

Zeitschrift: Saussurea : journal de la Société botanique de Genève
Herausgeber: Société botanique de Genève
Band: 18 (1987)

Artikel: Botryococcus sudeticus Lemm., une algue productrice d'huile alimentaire
Autor: Vazquez-Duhalt, Rafael / Greppin, Hubert
DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-1099191>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. [Mehr erfahren](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. [En savoir plus](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. [Find out more](#)

Download PDF: 16.04.2026

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

Botryococcus sudeticus Lemm., une algue productrice d'huile alimentaire

RAFAEL VAZQUEZ-DUHALT
&
HUBERT GREPPIN

RÉSUMÉ

VAZQUEZ-DUHALT, R. & H. GREPPIN (1987). *Botryococcus sudeticus* Lemm., une algue productrice d'huile alimentaire. *Saussurea* 18: 55-63. En français, résumés français et anglais.

L'algue d'eau douce *Botryococcus sudeticus* Lemm. produit plus de 20% de son poids sec en lipides neutres. L'huile est constituée principalement de triglycérides (84.4-92.1%) et la distribution des acides gras, ainsi que les autres caractéristiques, font que cette huile pourrait avoir un intérêt nutritionnel.

ABSTRACT

VAZQUEZ-DUHALT, R. & H. GREPPIN (1987). *Botryococcus sudeticus* Lemm., a food-oil producing alga. *Saussurea* 18: 55-63. In French, French and English abstracts.

The freshwater alga *Botryococcus sudeticus* Lemm. produce up to 20% of neutral lipids (dry weight). The oil is mainly composed by triglycerides (84.4-92.1%), and the fatty acids distribution and other characteristics are those of a food-oil. A possible utilization for nutrition is discussed.

Introduction

Depuis fort longtemps les algues ont été une source de denrées alimentaires pour la consommation humaine. Par exemple, les Aztèques appréciaient la valeur nutritive de *Spirulina maxima*, issue du lac de Texcoco, et au Japon diverses espèces d'algues sont couramment consommées. Plus récemment, la culture à large échelle a été envisagée pour la production de nourriture, et les premiers résultats obtenus sur les animaux ont été encourageants (FISHER & BURLEW, 1953). L'efficacité de la conversion de l'énergie lumineuse est au moins aussi haute que dans le cas des végétaux supérieurs sous des conditions d'éclairage naturel (WASSINK & al., 1953). La teneur en protéines, hydrates de carbone et vitamines font des algues un sujet intéressant du point de vue alimentaire et fourrager (AARONSON, 1972).

Les matières grasses produites par les microorganismes sont couramment appelées "huiles unicellulaires" (single cell oils); nom qui fait penser à celui des protéines produites

par eux (protéines unicellulaires). La quantité d'huile produite peut être utilisée pour la classification des algues oléagineuses, mais ces organismes produisent des quantités différentes, selon les conditions de culture. On peut dire que celles qui produisent plus de 20% de matières grasses, en fonction du poids sec, sont des algues oléagineuses.

Divers travaux ont fait la revue des articles publiés sur ce sujet (COLLER & FOGG, 1955; RATLEDGE, 1982; RATTRAY, 1984). Plusieurs espèces d'algues sont caractérisées par une haute production de lipides, allant de 27 jusqu'à 70% de leur poids sec. Parmi ces espèces on peut citer *Cylindrotheca closterium*, *C. fusarium*, *Phaeodactylum tricoratum*, *Botryococcus braunii*, *Dunaliella salina*, *D. primolecta*, *Chlorella pyrenoidosa*, *C. vulgaris*, *Radiosphaera negevensis*, *Mondus subterraneus*, *Chlorococcum oleofaciens*, *Neochloris oleoabundans*, *N. pseudostigmatica*, *N. texensis*, etc. Ces algues peuvent produire une large variété de lipides: hydrocarbures, glycérides, stérols, cires, phospholipides, glycolipides, etc.

Les huiles de consommation alimentaire doivent avoir des caractéristiques très spécifiques; elles sont constituées principalement de triglycérides. Plusieurs algues peuvent produire jusqu'à 89% de leur poids sec en lipides, principalement des triglycérides (METZGER & al., 1983). Malheureusement la plupart d'entre elles produisent aussi des quantités importantes de phospholipides, ce qui donne à l'huile un saveur non souhaitable. En outre, les phospholipides, surtout chloroplastiques, sont constitués d'acides gras polyinsaturés qui sont très instables et provoquent un dégagement de mauvaises odeurs, lors de la cuisson. *Neochloris oleoabundans*, par exemple, a en plus des triglycérides formés d'acides gras saturés, lesquels limitent considérablement son importance nutritive (TORNABENE & al., 1983).

