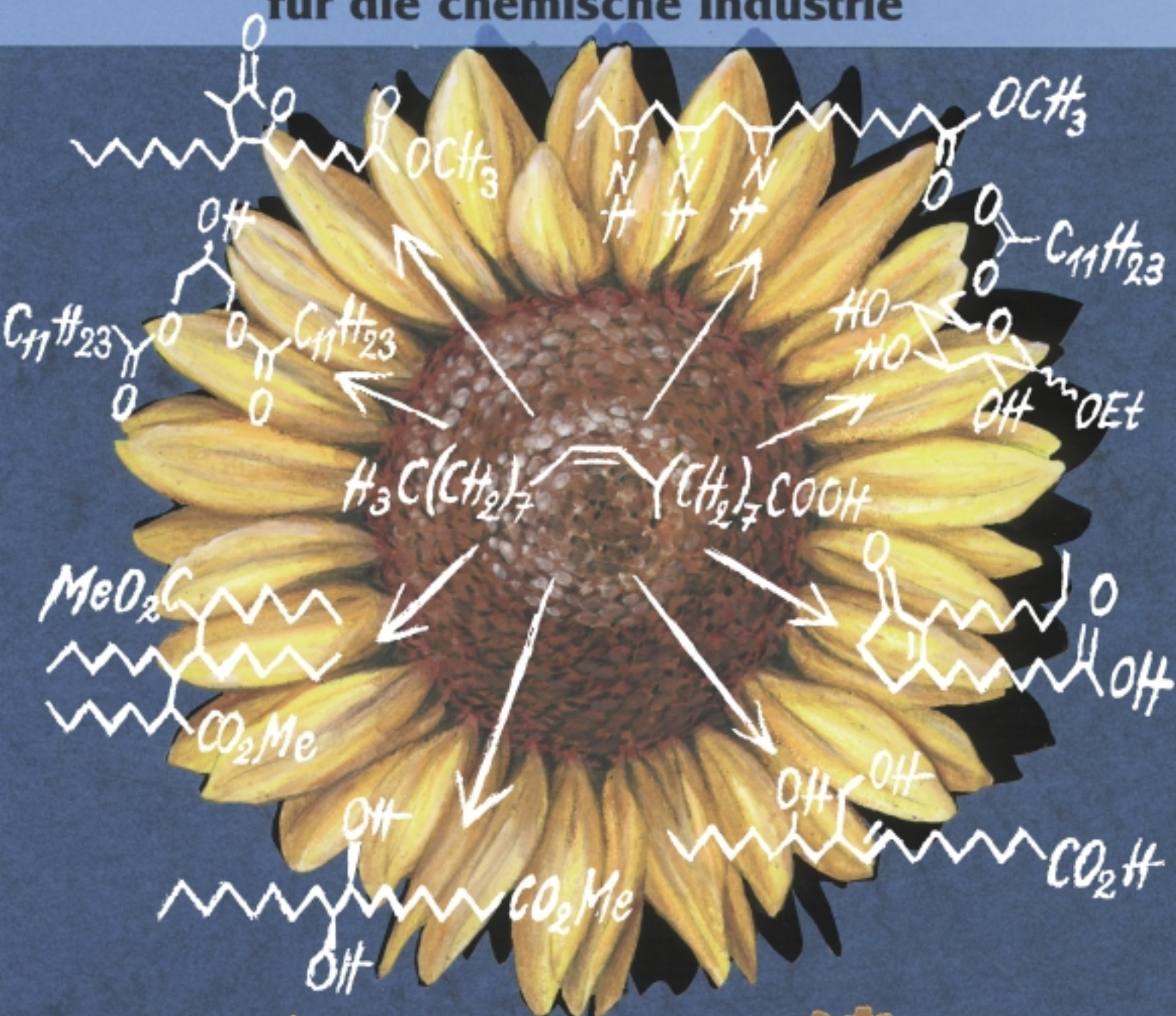


Neue Synthesen mit Ölen und Fetten als nachwachsende Rohstoffe für die chemische Industrie



Neue Synthesen mit Ölen und Fetten als nachwachsende Rohstoffe für die chemische Industrie

Ursula Biermann, Wolfgang Friedt, Siegmund Lang, Wilfried Lühs, Guido Machmüller, Jürgen O. Metzger,* Mark Rüschen, Klaas, Hans J. Schäfer und Manfred P. Schneider

Öle und Fette sind die wichtigsten nachwachsenden Rohstoffe der chemischen Industrie. Die industrielle Oleochemie konzentriert sich bisher überwiegend auf die Carboxyfunktion der Fettsäuren, doch wurden in letzter Zeit auch moderne Synthesemethoden zur selektiven Funktionalisierung in der Alkylkette auf Fettstoffe angewandt. Additionen an die C-C-Doppelbindung z.B. von Ölsäure als Prototyp einer gut zugänglichen ungesättigten Fettsäure führten zu einer Vielzahl neuartiger Fettstoffe mit interessanten Eigenschaften. Auch Funktionalisierungen

von C-H-Bindungen in der Alkylkette sind bemerkenswert selektiv möglich. Es wurden effektive Katalysatoren für die Metathese ungesättigter Fettsäureester entwickelt, die zu vielfältig einsetzbaren ω -ungesättigten Fettsäuren führt. Die Epoxidierung ungesättigter Fettsäuren wurde wesentlich weiterentwickelt. Enzymatische Reaktionen erlauben mit hoher Selektivität und Ausbeute die Synthese von Mono- und Diglyceriden und von Kohlenhydrateestern mit interessanten oberflächenaktiven Eigenschaften. Regio- und enantioselektive mikro-

bielle Hydratisierungen und Hydroxylierungen erweitern das Spektrum der selektiven Reaktionen. Die nativen Öle und Fette wurden durch Pflanzenzüchtung (auch gentechnisch) beträchtlich verbessert, und zahlreiche Fettsäuren stehen heute in genügender Reinheit für die Synthese und als Rohstoff für die chemische Industrie zur Verfügung.

Stichwörter: Additionen • Enzymkatalyse • Fettsäuren • Gentechnik • Nachwachsende Rohstoffe

1. Einleitung

Eine nachhaltig zukunftsfähige Entwicklung ist zum Leitbild des ausgehenden 20. Jahrhunderts geworden.^[1] Auf dem Weg zu einer nachhaltigen Chemie kommt den nachwach-

senden Rohstoffen, die die Nutzung der Syntheseverleistung der Natur ermöglichen, eine große Bedeutung zu.^[2, 3] Den größten Anteil am derzeitigen Verbrauch nachwachsender Rohstoffe in der chemischen Industrie nehmen Öle und Fette pflanzlichen und tierischen Ursprungs ein, da sie der Chemie eine Vielfalt an Einsatzmöglichkeiten bieten, die denen der Petrochemie kaum nachstehen.

1988 wurde der Stand der Nutzung natürlicher Öle und Fette in der Chemie zusammenfassend dargestellt.^[4] Es wurde konstatiert: „Oleochemische Reaktionen wurden bisher zu über 90 % an der Carboxygruppe der Fettsäuren durchgeführt; nur weniger als 10 % dieser Reaktionen waren Umsetzungen an der Fettsäurekette. Hier aber liegt die Zukunft, das Potential für eine wesentliche Erweiterung der Palette fettchemischer Verbindungen. Dies wiederum ist die Voraussetzung für eine stärkere Nutzung der nachwachsenden Öle und Fette“. Im Ausblick heißt es: „Öle und Fette pflanzlichen und tierischen Ursprungs bieten der Chemie eine Vielzahl an Reaktionsmöglichkeiten, die es für die Zukunft zu nutzen gilt. Das chemische Potential der nachwachsenden Öle und Fette ist aber noch lange nicht ausgeschöpft. Chemie, Biotechnologie, Pflanzenzüchtung und Landwirtschaft sind gleichermaßen gefordert, in interdisziplinärer Zusammenarbeit die erfolg-

[*] Prof. Dr. J. O. Metzger, Dr. U. Biermann
 Fachbereich Chemie der Carl von Ossietzky Universität Oldenburg
 Postfach 2603, 26111 Oldenburg (Deutschland)
 Fax: (+49) 441-798-3329
 E-mail: juergen.metzger@uni-oldenburg.de
 Prof. Dr. W. Friedt, Dr. W. Lühs
 Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung I
 Justus-Liebig-Universität Gießen (Deutschland)
 Priv.-Doz. Dr. S. Lang
 Institut für Biochemie und Biotechnologie
 Technische Universität Braunschweig (Deutschland)
 Dipl.-Chem. G. Machmüller, Prof. Dr. M. P. Schneider
 FB 9 – Organische Chemie
 Bergische Universität, GH Wuppertal (Deutschland)
 Prof. Dr. M. Rüschen, Klaas
 Fachbereich Technologie
 Fachhochschule Neubrandenburg (Deutschland)
 Prof. Dr. H. J. Schäfer
 Organisch-Chemisches Institut der Universität Münster (Deutschland)



Ursula Biermann, geboren 1953, studierte Lebensmittelchemie in Hannover und M¼nchen. 1979 promovierte sie an der Deutschen Forschungsanstalt f¼r Lebensmittelchemie, Garching, bei W. Grosch. Seit 1987 ist sie als wissenschaftliche Mitarbeiterin im Fachbereich Chemie der Universit¼t Oldenburg bei J. O. Metzger t¼tig. Ihr Arbeitsgebiet ist die Synthese neuartiger Fettstoffe: native ¼le und Fette als Chemierohstoffe.



Wolfgang Friedt, geboren 1946, studierte Agrarwissenschaften in Bonn und promovierte an der TU M¼nchen im Fach Pflanzenz¼chtung. Nach T¼tigkeiten am Institut f¼r Resistenzgenetik, Gr¼nbach, und der Biologischen Bundesanstalt f¼r Land- u. Forstwirtschaft folgte die Habilitation im Fach Genetik an der Universit¼t Bayreuth. Seit 1985 hat Friedt den Lehrstuhl f¼r Pflanzenz¼chtung im Fachbereich Agrarwissenschaften und Umweltsicherung der Universit¼t Gie¼en inne. Sein Arbeitsgebiet umfasst genetische Grundlagen der Pflanzenz¼chtung, Zell- und Molekulargenetik, Biotechnologie sowie Getreide- und ¼lpflanzenz¼chtung.



Siegmund Lang, geboren 1945, ist Akademischer Oberrat am Institut f¼r Biochemie und Biotechnologie der TU Braunschweig. Er promovierte 1975 ¼ber die mikrobielle Hydroxylierung von Steroiden bei F. Wagner und H. H. Inhoffen an der TU Braunschweig und habilitierte sich 1999 ebenda. Seine Forschungsinteressen sind die mikrobielle Produktion von Biotensiden und Lipasen sowie die mikrobielle Meeresbiotechnologie.



Wilfried L¼hs, geboren 1962, studierte Agrarwissenschaften in Gie¼en und promovierte dort 1996 ¼ber Pflanzenz¼chtung. Sein Arbeitsgebiet am Institut f¼r Pflanzenbau und Pflanzenz¼chtung der Universit¼t Gie¼en ist die Konzeption, Planung und Organisation von Zuchtprogrammen und wissenschaftlichen Experimenten bei ¼lpflanzen, vor allem Raps, unter Einsatz bio- und gentechnologischer Methoden.



Guido Machm¼ller, geboren 1971, studierte Chemie in Wuppertal. In seiner Dissertation im Arbeitskreis von M. P. Schneider besch¼ftigte er sich mit der Biokonversion nachwachsender Rohstoffe, vor allem mit der enzymatischen Synthese von isomerenreinen Zuckerestern und Glycosiden.



Mark R¼sch gen. Klaas, geboren 1965, studierte Chemie in Aachen und promovierte dort 1993 bei S. Warwel. 1993–99 war er am Institut f¼r Biochemie und Technologie der Fette der Bundesanstalt f¼r Getreide-, Kartoffel- und Fettforschung t¼tig. Im September 1999 wurde er auf eine Professur f¼r kosmetische Produkte und Bedarfsgegenst¼nde an der Fachhochschule Neubrandenburg berufen. Sein besonderes Interesse gilt der Nutzung von Pflanzen¼len im Non-Food-Bereich und der Entwicklung katalytischer Oxidationen mit „sauberen“ Oxidationsmitteln.



J¼rgen O. Metzger, geboren 1940, studierte Chemie in T¼bingen, Erlangen, Berlin und Hamburg, wo er 1970 ¼ber Ziegler-Natta-Katalysatoren promovierte. 1983 habilitierte er sich an der Universit¼t Oldenburg zum Thema „Thermisch initiierte intermolekulare organisch-chemische Reaktionen bei erh¼hten Temperaturen und hohen Dr¼cken“. 1991 wurde er zum Professor f¼r Organische Chemie ernannt. Seine Arbeitsgebiete umfassen Nachhaltigkeit in der Chemie, umweltvertr¼gliche organische Synthesen, nachwachsende Rohstoffe, Radikalchemie und Massenspektrometrie.



Hans J¼rgen Sch¼fer, geboren 1937, promovierte 1963 mit einer Arbeit ¼ber anionische Umlagerungen an der Universit¼t Heidelberg. 1964–1966 arbeitete er an der Yale University ¼ber den Mechanismus der Chroms¼ureoxidation und habilitierte sich 1970 an der Universit¼t G¼ttingen zum Thema „Anodische Dimerisierungen und Additionen“. 1973 wurde er an die Universit¼t M¼nster berufen. Seine Forschungsschwerpunkte sind die organische Elektrosynthese, die Umwandlung von Fetts¼uren in neue Oleoprodukte und deren Grenzfl¼cheneigenschaften sowie Naturstoffsynthesen.



Manfred Schneider, geboren 1940, studierte in Stuttgart und Wien und promovierte 1969 in Stuttgart. Nach einem Postdoc-Aufenthalt an der University of Pittsburgh bei P. Dowd kehrte er 1971 nach Stuttgart zur¼ck und habilitierte sich dort 1977. Seit 1980 ist er Professor f¼r Organische Chemie an der Bergischen Universit¼t–Gesamthochschule in Wuppertal. Zu seinen Forschungsinteressen geh¼rt die Anwendung von Enzymen in der organischen Synthese zur Herstellung enantiomerenreiner Synthesebausteine und biologisch aktiver Verbindungen. Ein weiterer Schwerpunkt ist die Biokonversion nachwachsender Rohstoffe.

reichen Ansätze auszubauen.“ Ein gutes Beispiel dafür sind die Alkylpolyglucoside, deren Verwendung und Eigenschaften kürzlich zusammenfassend dargestellt wurden.^[5]

Wir berichten in diesem Aufsatz über die in den letzten zehn Jahren erzielten Fortschritte in der Chemie und der Biotechnologie von Fettstoffen unter Berücksichtigung der Verbesserung der nativen Öle und Fette durch Pflanzenzüchtung.

2. Reaktionen an ungesättigten Fettstoffen

Aus Pflanzenölen sind durch einfache, industriell durchgeführte Reaktionen Fettstoffe in einer Reinheit zugänglich, die sie für weitere chemische Umsetzungen und auch zur Synthese chemisch reiner Produkte einsetzbar macht. Für die im Folgenden beschriebenen Synthesen wurden überwiegend eingesetzt: Ölsäure **1a** und Elaidinsäure (*E*)-**1a**, Petroselinsäure **2a**, Erucasäure **3a**, Linolsäure **4a** und Linolensäure **5a** (Abbildung 1). Ricinolsäure **6a** trägt eine zusätzliche Hydroxygruppe, die für stereo- und regioselektive Synthesen nützlich ist. Durch Pyrolyse von **6b** und folgende Verseifung wird 10-Undecensäure **7a** erhalten,^[4] eine ω -ungesättigte Carbonsäure, die für selektive Umsetzungen sehr nützlich ist. 9-Decensäure **8a** und 13-Tetradecensäure **9a** sind durch Metathesereaktion von Ethylen mit Ölsäure **1a** bzw. Erucasäure **3a** zugänglich (siehe Abschnitt 2.3) und erweitern das Spektrum der ω -ungesättigten Fettstoffe. Aus Linolsäure **4a** ist durch Isomerisierung Konjuensäure **10a** mit konjugierten Doppelbindungen als Regio- und Stereoisomerengemisch erhältlich.^[4] Im Labormaßstab gut zugänglich sind die Alkinfettstoffe **11–13** mit mittelständiger bzw. endständiger Dreifachbindung.^[6]

Als reaktive Fettstoffe stehen weiterhin die Epoxide **14–16** zur Verfügung, deren Synthese in den letzten Jahren bedeutend verbessert wurde (siehe Abschnitt 2.1). Ricinolsäuremethylester **6b** lässt sich zum 12-Oxoölsäuremethylester **17** oxidieren, der sich leicht zum Enon **18** isomerisieren lässt.^[7] Ähnlich kann der durch Selendioxyd-Oxidation von 10-Undecensäuremethylester **7b** erhaltene Allylalkohol **19** (siehe Abschnitt 3.2.2) zum α,β -ungesättigten Enon **20** dehydriert werden.^[7b] Die Fettstoffe **17–20** sind geeignete Substrate für interessante Folgereaktionen.

