受賞者総説

微細藻類の有用炭化水素生産に関する研究*1

(平成 10 年度日本水産学会賞奨励賞受賞)

岡 田 茂*2

東京大学大学院農学生命科学研究科

微細藻類は水圏における一次生産者であり、食物連鎖の底辺を支えると共に大気中への酸素の放出および炭酸ガスの吸収により、地球環境にも大きな影響を及ぼしている。

水産業上、養殖魚介類の初期餌料として有益に利用されている種もあるが、その一方で赤潮の原因、有毒プランクトンなど「悪玉」としてのイメージがあるのも事実である。

しかしながら、その種の豊富さ、生息環境の多様さから特殊な物質生産をするものも少なくなく、微細藻類は魅力的な未利用資源と考えられる。

中でも群体性微細緑藻 *Botryococcus braunii* は、大量の液状炭化水素を生産し群体内に蓄積する。この炭化水素は環境中の炭酸ガスを光合成により変換したものであり、化石燃料と異なり燃やしても現存する炭酸ガスを実質上増やさないので、再生産可能なエネルギー資源としての利用が考えられている。

筆者らの研究室では微細藻類の有効利用に関する研究を行っており、その一環としてこの *B. braunii* という一風変わった微細藻類を扱ってきた。本稿では本藻種による炭化水素生産について、トリテルペン生産を中心に筆者らが得た知見を交えて概説する。

1. *B. braunii* の生産する炭化水素

B. braunii は *Chlorella* 等と同様に単細胞性の微細緑藻であるが、個々の細胞が細胞間物質（以後マトリクスと略）でつなぎ止められ、群体を形成するのが特徴である。世界各地の主として淡水域に生息している。¹⁾

この微細藻は世界各地に産出するオイルシェール（含油堆積物）との関係が注目され、古くから地質学的な興味の対象となってきたが、この微細藻そのものが炭化水素を生産することが明らかになったのは 1960 年代の後半になってからである。

初めにイングランドの Oakmare 湖に発生したブルー

ミング由来のオレンジ色の藻体から、トリテルペン由来の炭化水素 (1) が単離、構造決定され、botryococcene と命名された。²⁾ 次いでケンブリッジ大学の保存株から直鎖状の不飽和炭化水素が単離され、その構造が決定された。³⁾

その後しばらく、この微細藻は生育状態により異なる炭化水素を生産すると考えられていた。すなわち緑色を呈し活発に増殖している時には 27~31 の奇数個の炭素鎖からなる直鎖状の不飽和炭化水素である alkadiene (2)、および炭素数 29, 31 の alkatriene (3) を生産し、定常期に入り細胞の増殖が止まり、オレンジ色の色調を呈するようになると、一般式 C_nH_{2n-10} ($n=30-37$) で表せるトリテルペン由来の botryococcene 類を生産すると考えられていた。⁴⁾

さらに研究が進むにつれ、活発に増殖し緑色の状態でも botryococcene 類を生産する株が野外から新たに分離されたこと等から、現在では、本藻種には alkadiene, alkatriene を生産する A 品種、botryococcene 類を生産する B 品種および lycopadiene (4) と呼ばれるテトラテルペンを生産する L 品種の 3 つがあることが知られている。⁵⁻⁷⁾

A 品種の生産する alkadiene, alkatriene は、主としてオレイン酸の炭素鎖の伸長が起こり、超長鎖脂肪酸が形成された後に生成することが、放射性同位体の取り込み実験から明らかになっている。^{8,9)}

B 品種は botryococcene 類の他に、同じくトリテルペンである tetramethylsqualene (5) 等の squalene のメチル化誘導体を生産する。¹⁰⁾

Botryococcene の名前は、前述の最初に構造が決定された (1) に付けられたものであるが、現在では特別に命名されたもの以外は、共通の基本骨格を持つトリテルペン由来の炭化水素を botryococcene 類と総称し、 C_{32} botryococcene のように炭素数を付けて区別している。

Botryococcene 類は初めに C_{30} botryococcene が作ら

*1 Production of Useful Hydrocarbons by Microalgae.

*2 Shigeru Okada (Graduate School of Agricultural and Life Sciences, University of Tokyo, Bunkyo, Tokyo 113-8657, Japan).