La production mondiale d'huiles et de graisses atteint (1984) environ 64 millions de tonnes, dont 45 sont d'origine végétale. Dans les pays occidentaux les 80% des huiles servent à la consommation humaine; au niveau mondial cette dernière s'accroît de 3% par an et doit se poursuivre sur le même rythme et atteindre une valeur d'environ 77 millions de tonnes d'huiles et de graisses végétales en l'an 2000. Bien que la consommation dans les pays occidentaux (16.5-22.2 kg/pers/an) doive stagner, dans le reste du monde (Asie, Afrique, Amérique latine et Europe de l'Est) elle aura tendance à augmenter (DARBON, 1986a).

La culture d'algues pourrait être une solution à la valorisation des surfaces désertiques ou semi-désertiques (DUBINSKY & al., 1978), soit les 34% de la surface terrestre: 50.7 millions de km² (WHITTAKER & LIKENS, 1975).

Matériel et méthodes

La source d'algues et les conditions de culture, ainsi que les méthodes et techniques d'extraction, de séparation et d'analyse des lipides ont été décrites dans des travaux antérieurs (VAZQUEZ-DUHALT & GREPPIN, 1987).

Les acides gras libres ont été séparés de l'extrait des lipides neutres, issus des cultures axéniques, sur une colonne de gel de silice alcalin (MCCARTY & DUTHIE, 1962). Les lipides neutres, libres d'acides gras (environ 200 mg) ont été chromatographiés sur une colonne (30 × 1.1 cm) préparée avec 9 g d'oxyde d'aluminium (Al₂O₃, 70-320 mesh) afin de séparer les hydrocarbures. La première élution a été faite avec 30 ml d'hexane pour obtenir la fraction des hydrocarbures, la deuxième avec 100 ml de diéthyléther (les autres lipides neutres). Les deux fractions ont été évaporées à 50°C sous vide, puis sous azote et pesées. La fraction libre d'acides gras et d'hydrocarbures a été chromatographiée en couche mince préparative, sur des plaques recouvertes de gel de silice activée à 120°C pendant 30 minutes. Le système de solvants utilisé a été: l'éther de pétrole (40-60°C) —

diéthyléther — acide acétique (90:10:1) (MANGOLD & MALINS, 1960). De cette dernière séparation nous avons obtenu les esters de stérols, les triglycérides et les alcools.

Les analyses des hydrocarbures (injectés directement), des acides gras (libres et combinés) estérifiés, ainsi que des stérols et alcools sous la forme de triméthylsilyléthers (MANGOLD & BAUMANN, 1967) ont été réalisées au moyen d'un chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse (Finnigan 9610), équipé d'une colonne (20 m × 0.32 mm) du type WCOT OV-73 et combiné à un détecteur d'ionisation de flamme (FID). La température du four a été maintenue pendant 1.2 minutes à 60°C, à une vitesse de 10°C/min; à 280°C, à raison de 4°C/min, où elle a été maintenue pendant 30 minutes. Des standards internes ont été utilisés.

Les lipides totaux ont été extraits du culot d'algues (obtenu après centrifugation du milieu de culture à 20.000 g pendant 10 minutes), avec 5 ml d'une solution méthanol-chloroforme (2:1) agité par un vibro-agitateur (Chemap Vibro Mischer E 1) pendant 24 heures. Après ceci, le mélange a été centrifugé et le résidu lavé plusieurs fois avec du méthanol-chloroforme-eau (2:1:0.8). Les surnageants ont été combinés et, après addition de 3 ml d'H₂O et 3 ml de chloroforme, centrifugés. La phase chloroforme a été reprise et évaporée sous vide, à 50°C, en présence d'un peu de benzène. Le résidu sec représente les lipides totaux (KATES, 1982). La teneur en phosphore dans les lipides totaux a été déterminée au moyen du réactif au molybdate d'ammonium et amidol (dihydrochlorure de 2.4-diaminophénol), après une digestion à l'acide perchlorique (BARTLETT, 1959).

Le dosage des protéines de la biomasse a été fait au moyen du réactif de Folin-Ciocalteu (LOWRY & al., 1951). La détermination de la teneur en hydrates de carbone a été obtenue par le réactif à l'Anthrone (YEMM & WILLIS, 1954).