2.1. Oxidationen

2.1.1. Neue Methoden zur Epoxidierung ungesättigter Fettsäuren

Ungesättigte Fettstoffe werden industriell bevorzugt nach dem In-situ-Perameisensäureverfahren epoxidiert.^[4] Zahlreiche neuere Methoden wurden insbesondere auf Ölsäure angewandt, z.B. die Epoxidierung mit Aldehyden und molekularem Sauerstoff,^[8] mit Dioxiranen,^[9–11] mit H_2O_2 /Wolframheteropolysäuren^[12, 13] sowie H_2O_2 /Methyltrioxorhenium.^[14–17] Auch die Epoxidierung nach dem Halcon-Verfahren^[18] mit Alkylhydroperoxiden gelingt mit ungesättigten Fettstof-

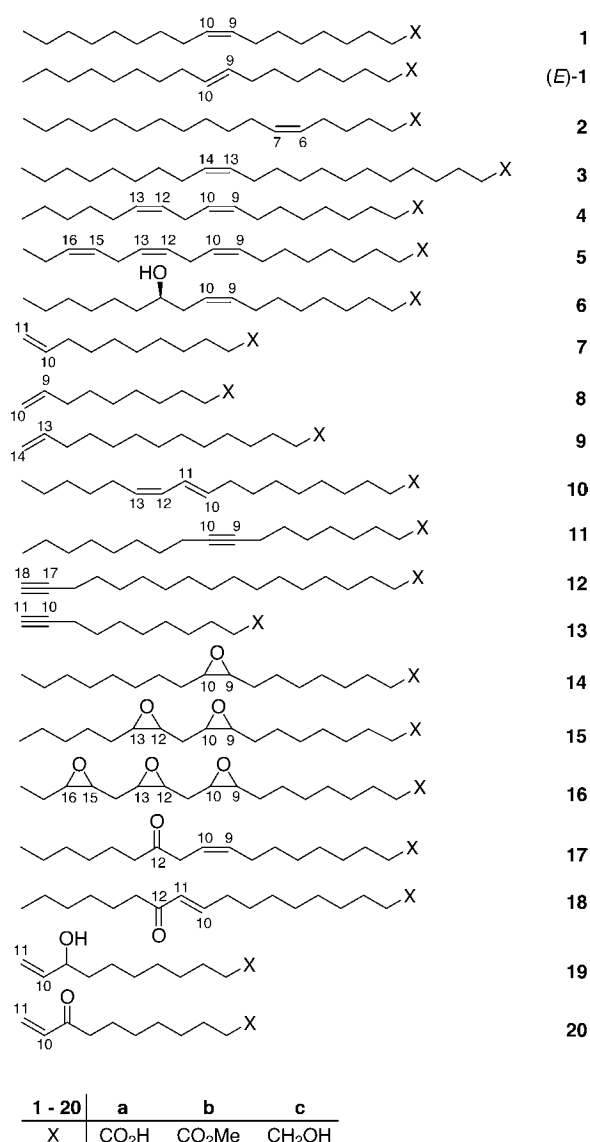
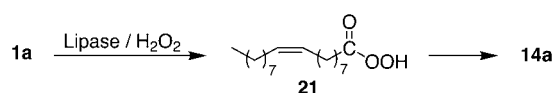


Abbildung 1. Edukte für die Synthese neuartiger Fettstoffe: Ölsäure **1a**, Elaidinsäure (*E*)-**1a**, Petroselinsäure **2a**, Erucasäure **3a**, Linolsäure **4a**, Linolensäure **5a**, Ricinolsäure **6a**, 10-Undecensäure **7a**, 9-Decensäure **8a**, 13-Tetradecensäure **9a**, Konjuensäure **10a** (Regio- und Stereoisomerengemisch), Stearolsäure **11a**, 17-Octadecensäure **12a**, 10-Undecensäure **13a**, *cis*-9,10-Epoxyoctadecensäure **14a**, *cis*-9,10;*cis*-12,13-Bisepoxyoctadecensäure **15a**, *cis*-9,10;*cis*-12,13;*cis*-15,16-Trisepoxyoctadecensäure **16a**, 12-Oxoölsäure **17a**, 12-Oxo-octadec-10-ensäure **18a**, 9-Hydroxy-10-undecensäure **19a**, 9-Oxo-10-undecensäure **20a** sowie die entsprechenden Methylester **1b–20b** und Alkohole **1c–20c**.

fen.^[19, 20] Allerdings erlangte bisher keine dieser Methoden industrielle Bedeutung.

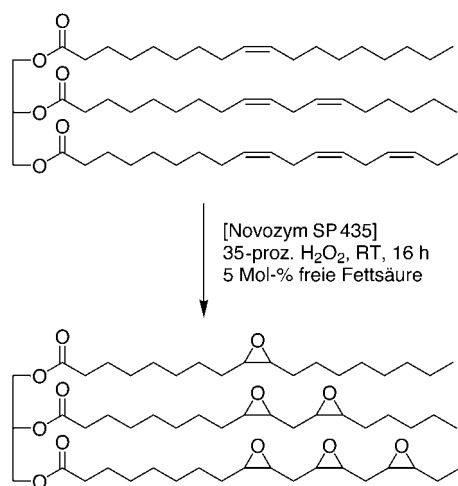
Von großem Interesse ist die chemo-enzymatische Epoxidierung, da mit dieser Methode die unerwünschte Epoxidringöffnung vollständig unterdrückt wird. Zunächst wird die ungesättigte Fettsäure^[21] oder der Fettsäureester^[22] mit H_2O_2 Lipase-katalysiert zu einer ungesättigten Percarbonsäure wie **21** umgesetzt, die sich dann (in einer vorwiegend intermolekularen Reaktion) „selbst“ epoxidiert (Schema 1).^[23] Der zweite Reaktionsschritt erfolgt ohne Einfluss des Enzyms nach den bekannten Gesetzmäßigkeiten der Prileschajew-Epoxidierung.



Schema 1. Reaktionsprinzip der chemo-enzymatischen „Selbst“-Epoxidierung ungesättigter Fettsäuren: intermediäre, enzymatische Bildung von Peroxyölsäure **21** aus Ölsäure **1a**.^[23]

Herausragende Stabilität und Aktivität weist Novozym SP 435 auf, eine auf Polyacryl immobilisierte Lipase aus *Candida antarctica* B. Der leicht abtrennbare heterogene Biokatalysator lässt sich bemerkenswerterweise mehrfach ohne Aktivitätsverlust wiederverwenden; Turnover von mehr als 200 000 Mol Produkt pro Mol Katalysator wurden erreicht.

Unterwirft man Pflanzenöle der Perhydrolyse, so werden sie durch die gebildeten Peroxyfettsäuren ebenfalls epoxidiert (Schema 2).^[24] Die Bildung von Mono- und Diglyceriden kann durch Zusatz von 5 Mol-% freier Fettsäuren völlig unterdrückt werden. Mit dieser Methode wurden Sojaöl und andere Pflanzenöle epoxidiert, mit Umsätzen und Selektivitäten von 90 % und mehr. Auch beim hochungesättigten Leinöl bleibt die Selektivität der Reaktion erhalten.



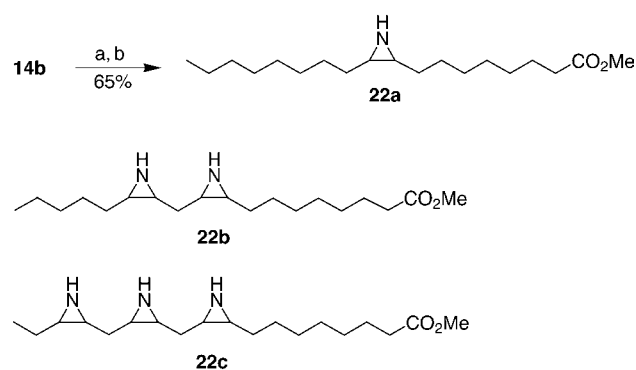
Schema 2. Chemo-enzymatische Epoxidierung von Pflanzenölen.^[24]

Pflanzenölepoxide werden gegenwärtig überwiegend als PVC-Stabilisatoren industriell eingesetzt. Neue Anwendungsbereiche wurden durch die Möglichkeit der photochemisch initiierten kationischen Härtung erschlossen.^[25]

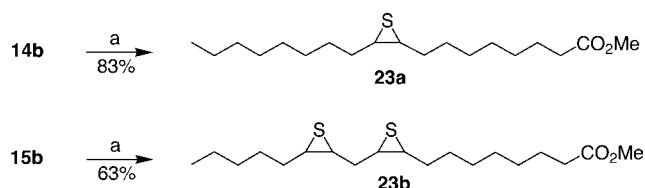
2.1.1.1. Folgereaktionen von Epoxiden zu Aziridinen und Episulfiden

Epoxidierte Fettstoffe wie **14–16** sind reaktive Edukte für eine Vielzahl interessanter Folgeprodukte.^[4] Als potentielle Wirkstoffe wurden die entsprechenden Epiminooctadecansäuremethylester **22a–c** synthetisiert (Schema 3).^[26, 27]

Die Aziridine **22** und ebenso die aus den Epoxiden **14b** und **15b** zugänglichen Episulfide **23**^[28] (Schema 4) sind interessante Zwischenstufen zur Synthese heterocyclischer und hochfunktionalisierter Fettstoffe.



Schema 3. Synthese von Epiminooctadecansäuremethylester **22a** aus Epoxyoctadecansäuremethylester **14b**: a) NaN_3 , NH_4Cl , EtOH , H_2O ; b) Ph_3P , THF .^[26] Entsprechend können die Di- und Triepiminooctadecansäuremethylester **22b** und **22c** ausgehend von den Di- und Triepoxyoctadecansäuremethylestern **15b** und **16b** synthetisiert werden.^[27]



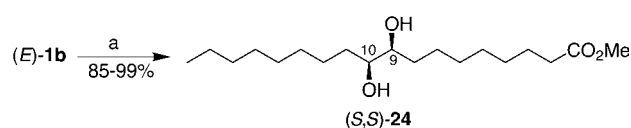
Schema 4. Synthese von Epithiooctadecansäuremethylester **23a** aus Epoxyoctadecansäuremethylester **14b**: a) $\text{HC}(=\text{S})\text{N}(\text{CH}_3)_2$, CF_3COOH , $\text{ClCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$. Entsprechend kann der Diepithiooctadecansäuremethylester **23b** aus Diepoxyoctadecansäuremethylester **15b** synthetisiert werden.^[28]

2.1.2. Oxidationen zu vic-Dihydroxyfettsäuren

Vicinale Diöle ungesättigter Fettstoffe – Polyole für Polyurethane auf der Basis nachwachsender Rohstoffe – können durch Epoxidierung und nachfolgende nucleophile Epoxidringöffnung hergestellt werden. Da zur technischen Ringöffnung fettchemischer Epoxide drastische Reaktionsbedingungen nötig sind,^[29] ist die direkte Synthese von vicinalen Dihydroxyfettsäuren von Interesse.

Die Hydroxylierung von Ölsäure **1a** mit H_2O_2 unter Katalyse von Molybdän-,^[30] Wolfram-^[31] und Rheniumverbindungen^[32, 33] verläuft über die Zwischenstufe der Epoxide und liefert *syn*-Diöle.

Besonders bemerkenswert ist die enantioselektive Oxidation von Elaidinsäuremethylester (*E*)-**1b** mit AD-Mix- α und AD-Mix- β ^[34] in einer Ausbeute von 97 % und einem Enantiomerenüberschuss von 95 % *ee* zum chiralen *syn*-Dihydroxyoctadecanoat (*S,S*)-**24** bzw. seinem Enantiomer (Schema 5).^[35a] Mit Ölsäuremethylester **1b** war der Enantiomerenüberschuss nach dieser Methode sehr niedrig. Die enantiomerenangereicherten aus **24** erhaltenen Carbo-



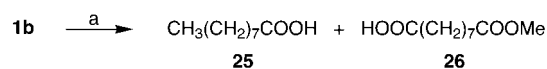
Schema 5. Enantioselektive Oxidation von Elaidinsäuremethylester (*E*)-**1b** mit AD-Mix- α zu (–)-(9*S*,10*S*)- und mit AD-Mix- β zu (+)-(9*R*,10*R*)-Dihydroxyoctadecansäuremethylester **24**.^[35a] a) AD-Mix, MeSO_2NH_2 , H_2O , *t*BuOH, 0 °C.

xylate assoziieren in Tetrachlorkohlenstoff zu Gelen. Wie die entsprechenden Gele aus den enantiomerenreinen Ricinolsäuresalzen^[36] bilden sie helicale Fasern, die durch Rasterkraftmikroskopie sichtbar gemacht werden können.^[35b]

2.1.3. Oxidative Spaltung

Die Spaltung von Ölsäure **1a** zu Pelargonsäure **25** und Azelainsäure **26a** mit Ozon als Oxidationsmittel ist die wichtigste industrielle Anwendung der Ozonolyse.^[4, 37] Eine katalytische Alternative unter Verwendung eines günstigeren, sicheren Oxidationsmittels ist von erheblichem Interesse.^[4]

Die direkte oxidative Spaltung von innenständigen C-C-Doppelbindungen mit Peressigsäure und Ruthenium-Katalysatoren oder mit H₂O₂ und Re-, W- und Mo-Katalysatoren führt nur zu Ausbeuten von 50–60 % (Schema 6).^[38] Dagegen



Schema 6. Übergangsmetall-katalysierte oxidative Spaltung von Ölsäuremethylester **1b** zu Pelargonsäure **25** und Azelainsäuremethylester **26** mit Peressigsäure^[39] oder Wasserstoffperoxid.^[40] a) [Ru(acac)₃]/CH₃CO₃H oder Re₂O₇/H₂O₂.

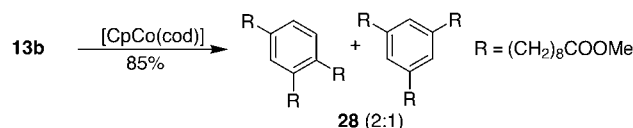
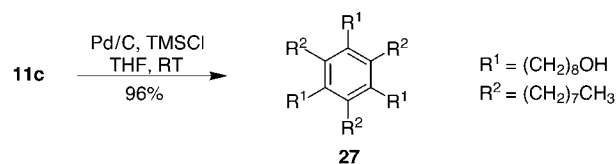
können endständige C-C-Doppelbindungen mit den Katalysatorsystemen [Ru(acac)₃]/CH₃CO₃H^[39] oder Re₂O₇/H₂O₂^[40] mit Ausbeuten von ca. 80 % gespalten werden (acac = Acetylacetonato). Daraus ergibt sich die Möglichkeit, native innenständig ungesättigte Fettsäuren in einer Zwei-Stufen-Reaktion zunächst durch Metathese in ω -ungesättigte Fettsäuremethylester wie **8b** und **9b** zu überführen (siehe Abschnitt 2.3) und diese dann oxidativ zu spalten. Der Vorteil liegt darin, dass so die Produktion von Azelainsäure **26a** und Pelargonsäure **25** – und zwar unabhängig von der verwendeten Oxidationsmethode – entkoppelt werden kann.

2.2. Übergangsmetall-katalysierte Synthese von Arenen

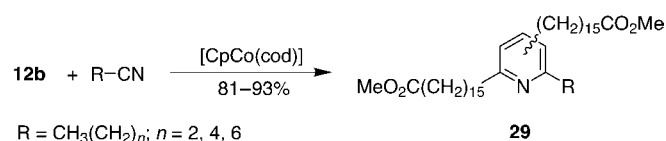
Auch die Eröffnung eines Zugangs zu aromatischen Verbindungen aus nachwachsenden Rohstoffen ist von Bedeutung.^[41] Die Übergangsmetall-katalysierte Trimerisierung der Alkinfettsäuren **11** und **13** ergibt die hochfunktionalisierten Arene **27** bzw. **28** (Schema 7) und Cotrimerisierung mit Nitrilen vielfältig variierbare hochfunktionalisierte Pyridinderivate **29** (Schema 8).^[42]

2.3. Olefin-Metathese

Die Übergangsmetall-katalysierte Metathese von Olefinen, die in der industriellen Petro- und Polymerchemie zur Herstellung spezieller Olefine und ungesättigter Polymere genutzt wird, ist auch auf ungesättigte Fettsäureester anwendbar. Allerdings stand der technischen Nutzung dieser oleochemisch interessanten Reaktion bislang die geringe Belastbarkeit des teuren Katalysators entgegen.^[4]

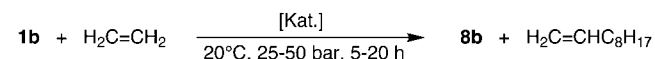


Schema 7. Cyclotrimerisierung des innenständigen Alkins **11c** und des terminalen Alkins **13b** zu den Benzolderivaten **27** bzw. **28**.^[42] TMS = Trimethylsilyl, Cp = Cyclopentadienyl, cod = Cycloocta-1,5-dien.



