieser Lösung gewann man durch Ausschütteln mit Aether 30% einer gelblichweissen krystallisierten Substanz, die grösstenteils aus Benzoesäure bestand, was durch Umkrystallisieren aus siedendem Wasser und Schmelzpunktbestimmung bestätigt wurde.

Die mit Benzol, Aether und Methanol eluierten Fraktionen bestanden aus verschiedenen nicht schwefelhaltigen Benzoesäureestern.

#### LITERATUR

- 1) Kušan F., *Periodicum biologorum*, Zagreb, 1947, II B.
- 2) Haas P., *Biochem. J.*, **29**, 1297 (1935).
- 3) Challenger F. und Simpson M. I., *J. chem. Soc.*, 1948, 1591.
- 4) Vernazza N. und Nadali P., *Farmaceutski glasnik*, **8** (1948).
- 5) Gildemeister E., *Die ätherischen Öle*, Leipzig 1928, Str. 18—24.

INSTITUT FÜR OZEANOGRAPHIE UND SEEFISCHEREI  
SPLIT (KROATIEN)

Eingegangen am 22. März 1949.

#### IZVOD

#### O prisutnosti hlapivih ulja kod morskih algi

S. Čmelik

Prisutnost hlapivih ulja u morskim algama do sada nije bila poznata. Na temelju pokusa izvršenih na raznim vrstama crvenih i smeđih algi zaključeno je, da smeđa alga *Dictyopterus polypodoides* sadrži 0,06% hlapivog ulja.

Iz 25 kg svježih algi dobiveno je nakon sušenja i destilacije vodenom parom 3,5 g žutosmeđeg ulja. Kvalitativnom analizom dokazana je nazočnost sumpora, dočim nazočnost dušika nije mogla biti dokazana. Iz toga se zaključuje, da će se raditi o jednoj vrsti sulfidnog ulja.

Određene su neke fizikalne i kemijske konstante ovog ulja. Kvantitativna istraživanja pojedinih sastojaka pokazala su, da ulje sadrži vrlo male količine (0,4%) bazičnih tvari, 1,2% kristaliziranih kiselina i 8,8% jedne kristalizirane tvari, vjerojatno fenola. Ostatak (81,38%) sastoji se

iz neutralnih tvari vjerojatno estera. Benzoiliranjem ovog dijela i kromatografijom dobivenog proizvoda dobiveno je žuto ulje, iz kojeg je alkalnom hidrolizom ponovno dobivena benzojeva kiselina i smeđe ulje, koje sadrži sumpora. Kod takove hidrolize dolazi do djelomičnog odcjepljivanja sumpora. Ostale frakcije kromatograma sastoje se iz raznih estera benzojeve kiseline.

Stanoviti broj drugih vrsta crvenih i smeđih algi istražen je također na sadržaj na hlapivim uljima, ali bez pozitivnog rezultata .

INSTITUT ZA OCEANOGRAFIJU I RIBARSTVO F.N.R.J.

SPLIT

Primljeno 22. ožujka 1940.