Résultats et discussion

L'algue d'eau douce, *Botryococcus sudeticus* Lemm., s'est montrée capable de produire plus de 23% de son poids sec en lipides neutres. La caractérisation chimiotaxonomique de cette espèce et les différences vis-à-vis d'une autre du même genre, *Botryococcus braunii*, ont été reportées auparavant (VAZQUEZ-DUHALT & GREPPIN, 1987).

La teneur totale en lipides neutres (tableau 1) varie de 10 à plus de 20% du poids sec, selon la phase de croissance de la culture. La fraction des hydrocarbures représente environ 0.9% du poids sec, ce qui n'est pas très important. L'identification de ces composés au moyen de la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (à l'exception du β carotène lequel a été mesuré au spectrophotomètre) a mis en évidence que cette fraction est composée principalement des heptadécane, heptadécène, docosène et squalène. Ce dernier est le composé principal.

Les analyses par chromatographie en couche mince des lipides neutres totaux ont montré que les stérols présents s'y trouvent en tant qu'esters de stérols. Les acides gras des esters de stérols ont une longueur de chaîne et un degré d'insaturation semblables à ceux de la fraction des triglycérides. Les spectres de masse des trois stérols les plus importants indiquent probablement le Fungistérol ou Δ^7 Ergostérol (5 α -ergost-7-ène-3 β -ol), le Chondrillastérol (24 S-24-ethyl-5 α -cholest-7,22-diène-3 β -ol) et le 22-Dihydrochondrillastérol (24 S-25-ethyl-5 α -cholest-7-ène-3 β -ol). Cette fraction constitue le 1.5 à 5.6% des lipides neutres.

Les triglycérides sont apparus comme la plus importante des fractions des lipides neutres; elle contient principalement des acides gras en C₁₆ et C₁₈, lesquels peuvent être saturés, mono-, di- ou tri-insaturés. Les acides oléique, palmitique et linoléique sont prédominants.

<i>Composé</i>	<i>% du total de lipides neutres</i>		
<i>Acides gras libres</i>			0.51-3.22
Hexadécatriénoïque	16:3	0.05-0.15	
Hexadécadiénoïque	16:2	0.06-0.09	
Palmitoléïque	16:1	0.06-0.08	
Palmitique	16:0	0.44-0.53	
Linoléique	18:2	0.12-0.18	
Linoléique	18:3	0.02-0.04	
Oléïque	18:1	0.77-0.92	
Stéarique	18:0	0.02-0.05	
Gadoléïque	20:1	0.01-0.02	
<i>Hydrocarbures</i>			4.16-4.72
Heptadécène	C ₁₇ H ₃₄	0.07-0.19	
Heptadécane	C ₁₇ H ₃₆	0.65-0.99	
Docosène	C ₂₂ H ₄₆	0.10-0.46	
Squalène	C ₃₀ H ₅₀	2.90-3.52	
β-carotène	C ₄₀ H ₅₆	0.09-0.57	
<i>Stérols (esters)</i>			1.51-5.59
Fungistérol	C ₂₈ H ₄₈ O	0.43-1.68	
Chondrillastérol	C ₂₉ H ₄₈ O	0.47-2.69	
Dihydrochondrillastérol	C ₂₉ H ₅₀ O	0.49-1.25	
<i>Triglycérides</i>			84.43-92.12
Hexadécatriénoïque	16:3	2.50-4.65	
Hexadécadiénoïque	16:2	2.63-5.03	
Palmitoléïque	16:1	2.72-3.73	
Palmitique	16:0	14.80-19.10	
Linoléique	18:2	2.14-7.27	
Linoléique	18:3	0.07-1.56	
Oléïque	18:1	45.06-50.73	
Stéarique	18:0	0.28-0.39	
Gadoléïque	20:1	0.77-1.31	
<i>Alcools (Phytol)</i>	C ₂₀ H ₄₀ O		0.17-0.28

Tableau 1. — Composition des lipides neutres chez *Botryococcus sudeticus*.

La fraction alcool constitue environ 0.2% du total des lipides neutres et est formée principalement du phytol, qui a pu être accumulé lors de la dégradation des chlorophylles. Ce phytol est aussi l'un des précurseurs dans la synthèse des chlorophylles.

Finalement, les acides gras libres, lesquels ont été séparés auparavant, au moyen d'une chromatographie sur colonne, ont les mêmes longueurs de chaîne et degré d'insaturation que les acides gras formant une partie des triglycérides. Parmi ceux-ci les acides oléique, palmitique et linoléique se sont révélés les plus importants; une petite quantité d'acide gras monoinsaturé en C₂₀ a pu être aussi détectée.