Schema 8. Cyclisierung von 17-Octadecinsäuremethylester **12b** mit Nitrilen zu den Pyridinderivaten **29**.^[42]

Warwel et al. haben nun in den letzten Jahren mit Re₂O₇·B₂O₃/Al₂O₃·SiO₂ + SnBu₄ bzw. CH₃ReO₃ + B₂O₃·Al₂O₃·SiO₂ signifikant wirksamere Katalysatoren entwickelt und an einer Reihe von metathetischen Umsetzungen erfolgreich erprobt.^[43] Hierdurch rückt die industrielle Anwendung der Olefin-Metathese auf ungesättigte Fettstoffe in eine realistische Nähe. Als Beispiel zeigt Schema 9 die Cometathese von Ölsäuremethylester **1b** und Ethylen zu 9-Decensäuremethylester **8b** und 1-Decen. Ganz entsprechend erhält man mit Erucasäuremethylester **3b** und Ethylen 13-Tetradecensäuremethylester **9b** und 1-Decen.^[43] Auch Methyltrioxorhenium ist als Katalysator für die Metathese von ungesättigten Fettstoffen geeignet.^[44]

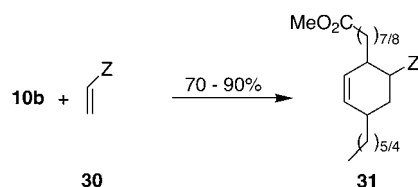


Katalysatoren: Re₂O₇·B₂O₃ / Al₂O₃·SiO₂ + SnBu₄
oder CH₃ReO₃ + B₂O₃·Al₂O₃·SiO₂

Schema 9. Cometathese von Ölsäuremethylester **1b** und Ethylen zu 9-Decensäuremethylester **8b** und 1-Decen. Der eingesetzte Ester **1b** (neue Sonnenblume) lag in 87-proz. Reinheit vor, die Umsätze und Selektivitäten betrugen jeweils > 90 % und die Ausbeuten an **8b** > 80 %.^[43]

2.4. Pericyclische Reaktionen

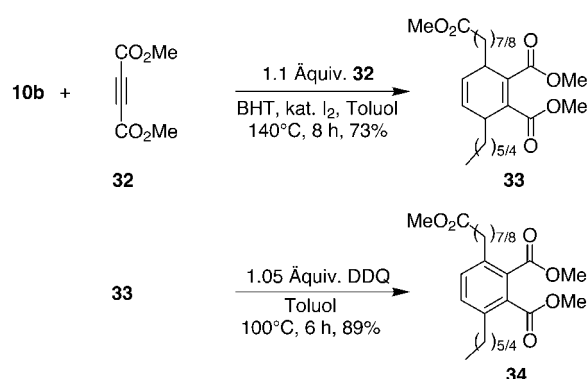
Die thermische Diels-Alder-Reaktion von Konjuensäuremethylester **10b** mit elektronenarmen Dienophilen ist gut untersucht^[4] und wird mit Maleinsäureanhydrid auch industriell durchgeführt. Mit einer Lewis-Säure wie Bortrichlorid oder Zinntetrachlorid und katalytischen Mengen Iod gelang es, bereits bei Raumtemperatur mit den Dienophilen **30** die Cycloaddukte **31** zu erhalten (Schema 10).^[45] Aufbauend auf die Cycloaddition von Acetylendicarbonsäuredimethylester



30, 31	a	b	c	d
Z	CN	CO ₂ Me	COMe	CHO

Schema 10. Diels-Alder-Reaktionen von Konjuenfettsäuremethylester **10b** mit den Dienophilen **30a–d** zu den regioisomeren Additionsprodukten **31**.^[45]

32 an **10b** wurde eine weitere Arensynthese entwickelt. Das Addukt **33** wurde mit 2,3-Dichlor-5,6-dicyan-1,4-benzochinon (DDQ) zu Phthalsäuredimethylester **34** dehydriert, der in die Fettsäurekette integriert ist (Schema 11).

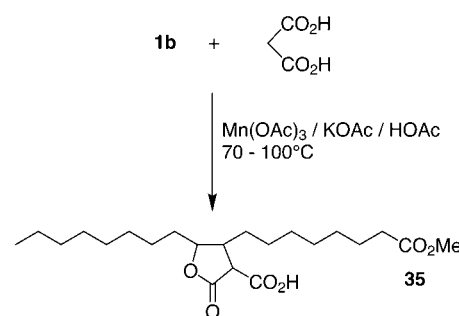


Schema 11. Diels-Alder-Reaktion von Konjuensäuremethylester **10b** mit Acetylendicarbonsäuredimethylester **32** zu den Cycloadditionsprodukten **33**, die mit DDQ zu den Phthalsäuredimethylestern **34** dehydriert wurden.^[45] BHT = 2,6-Di-*tert*-butylphenol, DDQ = 2,3-Dichlor-5,6-dicyan-1,4-benzochinon.

Weiterhin wurden Diels-Alder-Reaktionen mit den Enonen **18** und **20** als Dienophile,^[45, 46] En-Reaktionen,^[47, 48] [2+2]-Cycloadditionen von Ketenen^[49] und Isocyanaten^[50] an ungesättigte Fettstoffe sowie sigmatrope [3,3]-Umlagerungen von fettstämmigen Allylvinylethern^[49] untersucht, die zu einer Vielfalt von interessanten neuartigen Fettstoffen führen.

2.5. Radikalische Additionen

Radikalische Additionen an ungesättigte Fettstoffe unter Knüpfung einer neuen C-C-Bindung wurden erst in den letzten Jahren im Zuge der Entwicklung der modernen präparativen Radikalchemie systematisch untersucht. Die übliche radikalische Zinnhydridchemie^[51] kann auf die sterisch anspruchsvollen mittelständigen und elektronenreichen Doppelbindungen wie in **1b** nicht angewandt werden. Dagegen wurden, initiiert mit Mangan(III)-acetat,^[52] enolisierbare Verbindungen wie Essigsäure, Malonsäure, Malonsäuremonomethylester und Cyanessigsäure an die Fettsäureester **1b** und **7b** addiert und ergaben die entsprechenden γ -Lactone wie **35** (Schema 12).^[53–55] Leider können höhere Carbonsäuren

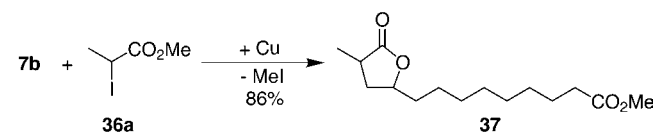


Schema 12. Mangan(III)-acetat-induzierte radikalische Addition von Malonsäure an Ölsäuremethylester **1b** zu den regioisomeren γ -Lactonen **35**.^[53–55]

ren nicht mit Mangan(III)-acetat zum Radikal oxidiert und an Alkene addiert werden.^[54, 55] Hierzu wurde eine neue Methode entwickelt.

2.5.1. Lösungsmittelfreie, durch Kupfer initiierte Additionen von 2-Halogencarbonsäureestern

Höhere Carbonsäuren können über ihre α -Halogenester, durch Elektronenübertragung von Kupfer initiiert, an Alkene wie ungesättigte Fettstoffe addiert werden.^[56–58] Die Addition von 2-Iodcarbonsäureestern an **7b** liefert γ -Lactone wie **37** in hohen Ausbeuten (Schema 13). Die Reaktionsführung ist

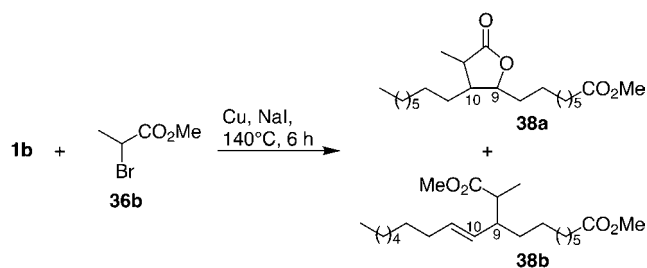


Schema 13. Kupfer-initiierte Addition von 2-Iodpropansäuremethylester **36a** an 10-Undecensäuremethylester **7b**.^[56–58]

sehr einfach: Der ungesättigte Fettstoff, der 2-Halogencarbonsäureester und handelsübliches Kupferpulver wurden ohne weitere Vorbehandlung gemischt und unter Schutzgas auf 100–130°C erhitzt. Nach einfacher Aufarbeitung wurden die Produkte in guten Ausbeuten analysenrein erhalten. 2-Iodcarbonsäureester können aus den leichter erhältlichen Bromverbindungen in situ durch Zusatz von stöchiometrischen Mengen an Natriumiodid zum Reaktionsgemisch erhalten werden.

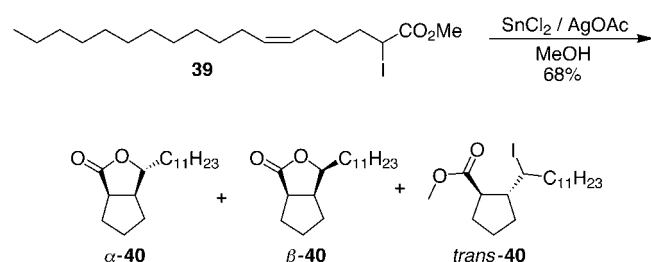
2-Brompropansäuremethylester **36b** wurde mit Kupfer unter Zusatz stöchiometrischer Mengen an Natriumiodid auch an Ölsäuremethylester **1b** addiert. Die regioisomeren Additionsprodukte **38a** wurden in 58% Ausbeute isoliert. Als Nebenprodukt wurde das Additions-/Eliminierung-Produkt **38b** isoliert (Schema 14). Vergleichbare Ergebnisse wurden mit Petroselinsäuremethylester **2b** und Erucasäuremethylester **3b** erzielt.^[57, 58] Diese allgemein anwendbare Additionsreaktion wurde auch mit Brommalonestern, 2-Brom-3-alkylbernsteinsäureestern, α,α' -Diioddicarbonsäureestern und anderen in guten bis sehr guten Ausbeuten durchgeführt.^[57, 58] Ganz analog wurden auch 2-Halogenalkannitrile addiert.^[56–58]

Die Reaktion kann auch zur intramolekularen Cyclisierung genutzt werden. Die Cyclisierung von 2-Iodpetroselinsäure-



Schema 14. Kupfer-initiierte Addition von 2-Brompropansäuremethylester **36b** an Ölsäuremethylester **1b** in Gegenwart von Natriumiodid zu den regioisomeren γ -Lactonen **38a** und den Additions-/Eliminierungs-Produkten **38b**.^[56–58]

methylester **39** zu den Cyclopentanderivaten **40** wurde am besten mit dem Initiatorsystem AgOAc/SnCl₂ ausgeführt (Schema 15).^[59]



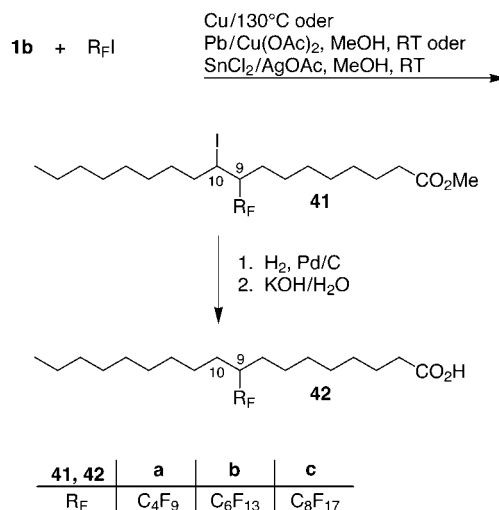
Schema 15. AgOAc/SnCl₂-vermittelte radikalische Cyclisierung von 2-Iodpetroselinsäuremethylester **39** (α -**40**: β -**40**:*trans*-**40** = 35:31:34).^[59]

2.5.2. Additionen von Perfluoralkyliodiden

Radikalische Additionen von Perfluoralkyliodiden an endständige ungesättigte Carbonsäuren wie 10-Undecensäure **7a** mit 2,2'-Azobisisobutyronitril (AIBN) als Initiator liefern die perfluoralkylierten Additionsprodukte in guten Ausbeuten.^[60] Dagegen werden bei der radikalischen Addition an Alkene mit innenständigen Doppelbindungen, z. B. Ölsäuremethylester **1b**, mit dieser Methode die Additionsprodukte nur in sehr geringen Ausbeuten erhalten.^[61] Perfluoralkyliodide **41** können jedoch in guten bis sehr guten Ausbeuten sowohl an 10-Undecensäuremethylester **7b** als auch an Ölsäuremethylester **1b** und Petroselinsäuremethylester **2b** addiert werden, wenn die Reaktionen durch Elektronentransfer von Metallen wie feinverteiltem Silber,^[61] Kupferpulver^[62] oder Blei mit katalytischen Mengen an Kupfer(II)-acetat^[62] initiiert wird (Schema 16). Die besten Ausbeuten am Additionsprodukt **41** wurden mit Kupferpulver oder mit Blei/Cu(OAc)₂ erhalten.^[62] Perfluoralkylierte Fettstoffe wie **42** sind wegen ihrer Tensideigenschaften von Interesse.^[63]

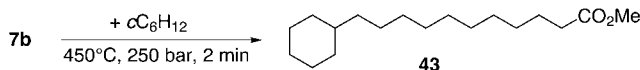
2.5.3. Thermische Additionen von Alkanen

Alkylierte Fettsäuren haben interessante Eigenschaften,^[64] und eine effektive Methode zur Synthese dieser Verbindungen ist von Bedeutung.^[4] Die An-Reaktion ist die thermisch initiierte radikalische Addition von Alkanen an Alkene bei erhöhten Temperaturen von 200–450 °C und hohen Drücken von 200–250 bar.^[65] Die Addition von Cyclohexan an 10-



Schema 16. Synthese von 9- und 10-Perfluoralkyloctadecansäuren **42** als Regioisomerengemisch: Addition von Perfluoralkyliodiden an **1b** ergibt die regioisomeren perfluoralkylierten Iodester **41**, die zum iodfreien Ester reduziert und zur freien perfluoralkylierten Fettsäure **42** verseift wurden.^[61, 62]

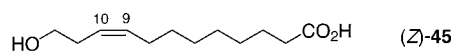
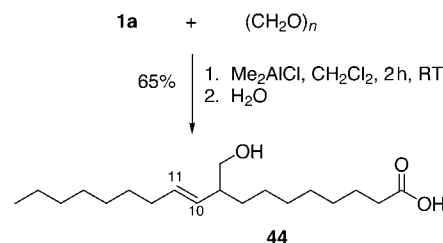
Undecensäuremethylester **7b** ergab 11-Cyclohexylundecensäuremethylester **43** (Schema 17).^[66] 11-Cyclohexylundecensäure ist das Hauptlipid thermophiler Archaeobakterien.^[67]



Schema 17. Thermisch initiierte Addition von Cyclohexan an 10-Undecensäuremethylester **7b**. Die Reaktion wurde bei hohen Temperaturen und Drücken in einem Hochdruck-Hochtemperatur-Strömungsreaktor durchgeführt.^[66]

2.6. Lewis-Säure-induzierte kationische Additionen

ω -Hydroxycarbonsäuren, auch alkylverzweigte wie **44**, die von Interesse als Polyesterkomponenten sind, werden mit hoher Selektivität durch En-Addition von Formaldehyd an ungesättigte Fettsäuren erhalten (Schema 18).^[68] Allerdings wird als Reagens in stöchiometrischen Mengen Dimethylaluminiumchlorid oder Ethylaluminiumdichlorid eingesetzt.^[69, 70]

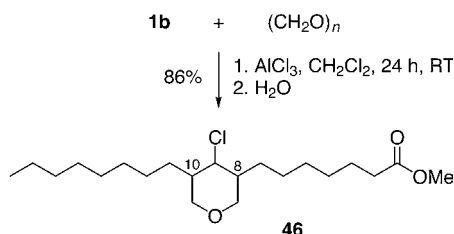


Schema 18. Me₂AlCl-induzierte Addition von Paraformaldehyd an Ölsäure **1a** zu den regioisomeren Homoallylalkoholen **44**. Die entsprechende Addition an 10-Undecensäure **7a** liefert den Homoallylalkohol **45** (*E*:*Z* = 4:1).^[68]

Eine katalytische Reaktionsvariante wäre von großer Bedeutung. (Z)-**45** (Schema 18), durch Addition von Formaldehyd an 10-Undecensäure **7a** zu erhalten, bewirkt bei Sojabohnen die Wundheilung einer Gewebeschädigung durch Stimulierung der Kallusbildung an der geschädigten Stelle.^[71]

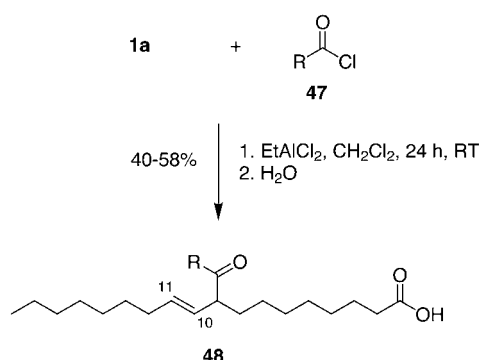
En-Additionen von Formaldehyd an native Öle verlaufen unter Bildung der entsprechenden di- und trifunktionalisierten Triglyceride,^[72] und Jojobaöl liefert Gemische von 1:1- und 1:2-Addukten.^[73] Homoallylether werden in analoger Reaktion mit Acetalen erhalten.^[74]

Formaldehyd und höhere Aldehyde reagieren in Gegenwart von Aluminiumchlorid mit ungesättigten Fettstoffen mit hoher Selektivität in guten Ausbeuten zu den entsprechenden alkylsubstituierten 4-Chlortetrahydropyranen.^[75] Die Reaktion von zwei Äquivalenten Formaldehyd z. B. mit Ölsäuremethylester **1b** ergab das 3,5-dialkylsubstituierte 4-Chlortetrahydropyran **46** (Schema 19). Durch Variation des Alkens einerseits und der Carbonylkomponente andererseits wurde ein breites Spektrum alkylsubstituierter Chlortetrahydropyrane zugänglich.