La haute teneur en lipides neutres chez *Botryococcus sudeticus*, parmi lesquels les triglycérides représentant la fraction principale (84.4 à 92.1%), enfin la composition même en acides gras font de cette huile une matière attractive du point de vue alimentaire.

Le degré d'insaturation des acides gras lui assure l'état liquide à la température ambiante. La haute proportion en acides gras insaturés lui donne aussi une grande potentialité nutritionnelle, d'autant plus qu'elle ne contient pas d'acide érucique (22:1) et très peu d'acide eicosénoïque (20:1), moins de 1.5%. L'acide linoléique (18:3), qui est une substance très peu stable et qui est associé aux huiles ayant une mauvaise stabilité de saveur et générant des odeurs, n'est présent qu'en très faible proportion. Donc, l'huile de *B. sude-*

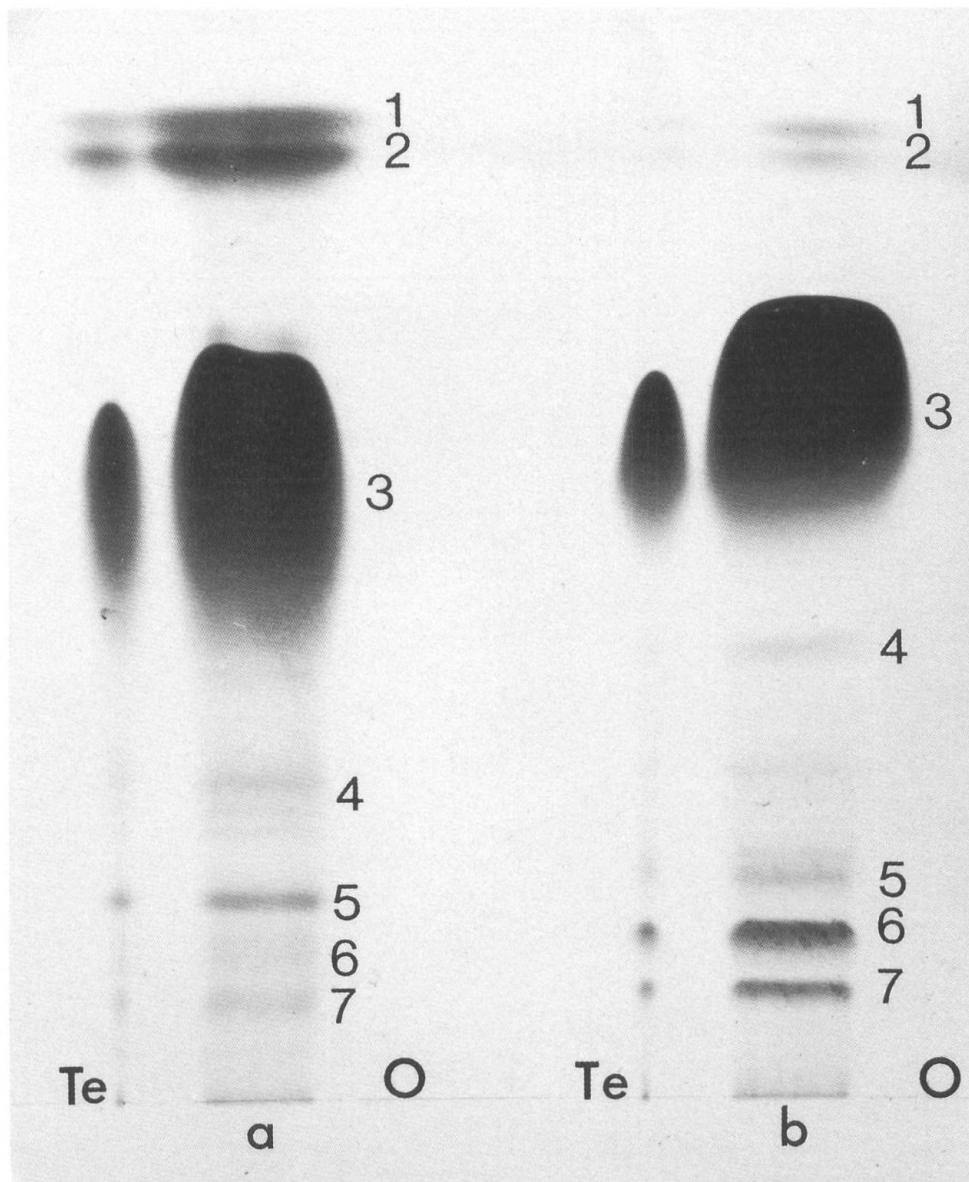
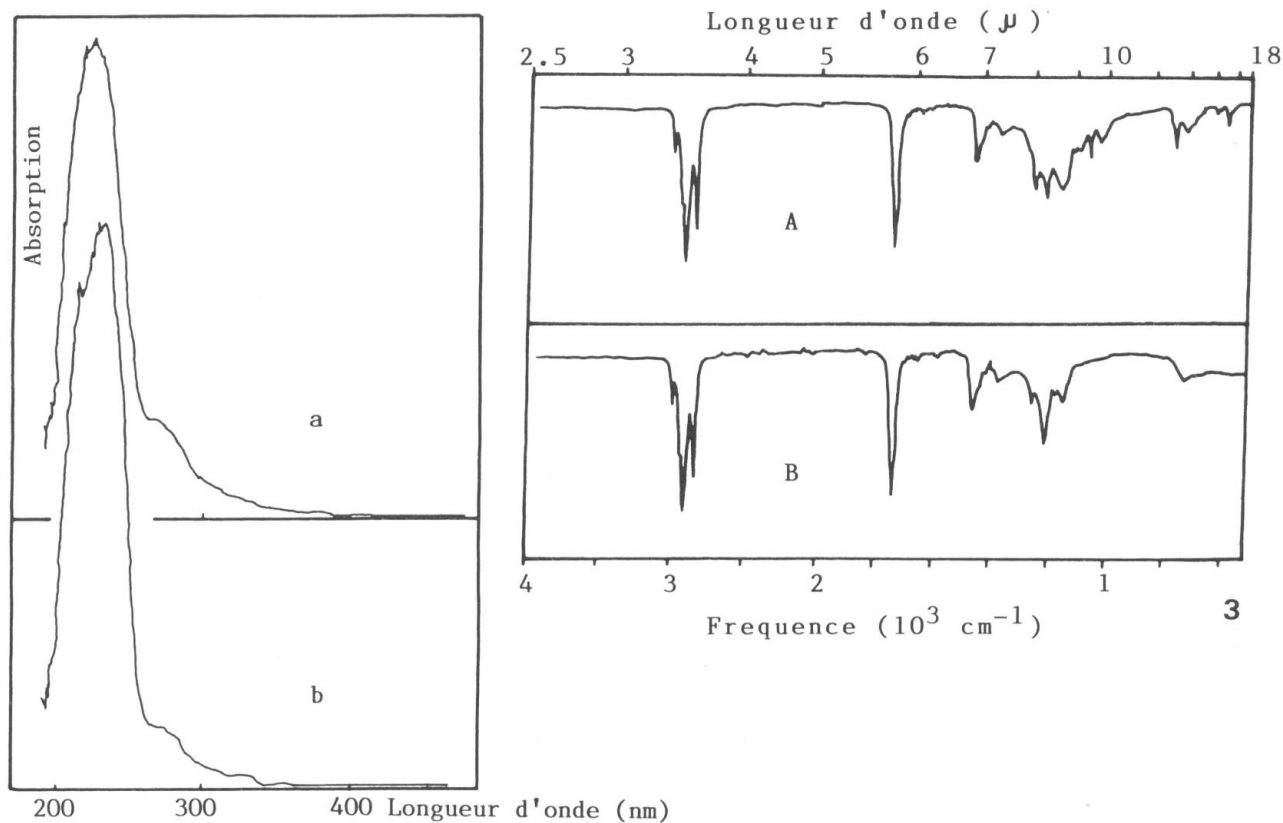