Schema 19. AlCl_3 -induzierte Addition von zwei Äquivalenten Paraformaldehyd an Ölsäuremethylester **1b** zu den 4-Chlortetrahydropyranen **46** (Gemisch von zwei Regioisomeren).^[75]

Die Friedel-Crafts-Acylierung ist eine interessante und vielseitige Methode zur Funktionalisierung ungesättigter Fettstoffe.^[76] Die EtAlCl_2 -induzierte Acylierung u. a. von Ölsäure **1a** mit Acylchloriden **47** ergab mit hoher Stereoselektivität die (E)-konfigurierten ungesättigten Oxocarbonsäuren **48** (Schema 20). Cyclische Anhydride wie Bern-



47, 48	a	b	c	d	e	f	g
R	Me	$n\text{C}_6\text{H}_{13}$	$n\text{C}_{15}\text{H}_{31}$	cC_3H_5	Ph		$\text{Me}-\text{CH}=\text{CH}$

Schema 20. EtAlCl_2 -induzierte Friedel-Crafts-Acylierung von Ölsäure **1a** mit den Acylchloriden **47a–g** zu den ungesättigten Oxocarbonsäuren **48a–g** (Regioisomerengemisch).^[76]

steinsäureanhydrid liefern ganz entsprechend ungesättigte Oxodisäuren.^[76] Die Acylierungsprodukte **48** sind Substrate für vielfältige interessante Folgereaktionen, z. B. **48g** für Nazarov-Cyclisierungen.^[77]

2.7. Nucleophile Additionen an umgepolte ungesättigte Fettsäuren

Die Doppelbindung ungesättigter Fettsäuren wird überwiegend mit Elektrophilen (Abschnitt 2.6), mit Radikalen (Abschnitt 2.5) oder in pericyclischen Reaktionen umgesetzt (Abschnitt 2.4). Ganz neue Verknüpfungsmöglichkeiten ergeben sich, wenn die elektronenreiche Doppelbindung in eine elektronenarme umgepolt wird wie in den Enonfettsäuren **18** und **20**. Dadurch lässt sich eine Vielfalt von Nucleophilen in Michael-Additionen mit der Doppelbindung verknüpfen.^[78] Interessante neuartige Fettstoffe aus den Enonen **18** und **20** wurden auch in Stetter-^[7, 78] und Mukaiyama-Additionen^[79] erhalten.

Ebenso wurde Konjuensäuremethylester **10b** anodisch mit zahlreichen Alkoholen zu Dialkoxyoctadecansäuremethylester mit zum Teil interessanten Tenseideigenschaften umgesetzt.^[80] Palladium-katalysiert lassen sich zahlreiche C-, O- und N-Nucleophile in fettstämmige Allylcarbonate (hergestellt aus den entsprechenden Allylalkoholen, siehe Abschnitt 3.2.2) in guten Ausbeuten einführen.^[79b,d]

3. Reaktionen an gesättigten Fettstoffen

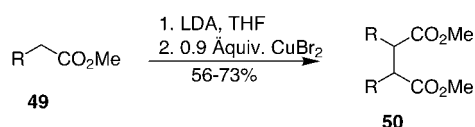
3.1. Radikalische C-C-Verknüpfungen

3.1.1. Oxidative Kupplungen von C2-anionisierten Fettsäuren

C-C-Verknüpfungen unter Bildung symmetrischer Produkte lassen sich durch Dimerisierung zweier Radikale erreichen. Radikale sind selektiv unter milden Bedingungen und in hoher Konzentration durch Oxidation von Anionen zugänglich. Ungesättigte Fettsäuren weisen mehrere Stellen von vergleichsweise hoher CH-Acidität auf, die sich zur Anionisierung und für Folgereaktionen eignen, insbesondere die C-H-Bindung α -ständig zur Estergruppe. Die Fettsäuremethylester **49** wurden anionisiert und oxidativ mit 0.9 Äquivalenten CuBr_2 umgesetzt. Dabei entstanden die Dimere **50** mit einem (d,l):meso-Verhältnis von etwa 1.2:1 (Schema 21).^[81] Durch Ozonolyse konnte aus **50c** in 90 % Ausbeute der Tetracarbonsäuredimethylester **51** gewonnen werden.

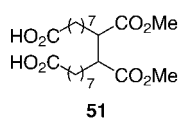
3.1.2. Anodische Homo- und Heterokupplung von Fettsäuren (Kolbe-Elektrolyse)

Die anodische Decarboxylierung aliphatischer Carbonsäuren ermöglicht einen raschen, auch technisch nutzbaren Zugang zu Radikalen für Dimerisierungen und Kupplungen (Kolbe-Elektrolyse).^[82] Diese leistungsfähige Synthesemethode wurde vielfältig in Homokupplungen mit natürlichen und modifizierten Fettsäuren etwa zur Herstellung spezifisch



	R	Ausbeute an 50 (%) ^[a]
a	C ₆ H ₁₃	67 (84)
b	C ₈ H ₁₇	73 (82)
c	CH ₂ =CH(CH ₂) ₇ ^[b]	69 (81)
d	C ₁₀ H ₂₁	64 (82)
e	C ₁₂ H ₂₅	66 (81)
f	(Z)-7-Hexadecenyl ^[c]	56 (66)
g	(Z,Z)-7,10-Hexadecadienyl ^[d]	67 (80)

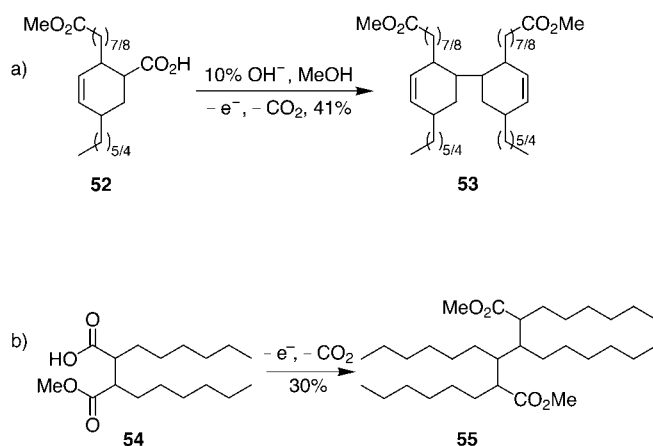
[a] Ausbeute in Klammern bez. auf Umsatz; [b] 49c=7b; [c] 49f=1b; [d] 49g=4b



Schema 21. Radikalische α,α' -Dimerisierung der Fettsäuremethylester 49. Ozonolyse des Dimers 50c liefert den Tetracarbonsäuredimethylester 51.^[81] LDA = Lithiumdiisopropylamid.

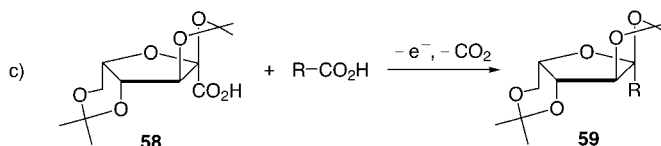
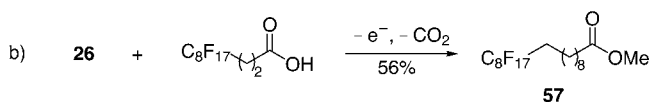
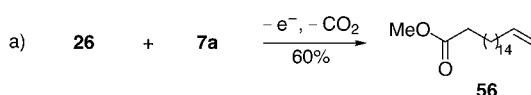
funktionalisierter Alkane^[83] oder langkettiger Diester genutzt. Isostearinsäure lässt sich in 63 % Ausbeute zu einem methylverzweigten C₃₄-Kohlenwasserstoff dimerisieren, dessen kosmetisches Eigenschaftsprofil dem von Squalan ähnelt. Als Halbestere mit der bisher höchsten Kohlenstoffzahl wurde der Methylester der C₃₆-Dimerfettsäure in 38 % Ausbeute zu einem C₇₀-Disäuredimethylester gekuppelt.^[83, 84]

Durch Homokupplung lassen sich ferner aus Diels-Alder-Addukten von Fettsäuren wie 52 (siehe Abschnitt 2.4) die Dimerfettsäuren 53 (Schema 22a)^[47] oder aus dem Halbestere von 2,2'-verknüpften Disäuren wie 54 (siehe Abschnitt 3.1.1) Dicarbonsäuren mit vier Alkylketten, z. B. 55, gewinnen (Schema 22b).^[78b]



Schema 22. Homokupplung der Halbestere 52 und 54 durch Kolbe-Elektrolyse zu den Dimeren 53^[45] bzw. 55.^[78b]

Durch Heterokupplung, d.h. durch Elektrolyse zweier unterschiedlicher Carbonsäuren, lassen sich neue ungesättigte Fettsäuren erhalten:^[82a, 84, 85a] z.B. 17-Octadecensäuremethylester 56 (Schema 23a),^[84] partiell perfluorierte Fettsäuren



R	C ₇ H ₁₅	C ₁₁ H ₂₃	C ₁₃ H ₂₇	C ₁₅ H ₃₁	C ₁₇ H ₃₅
Ausbeute (%)	32	33	25	21	17

R	CH ₂ =CH(CH ₂) ₈	Br(CH ₂) ₁₀	MeO ₂ C(CH ₂) ₂
Ausbeute (%)	31	33	28

Schema 23. Kolbe-Elektrolyse zweier unterschiedlicher Fettsäuren: Synthese a) von neuen ω -ungesättigten Fettsäuren wie 56,^[84] b) von perfluoralkylierten Fettsäuren wie 57^[84] und c) von C-Glycosiden 59.^[86a]

wie 57 (Schema 23b),^[84] Pheromone,^[85b] C-Glycoside 59 durch Coelektrolyse mit Zuckercarbonsäuren 58 (Schema 23c)^[86] oder langkettige Diester^[85b].

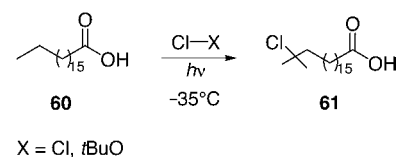
3.2. Funktionalisierungen von C-H-Bindungen

Selektive Reaktionen an der Alkylkette von Fettsäuren sind noch selten, jedoch von größtem Interesse.^[4]

3.2.1. Oxidationen von nichtaktivierten C-H-Bindungen

Nichtaktivierte C-H-Bindungen lassen sich chemisch^[87] und enzymatisch^[88] (siehe Abschnitt 4.2.5) funktionalisieren. Besonders wichtig und präparativ nicht immer befriedigend gelöst ist die Regioselektivität der C-H-Funktionalisierung.

Bemerkenswerte Fortschritte wurden durch photochemische Gasphasenchlorierung von an Aluminiumoxid adsorbierten Fettsäuren mit Chlor oder *t*BuOCl erreicht. Bei dieser Reaktion nehmen die Selektivitäten mit steigender Kettenlänge der Fettsäure zu. So lässt sich Stearinsäure 60 mit Chlor oder *t*BuOCl bei -35 °C zu 96 % bzw. 93 % in ω - (ω -2)-Stellung zu Chlorstearinsäuren 61 umsetzen (Schema 24).^[89] Die Selektivität ist bedeutend besser als bei der länger



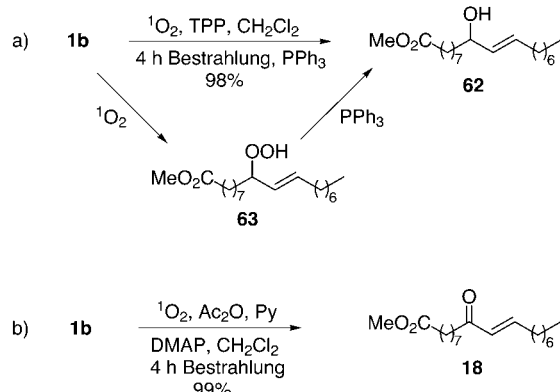
Schema 24. Photochemische Gasphasenchlorierung von an Aluminiumoxid adsorbierter Stearinsäure 60 zu Chlorstearinsäuren mit Chlor (relative Produktverteilung: 14.2 % ω -2, 38.4 % ω -1, 43.7 % ω) und *t*BuOCl (relative Produktverteilung: 11.6 % ω -2, 51.5 % ω -1, 30.1 % ω).^[89]

bekannten radikalischen Chlorierung mit Dialkylchloraminen in saurem Medium.^[90, 91] Mit Aminoxiden lassen sich kürzerkettige Fettsäuremethylester und Fettalkohole mit guten Umsätzen und $(\omega - 1)/(\omega - 2)$ -Selektivitäten hydroxylieren.^[7a]

3.2.2. Oxidationen von allylischen C-H-Bindungen

Als aktivierte C-H-Bindungen bieten sich bei ungesättigten Fettsäuren die allylischen C-H-Bindungen an, die sich prinzipiell mit einer Vielfalt an Oxidationsmitteln funktionalisieren lassen. Für die Allyloxidation von 10-Undecensäuremethylester **7b** und Ölsäuremethylester **1b** erwies sich $\text{SeO}_2/\text{iBuOOH}$ als brauchbar.^[7]

Die Reaktion mit Singulett-Sauerstoff ist für die Herstellung des Allylalkohols **62** wesentlich günstiger. Dazu wurde mit einer Natriumdampf-Hochdrucklampe und Tetraphenylporphin (TPP) als Sensibilisator **1b** mit Sauerstoff photooxygeniert und das entstandene Hydroperoxid **63** mit Triphenylphosphan reduziert (Schema 25).^[79b,c] In Gegenwart von



Schema 25. Photooxygenierung von Ölsäuremethylester **1b** mit Singulett-Sauerstoff und Tetraphenylporphin als Sensibilisator zu den a) Allylalkoholen **62** und b) α,β -ungesättigten Ketonen **18** (jeweils Regioisomerenmische).^[79b,c]

Acetanhydrid und Pyridin sowie katalytischen Mengen an 4-Dimethylaminopyridin (DMAP) lässt sich das Hydroperoxid direkt zum Regioisomerenmisch der Enonfettsäure **18** umwandeln.^[79b,c] Da die Photooxidation bereits mit Sonnenlicht gelingt, liegt hier ein ökonomisch wie ökologisch besonders günstiger Zugang zu in Allylstellung oxidierten ungesättigten Fettsäuren vor.

4. Enzymatische Reaktionen

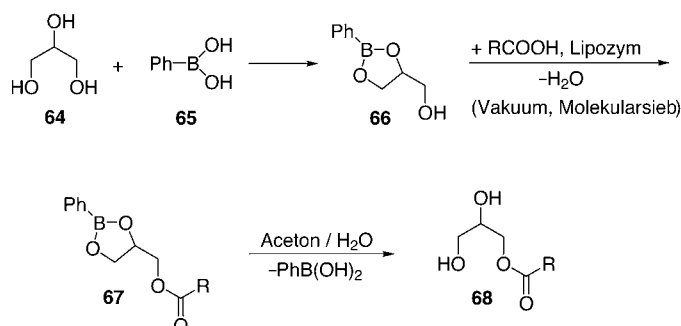
4.1. Lipase-katalysierte Transformationen

Lipasen und ihre Anwendungen wurden 1998 in dieser Zeitschrift zusammenfassend diskutiert.^[92] Daher beschränken wir uns auf wenige Beispiele für selektive Synthesen von Fettstoffen.

4.1.1. Lipase-katalysierte Synthesen von Monoglyceriden und Diglyceriden

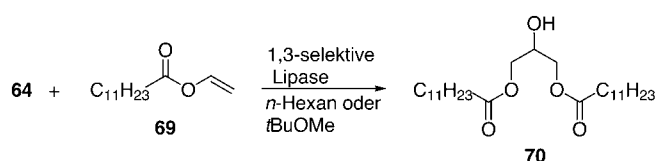
Mono- und Diglyceride (Partialglyceride) gehören zu den wichtigsten nichtionischen Tensiden auf oleochemischer Basis. Sie werden weit verbreitet als Emulgatoren im Lebensmittelsektor eingesetzt. „Monoglyceride“ werden großtechnisch durch Glycerolyse nativer Fette und Öle in Gegenwart anorganischer Katalysatoren hergestellt und müssen durch nachfolgende Molekulardestillation gereinigt werden.^[92] Als schonende Alternative zu diesen Verfahren bieten sich biokatalytische Transformationen an.^[4] Hier hat es in den letzten Jahren beträchtliche Fortschritte, aber noch keinen wirtschaftlichen Durchbruch gegeben.

Isopropyliden-^[93] oder Phenylboronsäureester-geschütztes^[94, 95] Glycerin kann in Gegenwart einer Lipase aus *Rhizomucor miehei* (Lipozym) und unter Verwendung freier Fettsäuren als Acyldonoren zu reinen Monoglyceriden **68** mit interessanten oberflächenaktiven Eigenschaften umgesetzt werden (Schema 26).



Schema 26. Lipase-katalysierte Synthese von 1(3)-*sn*-Monoglyceriden **68** durch Acylierung von **66** mit Fettsäuren zu **67** und Abspaltung der Schutzgruppe.^[94, 95]

Wird Glycerin **64** auf Kieselgel immobilisiert, gelingt die Veresterung überraschend einfach in aprotischen Lösungsmitteln wie *n*-Hexan oder *tert*-Butylmethylether in Gegenwart unterschiedlichster Lipasen und unter Verwendung einer Vielzahl von Acyldonoren (freie Fettsäuren, Fettsäuremethylester, -vinylester, Triglyceride etc.).^[96–98] So wurde z. B. mit Laurinsäurevinylester **69** in Gegenwart einer so genannten 1,3-selektiven Lipase^[96, 99] problemlos isomerenreines ($> 98\%$) 1,3-*sn*-Dilaurin **70** erhalten (Schema 27). Aufgrund ihrer leichten Zugänglichkeit bis in den kg-Maßstab sowie ihrer hohen Reinheit und Stabilität sind diese 1,3-*sn*-Diglyceride interessante Bausteine für weitere oberflächenaktive Verbindungen (z. B. durch Verknüpfung mit Aminosäuren) sowie zur Herstellung von Reagentien für die Lipidmodifizierung von Naturstoffen.^[100]



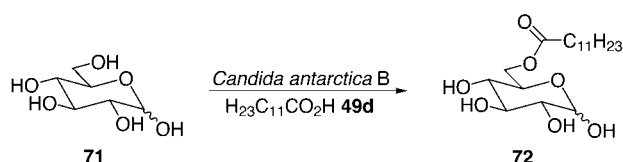
Schema 27. Lipase-katalysierte Synthese von 1,3-*sn*-Diglyceriden wie 1,3-*sn*-Dilaurin **70** durch Acylierung von auf Kieselgel immobilisiertem Glycerin **64** mit Laurinsäurevinylester **69**.^[96, 99]

Zur Herstellung von 1(3)-*sn*-Monoglyceriden **68** nach dieser Methode mussten diese selektiv aus dem Reaktionsgemisch abgetrennt werden, da sie von den verwendeten Lipasen sehr leicht zu den 1,3-*sn*-Diglyceriden verestert werden. Dies gelang unter Nutzung der geringen Löslichkeit der Monoglyceride **68** bei tiefen Temperaturen in geeigneten Solvensgemischen.^[97, 98] Die Methode erwies sich auch als vorzüglich geeignet für die Umsetzung nativer Fette und Öle aus Palmkern, Kokos, Soja, Sonnenblume und Raps in die entsprechenden Monoglyceridgemische. Derartige Produkte höchster Qualität sind besonders gut geeignet für Anwendungen im Kosmetik- und Pharmabereich.

4.1.2. Lipase-katalysierte Synthesen von Zuckerestern

Alkylpolyglucoside (APGs) und (polyethoxylierte) Sorbitanester (Span, Tween) – beides direkt oder indirekt Derivate der Glucose – werden bereits in beträchtlichem Umfang als nichtionische Tenside bzw. Emulgatoren eingesetzt.^[5] Die Lipase-katalysierte Synthese von Zuckerestern wurde kürzlich zusammenfassend dargestellt.^[92]

Es ist besonders bemerkenswert, dass in aprotischen Lösungsmitteln wie Tetrahydrofuran, Dioxan, Monoglyme oder Diglyme Monosaccharide wie D-Glucose, D-Galactose, D-Mannose und D-Fructose in Gegenwart der Lipase aus *Candida antarctica* B (Novozym SP 435) regioselektiv und mit hohen Ausbeuten in die entsprechenden 6-*O*-Acylderivate überführt werden. So wurde beispielsweise aus Glucose **71** mit Laurinsäure **49d** direkt die 6-*O*-Lauroyl-D-glucose **72** erhalten (Schema 28). Das Verfahren ließ sich auch auf die Veresterung von L-Ascorbinsäure und sogar – allerdings eingeschränkt – auf Saccharose anwenden. Als Acyldonoren wurden Fettsäuren wie Capryl-, Caprin-, Laurin-, Myristin-, Palmitin-, Stearin-, Öl-, 12-Hydroxystearin- und Erucasäure eingesetzt.^[101]



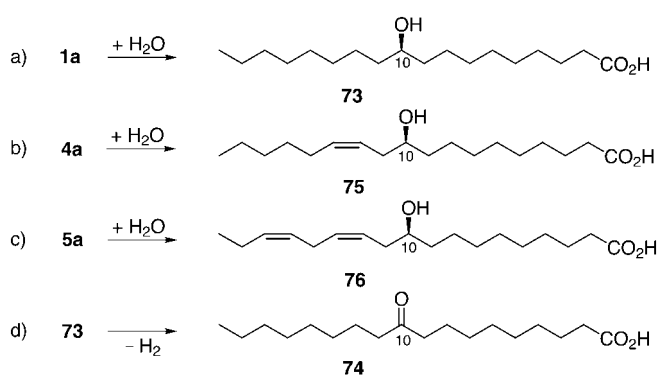
Schema 28. Lipase-katalysierte selektive Veresterung von Glucose **71** mit Laurinsäure **49d** zu 6-*O*-Lauroyl-D-glucose **72** in aprotischen Lösungsmitteln.^[101]

4.2. Mikrobielle Transformationen

4.2.1. Mikrobielle Hydratisierungen ungesättigter Fettsäuren

Die chemische Addition von Wasser an ungesättigte Fettstoffe wie **1a** verläuft weder regio- noch stereoselektiv.^[102] Häufig sowohl regio- als auch stereoselektiv verläuft dagegen die mikrobielle Hydratisierung.

Über die mikrobielle Wasseranlagerung an eine ungesättigte Fettsäure berichteten erstmals 1962 Wallen et al.^[103] Die Autoren beobachteten, dass eine *Pseudomonas*-Art, isoliert aus fetthaltigem Material, Ölsäure **1a** in 14% Ausbeute zu (*R*)-10-Hydroxystearinsäure **73** hydratisiert (Schema 29a).



Schema 29. Mikrobielle enantioselektive und regioselektive Addition von Wasser an a) Ölsäure **1a**,^[103–106] b) Linolsäure **4a**^[108] und c) Linolensäure **5a**^[108] zu den 10-Hydroxyfettsäuren **73**, **75** und **76**. d) **73** kann enzymatisch zu 10-Oxooctadecansäure **74** dehydriert werden.^[107]

Auch im Falle der bakteriellen Gattungen *Nocardia*, *Rhodococcus*, *Corynebacterium* und *Micrococcus* wurde diese Wasseranlagerung beobachtet.^[104–106] Mit der Hefe *Saccharomyces cerevisiae* wurde **73** in 45% Ausbeute erhalten.^[107] Allerdings kann das Hydratisierungsprodukt **73** durch enzymatische Dehydrierung in einer Folgereaktion zur 10-Oxooctadecansäure **74** oxidiert werden (Schema 29d).^[107]

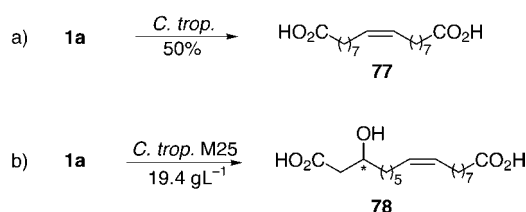
Mit *Lactobacillus plantarum* und *Nocardia cholesteroiolicum* wurde aus Linolsäure **4a** (*Z*)-10-Hydroxyoctadec-12-ensäure **75** (Ausbeute: 71%) gebildet (Schema 29b).^[108] α -Linolensäure **5a** wurde in 77% Ausbeute zu (12*Z*,15*Z*)-10-Hydroxyoctadeca-12,15-diensäure **76** umgesetzt (Schema 29c).^[108] Die Hydratase war nicht aktiv gegenüber *trans*-ungesättigten Fettsäuren wie Elaidinsäure **E-1a** und ungesättigten Fettsäuren ohne Doppelbindung in 9-Position wie Erucasäure **3a**. Die enzymatische Hydratationsaktivität fiel um so geringer aus, je mehr Doppelbindungen im Substrat vorhanden waren. Da Hydratasen aus einer Vielzahl von Bakterien und Hefen (9*Z*)-Fettsäuren in 10-Hydroxyfettsäuren umwandeln, kann vermutet werden, dass die C10-Spezifität universeller Natur ist.^[109]

Man erwartet in Zukunft, dass die Proteinstrukturaufklärung bei Algen, höheren Pflanzen und marinen Lebewesen Fortschritte macht und diese Enzyme in Mikroorganismen kloniert werden, sodass Biokatalysatoren in größeren Mengen als bisher für präparative Anwendungen zur Verfügung stehen.^[110]

4.2.2. Mikrobielle ω - und β -Oxidationen von Fettsäuren

Die zu Dicarbonsäuren führende mikrobielle ω -Oxidation von Fettsäuren ist von großem Interesse.^[4] Hier hat es in den letzten Jahren Fortschritte gegeben: Yi und Rehm^[111] konnten Ölsäure **1a** mit Hefen der Gattung *Candida tropicalis* in die entsprechenden ungesättigten Dicarbonsäuren **77** umwandeln (Schema 30a).

Durch alkalische Fermentationsführung gelang es, die Ausbeuten an **77** von 23 auf 50% zu steigern und auch feste Fettsäuren wie Palmitinsäure, Stearinsäure und Erucasäure zu den entsprechenden Disäuren zu oxidieren.^[112a] Bei einer Batch-Fermentation mit 70 g L⁻¹ Palmitinsäure konnte Hexadecandisäure in einer Ausbeute von 36% und einer



Schema 30. Mikrobielle ω -Oxidation von Ölsäure **1a** zu a) (Z)-9-Octadecendisäure **77** mit *Candida tropicalis*^[111, 112a] und b) (Z)-3-Hydroxy-9-octadecendisäure **78** mit der Hefemutante *Candida tropicalis* M25.^[114]

Konzentration von 28.1 gL^{-1} gewonnen werden. Dieses Ergebnis gehört, soweit bekannt,^[113] zu den höchsten Werten, die mit einem gentechnisch unveränderten Mikroorganismus erzielt wurden. Dadurch unterliegt diese Reaktion nicht dem Gentechnikgesetz und ist deshalb aus industrieller Sicht besonders interessant. Mit Linolsäure **4a** und Ricinolsäure **6a** sind die Ausbeuten deutlich geringer.^[112b]

Mit der Hefemutante *Candida tropicalis* DSM 3152 ließ sich Ölsäure **1a** mit 76 % *ee* zur ungesättigten Hydroxydisäure **78** umsetzen. Durch NMG-Mutagenese (NMG = *N*-Methyl-*N*-nitro-*N*-nitrosoguanidin) wurde die Produktivität dieses Stammes verbessert und mit der Mutante *Candida tropicalis* M25 aus Ölsäure in einer Fed-Batch-Fermentation 19.4 gL^{-1} **78** erhalten (Schema 30b).^[114] Mit 30 mL^{-1} Linolsäure **4a** konnten unter ähnlichen Bedingungen 6.1 gL^{-1} Hydroxydiendisäuren gewonnen werden.^[115]

4.3. Mikrobielle Umwandlung von Ölen/Fetten und Glucose zu Glycolipiden

In Übersichtsartikeln von Kosaric,^[116] Ratledge,^[117] Desai und Banat,^[118] Banat^[119] sowie Lang und Wagner^[120] ist die breite strukturelle Palette der Biotenside mit ihren vielfältigen Anwendungen und Biosynthesewegen ausführlich dokumentiert. Besonders interessant wegen der bemerkenswert hohen Ausbeute ist die Sophorolipidbildung mit *Candida bombicola*, wobei Glucose und Rapsöl als Substrat dienen.^[121, 122] Des Weiteren wurden native Öle, Fettsäuremethylester und freie Fettsäuren in Gegenwart von *Usilago maydis* DSM 4500 zu Glycolipiden umgesetzt. Gegenüber nativen Ölen erbrachte der Einsatz freier Fettsäuren eine Steigerung der Ausbeute auf 30 gL^{-1} Glycolipid mit einem Anteil von 90 Gew.-% an Mannosylerythritolipiden.^[123]

5. Verbesserung der nativen Öle und Fette durch Pflanzenzüchtung

In den letzten Jahren hat das Wissen über die biochemischen Zusammenhänge des pflanzlichen Stoffwechsels – insbesondere über die Biosynthese der vom Menschen genutzten Speicherfette – enorm zugenommen.^[124] Die Züchtung hat stets vorrangig eine Verbesserung der Ertragsleistung der Nutzpflanzen verfolgt. Dabei ist die Ölpflanzenzüchtung aber auch bestrebt, dem Bedarf der Industrie nach „maßgeschneiderten“ Ölen und Fetten zu entsprechen. Zukünftige Wachstumspotentiale in diesem Bereich sind vor

allem dort zu erwarten, wo bereits durch die natürliche Struktureigenschaft oder die Reinheit des pflanzlichen Rohstoffes eine nutzbare Syntheseverleistung für den chemischen Verarbeitungsprozess gegeben ist. Möglichkeiten einer genetischen Veränderung von Ölpflanzen sind vor allem im Hinblick auf die Zusammensetzung der Speicherlipide gegeben, da hier bereits die Natur in Bezug auf Kettenlänge, Zahl und Lage von Doppelbindungen sowie funktionellen Gruppen eine enorme Vielfalt an verschiedenen Fettsäuren hervorgebracht hat. Selbst drastische Variationen im Fettsäuremuster der Samen werden von den Pflanzen und den aus der Saat heranwachsenden Keimlingen toleriert.

5.1. Gentechnik als Erweiterung des methodischen Repertoires der Pflanzenzüchtung

Etwa zeitgleich mit der steigenden Nachfrage nach nachwachsenden Rohstoffen haben insbesondere moderne Biotechniken einschließlich der Gentechnologie zur Erweiterung des methodischen Repertoires der Pflanzenzüchtung beigetragen, sodass sich der Zuchtgang heute noch effizienter und zielgerichteter gestalten lässt. Während sich die klassische Pflanzenzüchtung in Kombination mit der experimentellen Mutagenese („Mutationszüchtung“) sowie modernen Zell- und Gewebekulturmethode in vitro bei wichtigen Ölpflanzen, z.B. Sojabohne, Raps, Sonnenblume oder Öllein,^[125, 126] vielfach als erfolgreich erwiesen hat, bietet die Gentechnik darüber hinaus einen universellen Ansatz zur Veränderung der Menge und Zusammensetzung des gespeicherten Öls.^[127, 128]

Diese Entwicklung wurde erst in jüngerer Zeit durch eine Reihe von methodischen Verbesserungen ermöglicht. Zu nennen sind hier die Weiterentwicklung sowohl von vektorbürtigen Transformationssystemen, basierend auf der natürlichen Infektion durch das Bodenbakterium *Agrobacterium tumefaciens* (oder auch durch *A. rhizogenes*), als auch einer Reihe von vektorfreien Transformationssystemen, bei denen z.B. die artfremde rekombinante Erbsubstanz in wandlose Zellen (Protoplasten) oder durch Beschuss von regenerationsfähigen Meristemen mit DNA-beladenen Partikeln integriert wird.^[129, 130] In der Regel werden bei molekularbiologischen Experimenten als Expressionssignale notwendige regulatorische „Genschalter“ (so genannte Promotoren) mit strukturellen Teilen von zuvor isolierten Genen (so genannte Strukturgene) zu einer neuen Funktionseinheit, einem chimären Gen, zusammengesetzt, d.h. „kloniert“. ^[131] Darüber hinaus werden nicht selten zusätzlich Selektionsmarker, d.h. Gene, eingeführt, die eine Antibiotika- oder Herbizidresistenz vermitteln und daher eine Selektion von erfolgreich transformierten Pflanzenzellen erlauben.^[129]

Eine weit verbreitete Methode zur gentechnischen Veränderung einer Nutzpflanze, die insbesondere zur Verhinderung der unerwünschten Expression arteigener Gene eingesetzt wird, ist der „Antisense-RNA“-Ansatz. Der Wirkungsmechanismus wird allerdings in transgenen Pflanzen noch nicht vollständig verstanden. Die einfachste Erklärung ist, dass die arteigene Sense-RNA an die übertragene komplementäre Antisense-RNA bindet und so die Translation

und somit die Biosynthese des zu inhibierenden Proteins blockiert. Das entstehende doppelsträngige RNA-Hybridmolekül scheint sehr schnell durch nucleinsäureverdauende Enzyme (so genannte Nucleasen, in diesem Fall RNase H) abgebaut zu werden.^[132] Das Ausmaß der erzielten Genexpression hängt dabei nicht unwesentlich von dem verwendeten, transkriptional wirkenden Promotor ab. So wird bei der Erstellung der zu übertragenden Genkonstrukte noch sehr oft auf bakterielle oder virale Promotoren zurückgegriffen. Es wird aber mittlerweile auch eine Reihe von samenspezifisch wirkenden Promotorsequenzen, wie die des Napin-, Phaseolin- oder Oleosin-Gens, erfolgreich eingesetzt.^[131, 133] Da für die genetische Transformation derzeit noch fast ausschließlich auf Zellkulturen oder embryogenes Gewebe in vitro zurückgegriffen wird, waren zunächst weitere Verbesserungen auch bei der Regeneration zu intakten transgenen Pflanzen notwendig und sind auch bereits erzielt worden.^[129]

5.2. Neue Ölqualitäten durch Öl-Design bei vorhandenen landwirtschaftlichen Sorten

Neue genetische Variation ist die Grundvoraussetzung jedes züchterischen Handelns, d.h., ein Selektionserfolg ist nur dann gegeben, wenn das zu verändernde Merkmal im Ausgangsmaterial variiert. Bedingt durch ihre intensive züchterische Bearbeitung ist in landwirtschaftlich genutzten Kulturpflanzen die Variabilität für neue gewünschte Qualitätseigenschaften sehr eingeschränkt oder praktisch überhaupt nicht mehr gegeben. In Wildpflanzen hingegen liegt ein sehr reichhaltiges Reservoir an genetischen Ressourcen für industriell interessante Fettrohstoffe in hoher Reinheit vor. Beispielhaft zu nennen sind hier: mittelkettige oder sehr langkettige Fettsäuren sowie solche Fettsäuren mit ungewöhnlicher Funktionalität, die auf der Zahl und Lage von Doppelbindungen oder dem Vorhandensein von Hydroxy-, Oxo- bzw. Epoxygruppen beruhen.^[134, 135] Es hat nicht an pflanzenzüchterischen Bemühungen gefehlt, solche Wildpflanzen, z.B. Arten der Gattungen *Cuphea*, *Calendula*, *Euphorbia*, *Vernonia*, *Lesquerella*, *Crambe*, *Limnanthes*, zu domestizieren, d.h. zu anbau- und leistungsfähigen Nutzpflanzen zu entwickeln.^[136]

Sofern die genetische Distanz zwischen Wild- und Kulturart nicht allzu groß ist, besteht grundsätzlich die Möglichkeit, mit herkömmlichen Methoden der Art- und Gattungskreuzung oder unterstützt durch Biotechniken (z.B. „Embryo rescue“) die gewünschte qualitätsverbessernde Eigenschaft in die Kulturform zu übertragen. Solche Zuchtprogramme sind aber mitunter sehr langwierig, da viele unerwünschte Eigenschaften des „Genspenders“, z.B. die geringe Ertragsfähigkeit, späte Reife oder geringe Platzfestigkeit der Früchte einer Wildpflanze, ebenfalls übertragen werden. Diese ungünstigen Eigenschaften müssen dann durch mehrmaliges Rückkreuzen und anschließende Selektion mit viel Aufwand (manchmal sogar ohne Erfolg) wieder eliminiert werden. Dies soll verdeutlichen, dass ein „Umzüchten“ einer ertragreichen, agronomisch adaptierten Pflanzensorte mit herkömmlichen Methoden zwar möglich, aber oftmals schwierig ist.