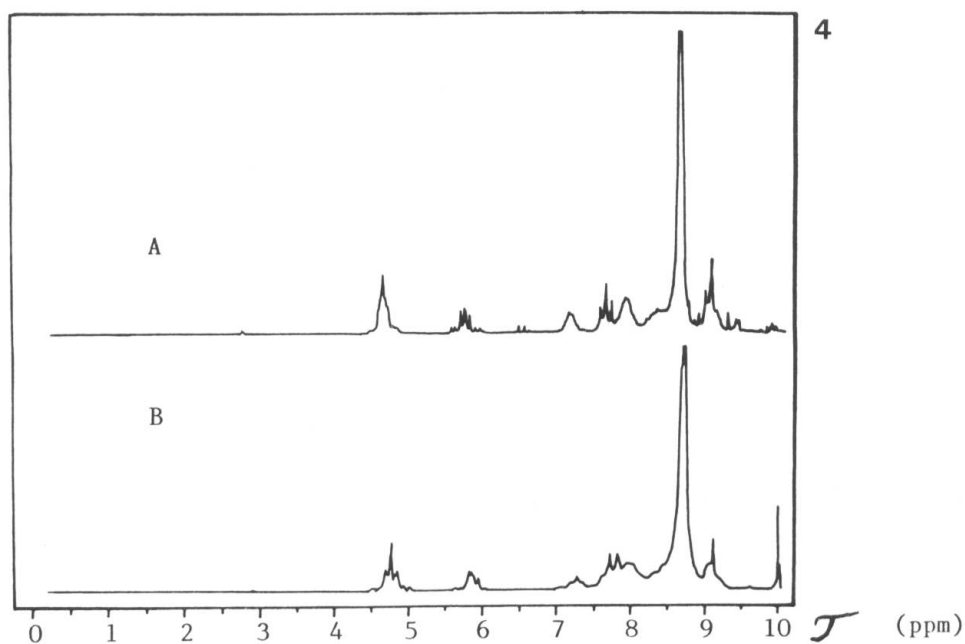
Fig. 1. — Chromatographie en couche mince de l'huile de *Botryococcus sudeticus* (a) et de l'huile d'olive (b). Hydrocarbure, 1; esters de stérols, 2; triglycérides, 3; acides gras libres, entre 5 et 3; alcools, 5; stérols, 6; diglycérides, 7. Te: standards. O: origine.