Die Gentechnik ist nun geeignet, den Züchtungsfortschritt zu beschleunigen oder in vielen Fällen überhaupt zu ermöglichen. Konkret heißt dies, dass es auf diesem Wege prinzipiell möglich ist, eine spezifische, erwünschte neue Qualitätseigenschaft sogar aus verwandtschaftlich sehr weit entfernten Pflanzenarten, Mikroorganismen (z.B. Bakterien oder Hefepilze) oder sogar Säugetieren einzulagern, ohne dabei den genetischen Hintergrund oder die Ertragsfähigkeit der Leistungssorte zu verschlechtern. Es liegen daher heute bereits zahlreiche Gene (cDNA-Klone) für die Biosynthese von ungewöhnlichen Fettsäuren, z.B. Ricinol-, Petroselin-, Linolen-, Vernol- oder Crepeninsäure, kloniert und in Kulturpflanzen transformiert vor. Mit Hilfe dieses Materials wird es in Zukunft noch besser als bisher möglich sein, Genotypen (z.B. Sorten) für die Erzeugung oleochemischer Rohstoffe zu optimieren.^[127, 137–139]

5.3. Übersicht über die durch Züchtung optimierten nachwachsenden Rohstoffe

Eine Reihe von weltweit bedeutenden Ölpflanzen kommt für die Erzeugung nachwachsender Rohstoffe, d.h. für die Gewinnung von Ölen und Fetten mit spezifischer Fettsäurezusammensetzung, in Frage. So weisen kommerziell genutzte Ölsaaten, wie Sojabohne (*Glycine max*), Raps (*Brassica napus*), Sonnenblume (*Helianthus annuus*), Erdnuss (*Arachis hypogaea*) oder Lein (*Linum usitatissimum*), bereits eine beträchtliche natürliche, aber auch durch gezielte Züchtung geschaffene Variation im Fettsäuremuster auf (Tabelle 1).^[126, 140–143] Bezüglich der „Non-Food“-Verwendung können insbesondere gentechnische Ansätze zur Erweiterung der Rohstoffpalette der Oleochemie beitragen, indem der Gehalt einzelner Fettsäuren weiter maximiert oder durch das Einbringen einer neuen Fettsäure eine drastische Veränderung der Ölqualität erreicht wird. In diesem Zusammenhang werden im Folgenden Varianten wichtiger Ölsaaten, die von der Pflanzenzüchtung unter Zuhilfenahme verschiedener Methoden bereitgestellt wurden, anhand ausgewählter Beispiele erläutert (Tabelle 2).

5.3.1. Sojabohne

Aufgrund intensiver Qualitätszüchtung ist das Fettsäuremuster der Sojabohne heute beachtlich variabel. Neben den durch Mutagenese erzeugten Niedriglinolensäure-Formen, die wesentlich zur Verbesserung der oxidativen Stabilität (in erster Linie im Nahrungsölbereich) beitragen sollen, sind hier weitere Varianten mit veränderten Anteilen an einzelnen gesättigten Fettsäuren zu nennen (siehe Tabelle 2).^[144–146] Auf gentechnischem Wege wurden „High-oleic(HO)“-Sojabohnen erstellt. Für 1998 wurde in den USA mit einem Anbau von ca. 40000 ha dieser Varietät gerechnet.^[138, 147]

5.3.2. Raps

Die intensiv laufenden Arbeiten zur gezielten Veränderung der Ölqualität bei Kulturpflanzen konzentrieren sich derzeit

Tabelle 1. Kommerziell verfügbare Fettsäure-Varianten bei wichtigen Ölsaaten.

Art	Variante	Herkunft	12:0 ^[a]	14:0	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	20:1	22:1	Rest	Lit.
Sojabohne	konventioneller Typ		–	–	11	4	23	54	8	–	–	–	[126]
Raps	Eruca-Raps	herkömmlicher Raps	–	–	3	1	11	12	9	8	52	4	[126]
	0 bzw. 00 (Canola)	natürliche Mutation	–	–	4	2	60	21	10	1	1	1	[126]
	Niedrig-Linolen	Mutagenese	–	–	4	2	61	28	3	1	–	1	[140]
	Laurin-Raps	Gentechnik	37	4	3	1	33	12	7	–	–	3	[141]
Sonnenblume	konventioneller Typ		–	–	7	5	19	68	–	–	–	1	[126]
	Hoch-Ölsäure (HO)	Mutagenese	–	–	3	4	83	10	–	–	–	–	[126]
Erdnuss	konventioneller Typ		–	–	12	4	47	31	–	–	–	6	[142]
	Hoch-Ölsäure (HO)	natürliche Mutation	–	–	6	2	81	3	–	–	–	8	[142]
Lein	konventioneller Typ		–	–	6	4	18	14	58	–	–	–	[126]
	Niedrig-Linolen (Linola)	Mutagenese	–	–	6	3	15	73	3	–	–	–	[143]

[a] 12:0 = Laurinsäure, 14:0 = Myristinsäure, 16:0 = Palmitinsäure, 18:0 = Stearinsäure **60**, 18:1 = Ölsäure **1a**, 18:2 = Linolsäure **4a**, 18:3 = Linolensäure **5a**, 20:1 = Eicosensäure, 22:1 = Erucasäure **3a**.

Tabelle 2. Extreme Fettsäure-Varianten im Zuchtmaterial von wichtigen Ölsaaten.

Art	Variante	Methode	14:0 ^[a]	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	20:1	22:1	Rest	Lit.
Sojabohne	Niedrig-Linolen	Mutagenese	–	10.5	4.6	23.2	59.6	2.0	–	–	–	[144]
	Niedrig-Palmitin	Mutagenese	–	3.7	3.7	24.1	58.9	8.9	–	–	0.7	[145]
	Hoch-Palmitin	Mutagenese	–	17.3	2.9	16.8	54.5	8.3	–	–	0.2	[146]
	Hoch-Stearin	Mutagenese	–	8.4	28.1	19.8	35.5	6.6	–	–	1.6	[146]
	Hoch-Ölsäure (HO)	Gentechnik	–	6.6	3.6	84.9	0.6	1.9	–	–	2.4	[147]
Raps	Hoch-Myristin	Gentechnik	17.7	23.1	2.4	33.7	14.8	3.8	–	–	4.5	[155]
	Hoch-Stearin	Gentechnik	–	4	29	15	19	22	1	–	10 ^[b]	[153]
	Hoch-Ölsäure (HO)	Mutagenese	–	4.2	2.2	80.2	4.5	5.2	1.8	–	1.9	[151]
	Hoch-Ölsäure (HO)	Gentechnik	–	4.3	1.4	84.1	5.2	2.9	0.9	–	1.2	[133]
	Niedrig-Linolen	Gentechnik	–	3.8	1.5	68.5	22.1	1.2	1.1	–	1.8	[133]
Sonnenblume	Hoch-Palmitin	Mutagenese	–	25.2	3.5	11.4	55.1	–	–	–	4.8 ^[c]	[158]
	Hoch-Stearin	Mutagenese	–	5.1	26.0	13.8	55.1	–	–	–	–	[158]
	Hoch-Ölsäure kombiniert mit niedrig-gesättigten Fettsäuren	Mutagenese	–	3.2	2.4	92.1	2.3	–	–	–	–	[144]
Lein	Hoch-Palmitin	Mutagenese	–	27.8	1.8	17.5	6.0	42.0	–	–	4.8 ^[d]	[164]

[a] 14:0 = Myristinsäure, 16:0 = Palmitinsäure, 18:0 = Stearinsäure **60**, 18:1 = Ölsäure **1a**, 18:2 = Linolsäure **4a**, 18:3 = Linolensäure **5a**, 20:1 = Eicosensäure, 22:1 = Erucasäure **3a**. [b] Inkl. 6 % Arachinsäure (20:0), 2 % Behensäure (22:0), 1 % Lignocerinsäure (24:0). [c] Inkl. 3.7 % Palmitoleinsäure (16:1). [d] Palmitoleinsäure (16:1).

aus verschiedenen Gründen auf den Raps (*B. napus*). Da bei dieser Spezies sowohl Sommer- als auch Winterformen vorhanden sind, kann sie als Ölpflanze an klimatisch unterschiedlichsten Standorten der Welt angebaut werden. Ein weiterer Vorteil des Rapses gegenüber anderen Kulturarten ist seine Zugänglichkeit für biotechnologische Methoden und insbesondere seine relativ einfache Transformier- und Regenerierbarkeit.^[141, 148]

Von Natur aus ist das Rapsöl reich an Erucasäure **3a**, einem begehrten Rohstoff für vielfältige Anwendungsmöglichkeiten im Non-Food-Bereich.^[149, 150] Im Hinblick auf die Verbesserung der Nahrungsölqualität wurden mit klassischen Züchtungsmethoden erucasäurefreie Formen entwickelt, so genannte Null- und Doppelnull- bzw. Canola-Typen, die mit ca. 60 % einen erhöhten Gehalt an Ölsäure **1a** aufweisen. Die Erzeugung von linolensäurearmen (<3 % **5a**) oder hoch ölsäurehaltigen (>80 % **1a**) Rapsformen ist sowohl auf der Basis induzierter Mutationen^[151, 152] als auch gentechnisch durch Hemmung der inhärenten 12- bzw. 15-Desaturase-Gene^[133] erzielt worden (Tabelle 2). Durch Antisense-Hemmung des Desaturationsschrittes von der Stearin- zur Ölsäure wurde Rübsen (*Brassica rapa*, ein naher Verwandter des Rapses) mit bis zu 40 % Stearinsäure **60** im Samenöl erzeugt und bereits unter Freilandbedingungen geprüft.^[153] In Erfolg versprechenden Ansätzen sind bereits spezielle Fettsäure-

varianten auf gentechnischem Wege entwickelt worden, die bislang im Raps noch nicht realisiert werden konnten. So ist es gelungen, die Synthese von gesättigten kurz- und mittelkettigen Fettsäuren (mit Kettenlängen von 8 bis 14 Kohlenstoffatomen), die für die Oleochemie besonders interessant sind und derzeit nur aus importierten tropischen Fetten (Kokos, Palmkern) gewonnen werden, im Raps zu etablieren.^[154, 155] Am weitesten ist die Entwicklung von „Laurin-Raps“ mit ca. 40–50 % Laurinsäure der Firma Calgene (Kalifornien, USA) fortgeschritten, der auf die Übertragung eines Thioesterase-Gens aus dem Kalifornischen Lorbeer (*Umbellularia californica*) zurückgeht und bereits kommerziell angebaut wird.^[141, 154]

Bezüglich der industriellen Verwendung besteht eine stetige Nachfrage nach Eruca-Rapsöl. Hier ist die Züchtung bestrebt, den Anteil dieser sehr langkettigen Fettsäure merklich über das derzeitige Maximum von 55–60 % **3a** zu steigern. Hierbei ist bereits seit langem bekannt, dass wegen der Nichtbesetzung der mittleren der drei Triglycerid-Positionen mit Erucasäure **3a** ein Anteil von theoretisch 67 % nicht überschritten werden kann,^[149] doch sind in jüngster Zeit auch hier Teilerfolge erzielt worden, indem transgene Rapsformen mit variierenden Gehalten an Trierucin (Trierucylglycerol) im Samenöl durch Übertragung der Gene für die *sn*-2-Acyltransferase (Lysophosphatidsäure-Acyltransferase,

LPAAT) aus verschiedenen *Limnanthes*-Arten (Sumpfbloemengewächse) und durch Hemmung der rapeseigenen LPAAT entwickelt werden konnten.^[141, 156]

5.3.3. Sonnenblume

Bei der Sonnenblume sind neben den herkömmlichen Formen mit einem hohen Anteil an Linolsäure **4a** schon vor längerer Zeit durch Mutagenese HO-Typen experimentell erstellt worden.^[126, 157] Des Weiteren sind durch mutagene Behandlung Formen mit erhöhten Anteilen an gesättigten Fettsäuren erzeugt worden, die technologische Vorzüge bei der Margarineherstellung erlangen könnten (siehe Tabelle 2).^[158] Im Hinblick auf die industrielle Verwendung des HO-Sonnenblumenöls sollte der Anteil der gesättigten Fettsäuren jedoch möglichst gering sein. Hier konnte der Gehalt der Stearinsäure **60**, die den Stock- und Trübungspunkt des Öls negativ beeinflusst, züchterisch bereits bis auf 1.5 % reduziert werden. Mit den daraus entwickelten, aktuellen Sonnenblumen-Linien oder Hybriden können unter günstigen Klima- und Anbaubedingungen **1a**-Anteile von stabil 90 % bei gleichzeitig reduziertem Gehalt an Stearinsäure **60** im Öl erreicht werden.^[144] Aus ökonomischen Gründen werden für die Verwendung im Non-Food-Bereich in Deutschland im Rahmen eines Kontraktanbaus mindestens 83 % Ölsäure **1a** in der Konsumware verlangt, um weitere Reinigungsschritte entbehrlich zu machen und damit die relative Vorzüglichkeit gegenüber Ölsäure **1a** aus dem konkurrierenden Rohstoff Rindertalg zu verbessern.^[159]

5.3.4. Erdnuss

Bei der Erdnuss wurde im vorhandenen Sortiment ebenfalls eine HO-Mutante (die Zuchtlinie F435 der University of Florida) gefunden, die verwendet wurde, um Sorten zu züchten, die ein Öl mit hoher oxidativer Stabilität liefern.^[142, 160]

5.3.5. Öllein

Betrachtet man die Verwendungsmöglichkeiten des Leinöls im Non-Food-Bereich, so ist in der Hauptsache die Herstellung von Farben, Lacken und Linoleum zu nennen.^[135] Im oleochemischen Bereich hingegen bedingt die hohe Reaktivität der Polyenstrukturen der Leinfettsäuren eine ausgeprägte Autoxidationsempfindlichkeit von Produkten auf Leinölbasis sowie komplexe Reaktionsabläufe, die zu wenig definierten Produkten führen.^[161] Von züchterischer Seite bemüht man sich daher, die Variabilität des Leinöls hinsichtlich seiner Fettsäure- und Triglyceridzusammensetzung zu verbessern, um somit neue spezifische Ölqualitäten bereitstellen zu können.^[162] So konnte auch hier der klassische Ansatz der künstlichen Mutationsauslösung genutzt werden, um neue Leinformen mit einem Anteil an Linolensäure **5a** von weniger als 5 % (so genannte Linola-Qualität)^[143, 163] oder solche mit erhöhtem Palmitinsäure-Gehalt im Öl^[164] zu züchten.

5.4. Schlussbetrachtung zum Einsatz der Gentechnik

Aus den vorangehenden Darstellungen wird deutlich, dass die Gentechnik ein zur Schaffung neuer genetischer Variation sehr gut geeignetes züchterisches Instrument ist. Dem Züchter wird es ermöglicht, völlig neue Stoffqualitäten in Kulturpflanzenarten wesentlich gezielter einzubringen, ohne im Idealfall die Leistungseigenschaften des betreffenden Genotyps zu beeinträchtigen. Aufgrund einer mangelnden Akzeptanz bestehen bei Teilen der Endverbraucher noch gewisse Hemmnisse bezüglich der Umsetzung und Nutzung der Gentechnik; dies gilt insbesondere für den Nahrungs- und Futtermittelbereich („Novel Food“, „Novel Feed“). Da das „neuartige“ Produkt aber nicht direkt in die Nahrungskette des Menschen gelangt, ist es nicht verwunderlich, dass erste Anwendungen moderner bio- und gentechnologischer Methoden im technischen und chemischen Bereich angesiedelt sind und dazu dienen, im Hinblick auf Qualität und Ausbeute verbesserte pflanzliche Rohstoffe bereitzustellen. Auf diese Weise können nicht zuletzt auch wichtige, begrenzte Rohstoffressourcen für zukünftige Menschheitsgenerationen eingespart werden. Inwieweit diese „neuen“ Pflanzensorten praktische Relevanz erlangen werden, hängt ferner von verschiedenen ökonomischen Faktoren ab. So wird seitens der Industrie nur dann eine Nachfrage gegeben sein, wenn die neuen pflanzlichen Rohstoffe in ausreichender Menge zu wettbewerbsfähigen Preisen verfügbar sind, eine wirtschaftliche Gewinnung der relevanten Inhaltsstoffe erlauben und eine höhere Wertschätzung und Vorzüglichkeit gegenüber Alternativen – zum Beispiel auf petrochemischer Basis – aufweisen.

6. Ausblick

Nach Jahren des relativen Stillstands hat sich die Synthese neuartiger Fettstoffe auf der Basis von Ölen und Fetten schwungvoll entwickelt. Durch die Züchtung neuer Ölpflanzen – auch durch Einsatz der Gentechnologie – stehen nun zahlreiche Fettstoffe in genügender chemischer Reinheit zur Verfügung, die sie für die Synthese attraktiv machen. Die Anwendung moderner Synthesemethoden unter Einschluss enzymatischer und mikrobiologischer Methoden hat zu einer außerordentlichen Erweiterung der Möglichkeiten zur selektiven Synthese neuartiger Fettstoffe, die in der Alkylkette gezielt modifiziert sind, geführt. Sie sind nun auf ihre Wirkungen, Eigenschaften und Anwendungsmöglichkeiten zu untersuchen.

Zahlreiche Syntheseprobleme sind aber noch ungelöst. Chemiker, Biotechnologen und Pflanzenzüchter sind gleichermaßen herausgefordert, interdisziplinär die bedeutenden Fortschritte der letzten Jahre weiterzuentwickeln und damit zu gewährleisten, dass Öle und Fette als nachwachsende Rohstoffe in steigendem Maß in der chemischen Industrie eingesetzt werden können.

Wir danken den Bundesministerien für Bildung und Forschung sowie für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten für die finanzielle Unterstützung, ferner den Firmen Bayer AG,

Henkel KGaA, Harburger Fettchemie Brinckmann & Mergel GmbH, Hoechst, BASF AG, Condea Chemie GmbH, Süd-Chemie und Wella AG für ideelle und materielle Förderung unserer Arbeiten.

Eingegangen am 26. März 1999,
veränderte Fassung am 1. Oktober 1999 [A 336]

- [1] *Konzept Nachhaltigkeit, vom Leitbild zur Umsetzung*, Abschlussbericht der Enquete-Kommission „Schutz des Menschen und der Umwelt – Ziele und Rahmenbedingungen einer nachhaltig zukunftsverträglichen Entwicklung“ des 13. Deutschen Bundestages (Hrsg.: Deutscher Bundestag, Referat Öffentlichkeitsarbeit), Bonn, **1998**.
- [2] *Nachwachsende Rohstoffe, Perspektiven für die Chemie* (Hrsg.: M. Eggersdorfer, S. Warwel, G. Wulff), VCH, Weinheim, **1993**.
- [3] *Perspektiven nachwachsender Rohstoffe in der Chemie* (Hrsg.: H. Eierdanz), VCH, Weinheim, **1996**.
- [4] H. Baumann, M. Bühler, H. Fochem, F. Hirsinger, H. Zobebelein, J. Falbe, *Angew. Chem.* **1988**, *100*, 42–62; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1988**, *27*, 41–62.
- [5] W. von Rybinski, K. Hill, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 1394–1412; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 1328–1345.
- [6] K. E. Augustin, H. J. Schäfer, *Liebigs Ann. Chem.* **1991**, 1037–1040.
- [7] a) L. Hinkamp, Dissertation, Universität Münster, **1993**; b) H. J. Schäfer, M. aus dem Kahmen, L. Hinkamp, R. Maletz in *3. Symposium Nachwachsende Rohstoffe, Perspektiven für die Chemie* (Hrsg.: Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten), Landwirtschaftsverlag, Münster, **1994**, S. 217–234.
- [8] M. C. Kuo, C. T. Chou, *Ind. Eng. Chem. Res.* **1987**, *26*, 277–284.
- [9] W. Adam, J. Bialas, L. Hadjarapoglou, *Chem. Ber.* **1991**, *124*, 2377.
- [10] P. E. Sonnet, M. E. Lankin, G. P. Lankin, *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1995**, *72*, 199–204.
- [11] M. S. F. Lie Ken Jie, M. K. Pasha, *Lipids* **1998**, *33*, 633–637.
- [12] Y. Ishii, K. Yamawaki, T. Ura, H. Yamada, T. Yoshida, M. Ogawa, *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 3587–3593.
- [13] P. Bavaj, Dissertation, RWTH Aachen, **1995**.
- [14] W. A. Hermann, R. W. Fischer, M. U. Rauch, W. Scherer, *J. Mol. Catal.* **1994**, *86*, 245–266.
- [15] W. A. Herrmann, R. W. Fischer, D. W. Marz, *Angew. Chem.* **1991**, *103*, 1706–1709; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, *30*, 1638–1641.
- [16] M. Gerle, Dissertation, RWTH Aachen, **1997**.
- [17] W. A. Herrmann, J. D. G. Correia, F. E. Kühn, G. R. J. Artus, C. C. Romao, *Chem. Eur. J.* **1996**, *2*, 168–173.
- [18] R. Landau, G. A. Sullivan, D. Brown, *CHEMTECH* **1979**, 602–607.
- [19] P. J. Martinez de la Cuesta, E. Martinez, L. M. Coteluero Minguez, *Grasas Aceites* **1985**, *36*, 181–185, zit. Lit.
- [20] A. Debal, G. Rafaralahitsimba, E. Ucciani, *Fat Sci. Technol.* **1993**, *95*, 236–239.
- [21] a) F. Björkling, S. E. Godtfredsen, O. Kirk, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1990**, 1302–1303; b) F. Björkling, H. Frykman, S. E. Godtfredsen, O. Kirk, *Tetrahedron* **1992**, *48*, 4587–92; c) O. Kirk, F. Björkling, T. Damhus, S. E. Godtfredsen, *Biocatalysis* **1994**, *11*, 65–77.
- [22] M. Rüschen gen. Klaas, S. Warwel, *J. Mol. Catal. A* **1997**, *117*, 311–319.
- [23] S. Warwel, M. Rüschen gen. Klaas, *J. Mol. Catal. B* **1995**, *1*, 29–35.
- [24] a) M. Rüschen gen. Klaas, S. Warwel, *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1996**, *73*, 1453–1457; b) M. Rüschen gen. Klaas, S. Warwel, *Ind. Crops Prod.* **1999**, *9*, 125–132.
- [25] J. V. Crivello, R. Narayan, *Chem. Mater.* **1992**, *4*, 692–699.
- [26] M. S. F. Lie Ken Jie, M. S. K. Syed-Rahmatullah, *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1992**, *69*, 359–362.
- [27] J. O. Metzger, S. Fürmeier, *Eur. J. Org. Chem.* **1999**, 661–664.
- [28] M. S. F. Lie Ken Jie, Y. F. Zheng, *Chem. Phys. Lipids* **1988**, *49*, 167–178.
- [29] B. Dahlke, S. Hellbardt, M. Paetow, W. H. Zech, *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1995**, *72*, 349–353.
- [30] „Stets geforscht ... Chemieforschung im Degussa-Forschungszentrum Wolfgang“; M. Dankowski, G. Goor, G. Prescher, Firmenschrift der Degussa AG, Band 2, Frankfurt, **1988**, S. 63.
- [31] T. M. Luong, H. Schrifmann, D. Swern, *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1967**, *44*, 316–320.
- [32] W. A. Herrmann, D. Marz, J. G. Kuchler, G. Weichselbaumer, R. W. Fischer, DE-A 3902357 A1, **1989** [*Chem. Abstr.* **1991**, *114*, 143714].
- [33] S. Warwel, M. Rüschen gen. Klaas, M. Sojka, *Chem. Commun.* **1991**, 1578–1579.
- [34] K. B. Sharpless, H. Kolb, M. S. van Nieuwenhze, *Chem. Rev.* **1994**, *94*, 2483–2547.
- [35] a) M. Plate, M. Overs, H. J. Schäfer, *Synthesis* **1998**, 1255–1258; b) S. Jacobi, L. Chi, M. Plate, M. Overs, H. J. Schäfer, H. Fuchs, *Thin Solid Films* **1998**, 327–329, 180–184.
- [36] T. Tachibana, T. Mori, K. Hori, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1980**, *53*, 1714–1719.
- [37] G. Fayter in *Perspektiven nachwachsender Rohstoffe in der Chemie* (Hrsg.: H. Eierdanz), VCH, Weinheim, **1996**, S. 107–118.
- [38] a) M. Rüschen gen. Klaas, P. Bavaj, S. Warwel, *Fat Sci. Technol.* **1995**, *97*, 359–367; b) S. Warwel, M. Rüschen gen. Klaas, *Lipid Technol.* **1997**, 10–14.
- [39] S. Warwel, M. Sojka, M. Rüschen gen. Klaas, *Top. Curr. Chem.* **1993**, *164*, 79–89.
- [40] S. Warwel, M. Rüschen gen. Klaas, US-A 5321158, **1994** [*Chem. Abstr.* **1996**, *125*, 136578].
- [41] K. M. Draths, J. W. Frost in *Green Chemistry, Frontiers in Benign Chemical Syntheses and Processes* (Hrsg.: P. T. Anastas, T. C. Williamson), Oxford University Press, Oxford, **1998**, S. 150–165.
- [42] K. Augustin, Dissertation, Universität Münster, **1991**.
- [43] a) B. Wolff, Dissertation, RWTH Aachen, **1994**; b) S. Warwel, P. Bavaj, M. Rüschen gen. Klaas, B. Wolff in *Perspektiven nachwachsender Rohstoffe in der Chemie* (Hrsg.: H. Eierdanz), VCH, Weinheim, **1996**, S. 119–135.
- [44] W. A. Herrmann, W. Wagner, U. N. Flessner, U. Volkhardt, H. Komter, *Angew. Chem.* **1991**, *102*, 1704–1706; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, *30*, 1641–1643.
- [45] M. aus dem Kahmen, H. J. Schäfer, *Fett/Lipid* **1998**, *100*, 227–235.
- [46] M. aus dem Kahmen, Dissertation, Universität Münster, **1993**.
- [47] J. O. Metzger, K. F. Leisinger, *Fat Sci. Technol.* **1988**, *90*, 1–5.
- [48] J. O. Metzger, U. Biermann, *Fat Sci. Technol.* **1994**, *96*, 321–323.
- [49] E. M. Zobel, Dissertation, Universität Münster, **1997**.
- [50] C. Kalk, Diplomarbeit, Universität Münster, **1998**.
- [51] „C-Radikale“: *Methoden Org. Chem. (Houben-Weyl)*, 4. Aufl. 1952–, Vol. E19a, **1989**.
- [52] G. G. Melikyan, *Synthesis* **1993**, 833–850.
- [53] J. O. Metzger, U. Riedner, *Fat Sci. Technol.* **1989**, *91*, 18–23.
- [54] J. O. Metzger, U. Linker, *Fat Sci. Technol.* **1991**, *93*, 244–249.
- [55] U. Linker, Dissertation, Universität Oldenburg, **1991**.
- [56] J. O. Metzger, R. Mahler, *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 1012–1016; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 902–906.
- [57] J. O. Metzger, R. Mahler, G. Francke, *Liebigs Ann.* **1997**, 2303–2313.
- [58] R. Mahler, Dissertation, Universität Oldenburg, **1994**.
- [59] J. O. Metzger, R. Mahler, *Liebigs Ann. Chem.* **1993**, 203–205.
- [60] N. O. Brace, *J. Org. Chem.* **1962**, *27*, 4491–4498.
- [61] J. O. Metzger, U. Linker, *Liebigs Ann. Chem.* **1992**, 209–216.
- [62] J. O. Metzger, R. Mahler, A. Schmidt, *Liebigs Ann.* **1996**, 693–696.
- [63] J. Greiner, A. Manfredi, J. G. Riess, *New J. Chem.* **1989**, *13*, 247–254.
- [64] D. V. Kinsman in *Fatty Acids in Industry* (Hrsg.: R. W. Johnson, E. Fritz), Marcel Dekker, New York, **1989**, S. 233–276.
- [65] J. Hartmanns, K. Klenke, J. O. Metzger, *Chem. Ber.* **1986**, *119*, 488–499.
- [66] J. O. Metzger, F. Bangert, *Fat Sci. Technol.* **1995**, *97*, 7–9.
- [67] a) H. G. Floss, *Nat. Prod. Rep.* **1997**, *14*, 433–452; b) S. Handa, H. G. Floss, *Chem. Commun.* **1997**, 153–154.
- [68] a) U. Biermann, J. O. Metzger, *Fat Sci. Technol.* **1991**, *93*, 282–284; b) J. O. Metzger, U. Biermann, *Synthesis* **1992**, 463–465.
- [69] B. B. Snider, D. J. Rodini, T. C. Kirk, R. Cordova, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 555–563.
- [70] B. B. Snider, G. B. Phillips, *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 464–469.
- [71] E. Blée, *INFORM* **1995**, *6*, 852–861.
- [72] J. O. Metzger, U. Biermann in *Chemische Nutzung heimischer Pflanzenöle* (Hrsg.: Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe), Landwirtschaftsverlag, Münster, **1998**, S. 144–176, dort S. 145.
- [73] J. F. Mc Lellan, R. M. Mortier, S. T. Orszulik, R. M. Paton, *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1994**, *71*, 231–232.

- [74] J. O. Metzger, U. Biermann, *Liebigs Ann.* **1996**, 1851–1854.
- [75] J. O. Metzger, U. Biermann, *Bull. Soc. Chim. Belg.* **1994**, 103, 393–397.
- [76] a) U. Biermann, J. O. Metzger, *Fat Sci. Technol.* **1992**, 94, 329–332; b) J. O. Metzger, U. Biermann, *Liebigs Ann. Chem.* **1993**, 645–650.
- [77] J. O. Metzger, U. Biermann, *Fett/Lipid* **1998**, 100, 2–6.
- [78] a) R. Maletz, H. J. Schäfer, R. Quermann, *Fett/Lipid* **1996**, 98, 370–379; b) R. Maletz, Dissertation, Universität Münster, **1994**.
- [79] a) M. Zobel, Diplomarbeit, Universität Münster, **1994**; b) M. Zobel, Dissertation, Universität Münster, **1997**; c) M. Zobel, H. J. Schäfer in *5. Symposium Nachwachsende Rohstoffe* (Hrsg.: Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe), Landwirtschaftsverlag, Münster, **1997**, S. 186–190; d) H. J. Schäfer, M. Zobel in *Recent Developments in the Synthesis of Fatty Acid Derivatives* (Hrsg.: G. Knothe, J. T. P. Derksen), AOCS Press, Champaign, IL, **1999**, S. 59.
- [80] a) M. Plate, Dissertation, Universität Münster **1997**; b) M. Plate, H. J. Schäfer in *5. Symposium Nachwachsende Rohstoffe* (Hrsg.: Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe), Landwirtschaftsverlag Münster, **1997**, S. 195–198; c) M. Plate, H. J. Schäfer, M. aus dem Kahmen in *Nachwachsende Rohstoffe Bd. 12*, Chemische Nutzung heimischer Pflanzenöle, Landwirtschaftsverlag, Münster, **1998**, S. 50.
- [81] a) R. Quermann, R. Maletz, H. J. Schäfer, *Liebigs Ann. Chem.* **1993**, 1219–1223; b) R. Quermann, Dissertation, Universität Münster, **1991**.
- [82] a) H. J. Schäfer, *Top. Curr. Chem.* **1990**, 152, 91–151; b) D. Degner, *Top. Curr. Chem.* **1988**, 148, 1–95, dort S. 24.
- [83] A. Weiper-Idelmann, M. aus dem Kahmen, H. J. Schäfer, M. Gokeln, *Acta Chem. Scand.* **1998**, 52, 672–682.
- [84] H. J. Schäfer, A. Weiper, M. aus dem Kahmen, A. Matzeit in *Nachwachsende Rohstoffe* (Hrsg.: M. Eggersdorfer, S. Warwel, G. Wulff), VCH, Weinheim, **1993**, S. 97.
- [85] a) B. C. L. Weedon, *Adv. Org. Chem.* **1960**, 1, 1–60; b) H. J. Schäfer, *Chem. Phys. Lipids* **1979**, 24, 321–333.
- [86] a) A. Weiper, H. J. Schäfer, *Angew. Chem.* **1990**, 102, 228; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1990**, 29, 195–197; b) A. Matzeit, M. Harenbrock, H. J. Schäfer, *Liebigs Ann.* **1996**, 55–62.
- [87] a) J. A. Davies, P. L. Watson, J. F. Liebman, A. Greenberg, *Selective Hydrocarbon Activation, Principles and Progress*, VCH, Weinheim, **1990**; b) D. Mansuy, *Pure Appl. Chem.* **1990**, 62, 741–766; c) O. Reiser, *Angew. Chem.* **1994**, 106, 73–76; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, 33, 69–72; d) H. J. Schäfer in *Chemistry of Alkanes and Cycloalkanes* (Hrsg.: S. Patai, Z. Rapoport), Wiley, New York, **1992**, S. 781–808.
- [88] a) M. Bühler, J. Schindler, in *Biotechnology, Vol. 6a* (Hrsg.: J. Rehm, G. Reed), VCH, Weinheim, **1984**, S. 329–385; b) K. Kieslich, *Microbial transformations of non-steroid cyclic compounds*, Thieme, Stuttgart, **1976**.
- [89] L. Hinkamp, H. J. Schäfer, B. Wippich, H. Luftmann, *Liebigs Ann. Chem.* **1992**, 559–563.
- [90] N. C. Deno, W. E. Billups, R. Fishbein, C. Person, R. Whalen, J. Wyckoff, *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, 93, 438–440.
- [91] a) E. Cramer, H. J. Schäfer, *Fat Sci. Technol.* **1988**, 90, 351–357; b) J. R. L. Smith, R. O. C. Norman, A. G. Rowley, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1973**, 566–571; c) N. C. Deno, D. G. Pohl, *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, 96, 6680–6682.
- [92] R. D. Schmid, R. Verger, *Angew. Chem.* **1998**, 110, 1694–1720; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, 37, 1608–1633.
- [93] a) C. C. Akoh, *Biotechnol. Lett.* **1993**, 15, 949–954; b) S. Pecnik, Z. Knez, *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1992**, 62, 261–265; c) Y. F. Wang, J. J. Lalonde, M. Momongan, D. E. Bergbreiter, C. H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 110, 7200–7205; d) W. A. Szarek, A. Zamojeski, K. N. Tiwari, E. R. Ison, *Tetrahedron Lett.* **1986**, 27, 3827–3830; e) V. Partali, A. G. Melbye, T. Alvik, T. Anthonsen, *Tetrahedron: Asymmetry* **1992**, 3, 65–72.
- [94] a) O. Papendorf, B. Steffen, S. Lang, F. Wagner, *Chim. Oggi*, **1995**, (10), 17–20; b) B. Steffen, A. Ziemann, S. Lang, F. Wagner, *Biotechnol. Lett.* **1992**, 14, 773–778.
- [95] B. Steffen, S. Lang, D. Hamann, P. Schneider, H. K. Cammenga, F. Wagner, *Fat Sci. Technol.* **1995**, 97, 132–136.
- [96] M. Berger, M. P. Schneider, *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1992**, 69, 961–965.
- [97] M. Berger, K. Laumen, M. P. Schneider, *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1992**, 69, 955–960.
- [98] C. Waldinger, M. P. Schneider, *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1996**, 73, 1513–1519.
- [99] a) H. Berger, M. P. Schneider, *Biotechnol. Lett.* **1991**, 13, 333–338; b) P. Villeneuve, T. A. Foglia, *INFORM* **1997**, 8, 640–650.
- [100] M. Berger, M. P. Schneider, *Fat Sci. Technol.* **1993**, 95, 169–175.
- [101] a) B. Haase, G. Machmüller, M. P. Schneider in *Biokonversion nachwachsender Rohstoffe* (Hrsg.: Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe), Landwirtschaftsverlag, Münster, **1998**, S. 218–224; b) B. Haase, G. Machmüller, M. P. Schneider, DE-B 19 62 6943.1 vom 4. Juli **1996** [*Chem. Abstr.* **1998**, 128, 127145t].
- [102] T. Lucas, Dissertation, Universität Münster, **1991**.
- [103] L. L. Wallen, R. G. Benedict, R. W. Jackson, *Arch. Biochem. Biophys.* **1962**, 99, 249–253.
- [104] S. Koritala, L. Hosie, C. T. Hou, C. W. Hesseltine, M. O. Bagby, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **1989**, 32, 299–304.
- [105] C. W. Seo, Y. Yamada, N. Takada, H. Okada, *Agric. Biol. Chem.* **1981**, 45, 2025–2030.
- [106] W. Blank, H. Takayanagi, T. Kido, F. Meussdoerfer, N. Esaki, K. Soda, *Agric. Biol. Chem.* **1991**, 55, 2651–2652.
- [107] S. H. El-Sharkawy, W. Yang, L. Dostal, J. P. N. Rosazza, *Appl. Environ. Microbiol.* **1992**, 58, 2116–2122.
- [108] a) Y. Yamada, H. Uemura, H. Nakaya, K. Sakata, T. Takatori, M. Nagao, H. Iwase, K. Iwada, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1996**, 226, 391–395; b) S. Koritala, M. O. Bagby, *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1992**, 69, 575–578.
- [109] C. T. Hou in *Advances in Applied Microbiology, Vol. 41* (Hrsg.: S. L. Neidleman, A. I. Laskin), Academic Press, San Diego, **1995**, S. 1–23.
- [110] a) I. Gill, R. Valivety, *Trends Biotechnol.* **1997**, 15, 470–478; b) A. Nuñez, G. St. Armand, T. A. Foglia, G. J. Piazza, *Biotechnol. Appl. Biochem.* **1997**, 25, 75–80.
- [111] Z.-H. Yi, H.-J. Rehm, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **1988**, 30, 327–331.
- [112] a) D. Fabritius, Diplomarbeit, Universität Münster, **1993**; b) D. Fabritius, Dissertation, Universität Münster, **1996**.
- [113] a) J. Schindler, F. Meussdorfer, H. G. Bühler, *Forum-Biotechnol.* **1990**, 274–281; b) N. Uemura, A. Taoka, M. Takagi, *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1988**, 65, 148–152.
- [114] D. Fabritius, H. J. Schäfer, A. Steinbüchel, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **1996**, 45, 432–438.
- [115] D. Fabritius, H. J. Schäfer, A. Steinbüchel, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **1998**, 50, 573–578.
- [116] N. Kosaric in *Biotechnology, Vol. 6* (Hrsg.: H. J. Rehm, G. Reed, A. Pühler, P. Stadler), VCH, Weinheim, **1996**, S. 659–717.
- [117] C. Ratledge in *Biotechnology, Vol. 7* (Hrsg.: H. J. Rehm, G. Reed, A. Pühler, P. Stadler), VCH, Weinheim, **1997**, S. 133–197.
- [118] J. D. Desai, I. M. Banat, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **1997**, 61, 47–64.
- [119] I. M. Banat, *Acta Biotechnol.* **1995**, 15, 251–267.
- [120] S. Lang, F. Wagner, *Fat Sci. Technol.* **1995**, 97, 69–77.
- [121] A. Albrecht, U. Rau, F. Wagner, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **1996**, 46, 67–73.
- [122] a) A.-M. Davila, R. Marchal, J.-P. Vandecasteele, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **1992**, 38, 6–11; b) Q. H. Zhou, N. Kosaric, *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1995**, 72, 67–71; c) L. Fischer, A. Boger, S. Lang, C. Manzke, S.-H. Park, U. Rau, A. Schlotterbeck, F. Wagner in *Perspektiven nachwachsender Rohstoffe der Chemie* (Hrsg.: H. Eierdanz), VCH, Weinheim, **1996**, S. 250–254; d) H.-J. Daniel, M. Reuss, C. Syltsat, *Biotechnol. Lett.* **1998**, 20, 1153–1156; e) U. Rau, S. Hammen, R. Heckmann, V. Wray, S. Lang, *Ind. Crops Products* **1999**, im Druck.
- [123] S. Lang, U. Rau, D. Rasch, S. Spöckner, E. Vollbrecht in *Biokonversion nachwachsender Rohstoffe* (Hrsg.: Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe), Landwirtschaftsverlag, Münster, **1998**, S. 154–164.
- [124] a) J. B. Ohlrogge, J. Browse, *Plant Cell* **1995**, 7, 957–970; b) J. L. Harwood, *Biochim. Biophys. Acta* **1996**, 1301, 7–56; c) J. B. Ohlrogge, J. G. Jaworski, *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **1997**, 48, 109–136.
- [125] A. Thierfelder, W. Lühs, W. Friedt, *Ind. Crops Prod.* **1993**, 1, 261–271.
- [126] W. Lühs, W. Friedt in *Designer Oil Crops* (Hrsg.: D. J. Murphy), VCH, Weinheim, **1994**, S. 5–71.
- [127] D. J. Murphy, *Lipid Technol.* **1994**, 6(4), 84–91.