ticus a de nombreux avantages vis-à-vis de plusieurs huiles des végétaux supérieurs; surtout le fait que celle-ci n'a pas besoin d'être soumise à un traitement d'hydrogénation. Pour l'huile de soja, par exemple, l'hydrogénation élimine l'acide linoléique qui représente jusqu'à 18% des acides gras (RATTRAY, 1984).

Pendant longtemps, la répartition des acides gras saturés, monoinsaturés et polyinsaturés dans une ration lipidique optimale a été considérée de 1/3 chacun. A l'heure actuelle elle est de 25% d'acides gras saturés, 50% de monoinsaturés et de 25% de polyinsaturés. D'autre part on prend en considération la relation entre les acides polyinsaturés et les acides saturés, laquelle doit être de 0.5 à 0.8; en ayant un rapport de l'acide linoléique à l'acide linolénique de plus de 6. Cet équilibre lipidique se rapproche de celui du lait de femme



2



4

Fig. 2. — Spectres UV de l'huile de *Botryococcus sudeticus* (a) et l'huile d'olive (b).

Fig. 3. — Spectres IR de l'huile de *Botryococcus sudeticus* (A) et de l'huile d'olive (B).

Pic à 1725 cm^{-1} : liaisons esters (COOR); pics de 2850 à 2960 cm^{-1} : groupes CH_3 et CH_2 ; pic à 1460 cm^{-1} : groupes esters (C-O-).

Fig. 4. — Spectres RMN de l'huile de *Botryococcus sudeticus* (A) et de l'huile d'olive (B).

Pic à 9.1 ppm: CH_3 terminaux; pics de 8.65 à 8.80 ppm: $-\text{CH}_2-$; pics de 7.8 à 7.9 ppm: esters d'acides gras ($\text{CH}_2\text{-COO}-$); pic à 5.8 ppm: $-\text{C}=\text{C}-$ et isoprénoïdes.

(0.4 à 0.8). Ces deux relations sont normalement obtenues en consommant un mélange de graisses d'origine végétale et d'origine animale (DE LA TULLAYE *in* DARBON, 1986b).

L'huile produite par *Botryococcus sudeticus* contient en moyenne 21.5% d'acides saturés, 58.3% d'acides monoinsaturés et 17.2% d'acides gras polyinsaturés; ce qui se rapproche beaucoup de la relation optimale (25:50:25). D'autre part la relation entre les acides gras saturés et polyinsaturés est de 0.8, laquelle est placée entre les valeurs optimales (0.5 à 0.8), et finalement le rapport entre l'acide linoléique et l'acide linoléique est de 5, ce qui est très proche de la valeur optimale (6).

La présence de substances non-saponifiables (hydrocarbures, stérols et alcools), en faible proportion, ne diminue pas la potentialité alimentaire de l'huile. Ces substances sont courantes dans les huiles des plantes oléagineuses, telle que l'huile d'olive (fig. 1). Le squalène existe dans l'huile d'olive en proportion de 0.41 à 0.50% (DEVEL, 1951). L'huile de *Botryococcus sudeticus* a une composition assez proche de celle de l'huile d'olive (tableau 2); néanmoins, il y a une différence en ce qui concerne les pigments: le β -carotène est bien présent dans l'huile de *B. sudeticus* et lui donne une couleur jaune. La fraction libre de pigment est caractérisée par un spectre identique à celui de l'huile d'olive (figs. 2, 3 et 4).

Acides gras	Composition en acides gras (%) (Pourcentage du total des acides gras libres et associés)	
	<i>Botryococcus sudeticus</i>	Huile d'olive
14:0	—	1.0-1.3
16:3	4.16-5.39	—
16:2	3.05-4.25	7.5-12.5
16:1	3.15-3.67	0.5-1.5
16:0	20.13-22.14	7.0-16.0
18:3	1.14-1.81	0.3-0.7
18:2	6.24-8.43	4.0-15.0
18:1	52.23-55.12	64.5-84.5
18:0	0.32-0.45	1.4-3.3
20:1	0.98-1.52	0.3-0.7

Tableau 2. — Composition en acides gras des huiles de *Botryococcus sudeticus* et d'olive.

En ce qui concerne les phospholipides (responsables de la difficulté d'utilisation des huiles issues des algues), leur teneur est très faible (1.85 ± 0.09 micromoles/mg). Si l'on considère que les principaux phospholipides sont le phosphatidylglycérol et la phosphatidylcholine (lécithine), comme c'est le cas chez la plupart des algues (BENSON & SHIBUYA, 1962), et si l'on tient compte de la distribution en acides gras (tableau 1), un poids moléculaire moyen (phospholipides) de 800 semble donc acceptable. Alors, on peut estimer que chez *B. sudeticus* les phospholipides représentent seulement 4.63% (± 0.22) des lipides totaux. Ceci est conforté par la faible concentration en acide linoléique, qui est normalement associé aux phospholipides (ERWIN & BLOCH, 1964; NICHOLS, 1965). Cette concentration en phospholipides est significativement plus faible que celle observée dans les autres espèces d'algues (BEN-AMOTZ & al., 1985).

Conclusion

Des caractéristiques décrites ci-dessus, on peut conclure que l'huile de *B. sudeticus* apparaît comme très intéressante du point de vue nutritionnel et que sa culture à grande

échelle pourrait être envisagée. Dans les conditions de culture en laboratoire, nous avons obtenu une productivité de 36.25 g de biomasse sèche par m³/jour, mais la productivité à grande échelle et sous des conditions naturelles devrait être plus faible. Il est connu que les algues, sous des conditions d'éclairage artificiel, ont une efficacité énergétique d'environ 15%, tandis que sous un éclairage naturel elle est d'environ 2-3% (WASSINK & al., 1953). D'autre part, on sait que la productivité des algues eucaryotes, dans les cultures à grande échelle varie de 13 à 45 g/m²/jour en biomasse sèche (DUBINSKY & al., 1978).

Une estimation faite en prenant une productivité de 10 g/m²/jour donne une production de biomasse sèche de 36.5 tonnes/ha/an, laquelle comparée au rendement de la canne à sucre (112 tonnes/ha/an) n'est pas très importante. Par contre, la production d'huile s'élèverait à environ 7300 kg/ha/an (20% du poids sec); comparée à la production de l'huile de palme (5000 kg/ha/an), ou d'huile d'olive (2000 kg/ha/an), cela se montre très important. Il faut considérer qu'il y a à la fois une production d'environ 1460 kg/ha de protéines et 2560 kg/ha d'hydrates de carbone, qui pourraient être utilisées en tant qu'aliment pour le bétail (protéines unicellulaires).

Enfin, on peut conclure que les caractéristiques de l'huile produite par *Botryococcus sudeticus*: son état liquide à température ambiante, sa haute proportion en acides gras insaturés, l'absence d'acide érucique, sa très faible concentration en acides eicosénoïque et linoléique, ainsi qu'en phospholipides, en font une denrée intéressante du point de vue alimentaire. La distribution en acides gras de cette huile est très proche de celle proposée comme optimale dans les rations lipidiques humaines. Il semble donc, que de futures études sur la culture à l'échelle pilote soient justifiées.

REMERCIEMENTS

Nous remercions le professeur A. Buchs (Département de chimie physique) ainsi que MM. Y. Mendoza, Y. Cornioley et L. Wunsche pour leurs aide et conseils (Service de spectrométrie de masse).