- [128] a) R. Töpfer, M. Martini, J. Schell, *Science* **1995**, 268, 681–686; b) W. Friedt, W. Lühs in *Perspektiven nachwachsender Rohstoffe in der Chemie* (Hrsg.: H. Eierdanz), VCH, Weinheim, **1996**, S. 11–20; c) G. J. Budziszewski, K. P. C. Croft, D. F. Hildebrand, *Lipids* **1996**, 31, 557–569; d) A. J. Kinney in *Genetic Engineering, Vol. 19* (Hrsg.: J. K. Setlow), Plenum, New York, **1997**, S. 149–166; e) M. Lassner, *Lipid Technol.* **1997**, 9(1), 5–9; f) W. Friedt, W. Lühs, *Biol. Unserer Zeit* **1999**, 29, 142–150.
- [129] a) M. De Block, *Euphytica* **1993**, 71, 1–14; b) H. J. Fisk, A. M. Dandekar, *Sci. Horti. (Amsterdam)* **1993**, 55, 5–36.
- [130] R. Luthra, Varsha, R. K. Dubey, A. K. Srivastava, S. Kumar, *Euphytica* **1997**, 95, 269–294.
- [131] a) J. C. Kridl, V. C. Knauf, G. A. Thompson in *Control of Plant Gene Expression* (Hrsg.: D. P. S. Verma), CRC, Boca Raton, FL, **1993**, S. 481–498; b) T. J. Guilfoyle in *Genetic Engineering, Vol. 19* (Hrsg.: J. K. Setlow), Plenum, New York, **1997**, S. 15–47.
- [132] a) J. Green, O. Pines, M. Inouye, *Annu. Rev. Biochem.* **1986**, 55, 569–597; b) G. M. Fader, A. J. Kinney, W. D. Hitz, *INFORM* **1995**, 6, 167–169; c) B. Lewin, *Genes*, 6. Aufl., Oxford University Press, Oxford, **1997**.
- [133] a) W. D. Hitz, C. J. Mauvis, K. G. Ripp, R. J. Reiter, Vol. 2, *Rapeseed Today and Tomorrow*, Dorset Press, Dorchester, **1995**, S. 470–472 (Proc. 9th Int. Rapeseed Congr. (GCIRC)); b) W. D. Hitz, N. S. Yadav, R. J. Reiter, C. J. Mauvis, A. J. Kinney in *Plant Lipid Metabolism* (Hrsg.: J.-C. Kader, P. Mazliak), Kluwer, Dordrecht, **1995**, S. 506–508.
- [134] a) T. P. Hilditch, P. N. Williams, *The Chemical Constitution of Natural Fats*, 3. Aufl., Chapman & Hall, London, **1964**; b) C. R. Smith, Jr. in *Progress in the Chemistry of Fats and other Lipids, Vol. 11, Part 1* (Hrsg.: R. T. Holman), Pergamon, Oxford, **1970**, S. 137–177; c) R. C. Badami, K. B. Patil, *Progr. Lipid Res.* **1981**, 19, 119–153; d) B. G. Muuse, F. P. Cupeus, J. T. P. Derksen, *Ind. Crops Prod.* **1992**, 1, 57–65; e) H. K. Mangold, *Fat Sci. Technol.* **1994**, 96, 23–27; f) K. Aitzetmüller in *Perspektiven nachwachsender Rohstoffe in der Chemie* (Hrsg.: H. Eierdanz), VCH, Weinheim, **1996**, S. 209–217; g) V. Spitzer, *Fett/Lipid* **1999**, 101, 2–19.
- [135] W. Lühs, W. Friedt in *Designer Oil Crops* (Hrsg.: D. J. Murphy), VCH, Weinheim, **1994**, S. 73–130.
- [136] a) F. Hirsinger in *Oil Crops of the World* (Hrsg.: G. Röbbelen, R. K. Downey, A. Ashri), McGraw-Hill, New York, **1989**, S. 518–532; b) *Progress in New Crops*, Proc. 3rd Natl. Symp. New Crops (Hrsg.: J. Janick), ASHS Press, Alexandria, VA, USA, **1996**; c) *Domestication, Production and Utilization of New Crops* (Hrsg.: J. Smartt, N. Haq), International Centre for Underutilized Crops, University Southampton, UK, **1997**.
- [137] a) E. B. Cahoon, J. B. Ohlrogge, *Plant Physiol.* **1994**, 104, 827–837; b) A. S. Reddy, T. L. Thomas, *Nat. Biotechnol.* **1996**, 14, 639–642; c) P. Broun, P. C. Somerville, *Plant Physiol.* **1997**, 113, 933–942.
- [138] A. J. Kinney, *Fett/Lipid* **1998**, 100, 173–176.
- [139] M. Lee, M. Lenman, A. Banas, M. Bafar, S. Singh, M. Schweizer, R. Nilsson, C. Liljenberg, A. Dahlqvist, P. O. Gummesson, S. Sjoedahl, A. Green, S. Stymne, *Science* **1998**, 280, 915–918.
- [140] R. Scarth, P. B. E. McVetty, S. R. Rimmer, *Can. J. Plant Sci.* **1997**, 77, 125–126.
- [141] W. Friedt, W. Lühs, *Fett/Lipid* **1998**, 100, 219–226.
- [142] J. B. Mugendi, C. A. Sims, D. W. Gorbet, S. F. O'Keefe, *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1998**, 75, 21–25.
- [143] J. C. P. Dribnenki, A. G. Green, G. N. Atlin, *Can. J. Plant Sci.* **1996**, 76, 329–331.
- [144] G. Cole, G. S. Coughlan, N. Frey, J. Hazebroek, C. Jennings, *Fett/Lipid* **1998**, 100, 177–181.
- [145] X. Ndzana, W. R. Fehr, G. A. Welke, E. G. Hammond, D. N. Duwick, S. R. Cianzio, *Crop Sci.* **1994**, 34, 646–649.
- [146] R. F. Wilson, *INFORM* **1993**, 4, 193–200.
- [147] a) E. P. Heppard, A. J. Kinney, K. L. Stecca, G. H. Miao, *Plant Physiol.* **1996**, 110, 311–319; b) A. J. Kinney, S. Knowlton in *Genetic Modification in the Food Industry* (Hrsg.: S. Roller, S. Harlander), Blackie, London, **1998**, S. 193–213.
- [148] a) D. J. Murphy, *Trends Biotechnol.* **1996**, 14, 206–213; b) G. B. Poulsen, *Plant Breed.* **1996**, 115, 209–225; c) B. Fitch Haumann, *INFORM* **1997**, 8, 804–811.
- [149] W. Lühs, W. Friedt, *Fat Sci. Technol.* **1994**, 96, 137–146.
- [150] a) N. O. V. Sonntag, *INFORM* **1991**, 2, 449–463; b) N. O. V. Sonntag in *Brassica Oilseeds – Production and Utilization* (Hrsg.: D. S. Kimber, D. I. McGregor), CAB International, Wallingford, **1995**, S. 339–352; c) K. Coupland, K. B. T. Hatton in *Synthesis in Lipid Chemistry* (Hrsg.: J. H. P. Tyman), The Royal Society of Chemistry, Cambridge, **1996**, S. 57–66.
- [151] D. L. Auld, M. K. Heikkinen, D. A. Erickson, J. L. Sernyk, J. E. Romero, *Crop Sci.* **1992**, 32, 657–662.
- [152] B. Rücker, G. Röbbelen in *Rapeseed Today and Tomorrow, Vol. 2*, Dorset Press, Dorchester, **1995**, S. 389–391 (Proc. 9th Int. Rapeseed Congr. (GCIRC)).
- [153] D. S. Knutzon, G. A. Thompson, S. E. Radke, W. B. Johnson, V. C. Knauf, J. C. Kridl, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1992**, 89, 2624–2628.
- [154] a) T. A. Voelker, A. C. Worrell, L. Anderson, J. Bleibaum, C. Fan, D. J. Hawkins, S. E. Radke, H. M. Davies, *Science* **1992**, 257, 72–74; b) A. J. Del Vecchio, *INFORM* **1996**, 7, 230–243; c) D. S. Knutzon, T. R. Hayes, A. Wyrick, H. Xiong, H. M. Davies, T. A. Voelker, *Plant Physiol.* **1999**, 120, 730–746.
- [155] a) N. Martini, J. Schell, R. Töpfer in *Rapeseed Today and Tomorrow, Vol. 2*, Dorset Press, Dorchester, **1995**, S. 461–463 (Proc. 9th Int. Rapeseed Congr. (GCIRC)); b) E. Rudloff, P. Wehling, *Acta Horti.* **1998**, 459, 379–385.
- [156] a) D. Weier, C. Hanke, A. Eickelkamp, W. Lühs, J. Dettendorfer, E. Schaffert, C. Möllers, W. Friedt, F. P. Wolter, M. Frentzen, *Fett/Lipid* **1997**, 99, 160–165; b) M. Frentzen, *Fett/Lipid* **1998**, 100, 161–166; c) A. Gräfin zu Münster, W. Lühs, D. S. Borchardt, F. P. Wolter, M. Frentzen in *Advances in Plant Lipid Research* (Hrsg.: J. Sánchez, E. Cerdá-Olmedo, E. Martínez-Force), Secretariado de Publicaciones de la Universidad de Sevilla, Sevilla, Spain, **1998**, S. 671–674; d) „Developements in Plant Breeding“: W. Lühs, A. Voss, J. Han, A. Gräfin zu Münster, D. Weier, F. P. Wolter, M. Frentzen, W. Friedt in *Genetics and Breeding for Crop Quality and Resistance* (Hrsg.: G. T. S. Mugnozza, E. Porceddu, M. A. Pagnotta), Kluwer, Dordrecht, **1999**, S. 323–330.
- [157] a) K. I. Soldatov in *Proc. 7th Int. Sunflower Conf.*, Krasnodar, UdSSR, Intern. Sunflower Assoc., **1976**, S. 352–357; b) W. Lühs, K. J. Dehmer, R. Bergmann, W. Friedt in *Perspektiven nachwachsender Rohstoffe in der Chemie* (Hrsg.: H. Eierdanz), VCH, Weinheim, **1996**, S. 232–238.
- [158] J. Osorio, J. Fernández-Martínez, M. Mancha, R. Garés, *Crop Sci.* **1995**, 35, 739–742.
- [159] a) W. Lühs, W. Friedt, *Anbauempfehlungen für hochölsäurehaltige Sonnenblumen (HO-Sonnenblumen) in Deutschland*, 3. Aufl., Justus-Liebig-Universität Gießen, **1998**; b) W. Lühs, W. Friedt in *Proc. 6th Symp. Renewable Resources and 4th Eur. Symp. Ind. Crops Prod.* (Hrsg.: Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe), Landwirtschaftsverlag, Münster, **1999**, S. 401–406.
- [160] a) A. J. Norden, D. W. Gorbet, D. A. Knauff, C. T. Young, *Peanut Sci.* **1987**, 14, 7–11; b) T. G. Isleib, C. T. Young, D. A. Knauff, *Crop Sci.* **1996**, 36, 556–558.
- [161] R. Höfer, W. Knörr, A. Westfechtel in *3. Symposium Nachwachsende Rohstoffe, Perspektiven für die Chemie* (Hrsg.: Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten), Landwirtschaftsverlag, Münster, **1994**, S. 235–256.
- [162] a) C. Bickert, W. Lühs, W. Friedt, *Ind. Crops Prod.* **1994**, 2, 229–237; b) C. Bickert, W. Lühs, W. Friedt, *Ind. Crops Prod.* **1994**, 2, 317; c) R. Steiss, A. Schuster, W. Friedt, *Ind. Crops Prod.* **1998**, 7, 303–309.
- [163] a) A. G. Green, *Can. J. Plant Sci.* **1986**, 66, 499–503; b) A. G. Green, *Theor. Appl. Genet.* **1986**, 72, 654–661; c) G. G. Rowland, *Can. J. Plant Sci.* **1991**, 71, 393–396.
- [164] C. Ntiamoh, G. G. Rowland, D. C. Taylor, *Crop Sci.* **1995**, 35, 148–152.