BIBLIOGRAPHIE

- AARONSON, S. (1972). A new source of single-cell protein and other nutriments. *Arch. Hydrobiol., Suppl.* 41: 6, 108-115.
- BARTLETT, G. R. (1959). Phosphorous assay in column chromatography. *J. Biol. Chem.* 234: 466-468.
- BEN-AMOTZ, A., T. G. TORNABENE & W. H. THOMAS (1985). Chemical profile of selected species of microalgae with emphasis on lipids. *J. Phycol.* 21: 72-81.
- BENSON, A. A. & I. SHIBUYA (1962). Surfactant lipids. In: LEWIN, R. A. (ed.), *Physiology and Biochemistry of algae*, 2nd ed., ch. 22: 371-383. Acad. Press.
- COLLER, D. M. & G. E. FOGG (1955). Studies on fat accumulation by algae. *J. Exp. Bot.* 6: 256-275.
- DARBON, P. (1986a). Biotechnologies des corps gras. *Biofutur* 43: 19-33.
- DARBON, P. (1986b). Diète lipidique et biotechnologies. *Biofutur* 45: 19-32.
- DEVEL, H. J. (1951). *The lipids, their chemistry and biochemistry*, Vol. 1. *Chemistry*. Interscience Publ. Inc., New York.
- DUBINSKY, Z., T. BERNER & S. AARONSON (1978). Potential of large scale algal culture for biomass and lipid production in arid lands. *Biotechnol. Bioeng. Symp.* 8: 51-68.
- ERWIN, J. & K. BLOCH (1964). Biosynthesis of unsaturated fatty acids in microorganisms. *Science* 143: 1006-1012.
- FISHER, A. W. & J. S. BURLEW (1953). Nutritional value of microscopic algae. In: BURLEW, J. S. (ed.), *Algal culture from laboratory to pilot plant*, ch. 20: 303-310. Carnegie Inst. Washington Publ. 600.
- KATES, M. (1982). *Techniques of lipidology isolation, analysis and identification of lipids*, 3rd ed. North-Holland Publ. Co., Amsterdam.

- LOWRY, O. H., N. J. ROSEBROUGH, A. L. FARR & R. L. RANDALL (1951). Protein measurement with Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275.
- MANGOLD, H. K. & W. J. BAUMANN (1967). *Lipid chromatographic analysis*, Vol. 1: 339-359. Dekker Inc., New York.
- MANGOLD, H. K. & D. C. MALINS (1960). Fractionation of fats, oil and waxes on thin layers of silicic acid. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 37: 383-385.
- MCCARTHY, R. D. & A. H. DUTHIE (1962). A rapid quantitative method for the separation of free fatty acids from other lipids. *J. Lipid Res.* 3: 117-119.
- METZGER, P., N. DEXOULS & E. CASADEVALL (1983). Microalgae as source of triglycerides. In: STRUB, A., P. CHARTIER & G. SCHLESER (eds.), *Energy from biomass*: 339-343. E. C. 2nd Conf. Applied Sci. Publ.
- NICHOLS, B. W. (1965). Light induced changes in the lipids of *Chlorella vulgaris*. *Biochem. Biophys. Acta* 106: 274-279.
- RATLEDGE, C. (1982). Microbial oils and fats; an assessment of their commercial potential. *Prog. Ind. Microbiol.* 16: 119-206.
- RATTRAY, J. B. M. (1984). Biotechnology and the fats and oils industry; an overview. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 61: 1701-1712.
- TORNABENE, T. G., G. HOLZER, S. LIEN & N. BURRIS (1983). Lipid composition of the nitrogen starved green alga *Neochloris oleoabundans*. *Enzyme Microbiol. Technol.* 5: 435-440.
- VAZQUEZ-DUHALT, R. & H. GREPPIN (1987). Growth and production of cell constituents in batch cultures of *Botryococcus sudeticus*. *Phytochemistry* 26: 885-889.
- WASSINK, E. C., B. KOB & J. L. P. VAN OORSCHT (1953). The efficiency of light-energy conversion in *Chlorella* cultures as compared with higher plants. In: BURLEW, J. S. (ed.), *Algal culture from laboratory to pilot plant*, ch. 5: 55-62. Carnegie Inst. Washington Publ. 600.
- WHITTAKER, R. H. & G. E. LIKENS (1975). *Primary productivity of biosphere* (LIETH, H. & R. H. WHITTAKER, eds.). Springer Verlag, New York.
- YEMM, E. W. & A. J. WILLIS (1954). The estimation of the carbohydrates in plant extracts by Anthrone. *Biochem. J.* 57: 508-514.