図1 *Botryococcus braunii* の生産する炭化水素および関連化合物

れ、順次メチル化されることにより炭素数の多いものへと変換されていくが、その際に二重結合の転移や側鎖の環化が起こり、様々な同族体が生成する。^{11,12)}

このメチル化の度合いは生育条件に左右され、炭酸ガスを含む空気を通気して増殖速度を高めた場合は炭素数の少ないものの割合が高くなり、静置培養等で増殖速度が遅い場合には炭素数の多いものの割合が高くなる。^{13,14)} この割合は C_{30} botryococcene の合成速度と、メチル化の速度とのバランスによって決まるが、どの botryococcene が含まれるかは株ごとに特徴がある。例えばオーストラリアのダーウィン川由来の株では特異的に C_{36} , C_{37} botryococcene を含んでおり、¹⁵⁾ アメリカ産の Berkeley 株では炭素数 34 の isobotryococcene が常に主成分である。¹⁶⁾

L 品種は lycopadiene 一種のみを生産し、その炭化水素含量は非常に低いことが知られている。⁷⁾

微細藻類の中には窒素源の欠乏等により細胞の増殖が妨げられた時に大量の脂質を蓄積するものがあるが、*B. braunii* の場合は品種によらず、細胞が活発に増殖している時に炭化水素が生産されることが知られている。^{7,16,17)} また、細胞を破碎しなくても、藻体をヘキサ

ン等の非極性有機溶媒に浸すだけで炭化水素の大部分を抽出できる。¹⁸⁾ これは炭化水素はマトリクス部分に蓄積されているからである。マトリクスからの炭化水素を抽出し終えた後、細胞を破碎するかクロロホルム・メタノール混液で抽出を行うと、さらに少量の炭化水素が得られる。したがって炭化水素は細胞内外の2箇所が存在していると考えられている。

2. 炭化水素生産に適した新株の分離・培養

本藻種がエネルギー資源として有望と考えられる根拠には幾つかある。

第1には世界各地から産出されるオイルシェールの多くが、本藻種起源であることである。これはオイルシェールの微細構造と *B. braunii* の群体構造の共通性や、両者の熱分解物の分析により確かめられた。^{19,20)}

第2にはスマトラ産の原油の組成が挙げられる。原油は非常に複雑な組成の混合物であるが、スマトラ産の原油には botryococcane (botryococcene の二重結合がすべて飽和化されたもの) が 1.4% も含まれていた。このことは太古の昔に大量に繁茂した本藻種が、現在採掘されている石油の起源の一部だと考える根拠になっている。²¹⁾

第3には本藻種は、何らかの条件が整うと、時として湖面一面を覆うような大規模なブルーミングを形成することである。有名な例としてはオーストラリアのダーウィン川の貯水池におけるブルーミングが挙げられる。²²⁾ このことは大量培養による炭化水素生産の可能性を示している。

燃料油としての炭化水素の質を考えると、直鎖状の alkadiene, alkatriene より分岐型の botryococcene 類の方がエネルギー源としては優れている。

また生産される炭化水素含量が、平均して B 品種に属する株においてより高いことや、ダーウィン川で大発生するものが B 品種であることを考えると、エネルギー生産には B 品種が適していると考えられる。

そこで筆者らは、まず初めに国内から炭化水素生産を行うための有望株の探索を試み、東京大学構内から Yayoi 株、山梨県山中湖から Yamanaka 株、同県河口湖から Kawaguchi-1, Kawaguchi-2 株の計 4 株を得た。²³⁾

これらの新株について炭化水素組成を分析したところ、Yamanaka 株のみが A 品種であり、残りは全て botryococcene 類を生産する B 品種であった。

炭化水素含量は Yayoi 株で凍結乾燥藻体重量の 33% と最も高く、Berkeley 株やダーウィン川産の藻体に匹敵するものであった。Kawaguchi-1 株、Yamanaka 株、Kawaguchi-2 株ではそれぞれ、18.8%, 16%, 9.7% で

あった。

次に Yayoi 株による炭化水素生産の特性を明らかにするため、この株の炭化水素組成を詳細に検討した。その結果、この株は既知の botryococcene 類 7 種と tetramethylsqualene の他に、3 種の新規 botryococcene 類 (6~8) を生産していた。²⁴⁾

炭化水素組成は培養期間中に変化し、初期には炭素数の少ない botryococcene 類の割合が高くなったが、常に C₃₄ botryococcene (1) が主成分であった。

また、培養期間中の炭化水素含量の変化を調べたところ、培養開始後 3 日目に凍結乾燥藻体重量の 40% と最大値に達した後、培養終了時の 45 日目の 30.9% まで漸減した。²⁵⁾

これらの事は Yayoi 株の炭化水素生産は既存の B 品種と同様であり、本株がエネルギー資源として有望であることを示している。

3. *B. braunii* の生産する炭化水素関連化合物

ところで世界各地から産出するオイルシェールと *B. braunii* の因果関係が分かったのは、両者に共通する微細構造が観察されたことによることはすでに述べた。この微細構造は本藻種のマトリクス部分が長い年月を経ても細菌等による分解を受けず、細胞の死後も群体の形態がそのまま保たれていたために出来たものである。事実、本藻種を有機溶媒や酸、アルカリで処理すると、細胞が存在していた部分が空洞化したマトリクスの残骸が得られ、人工的にオイルシェールの類似物を作ることが出来る。この非常に安定な残骸部分は resistant biopolymer (以後バイオポリマーと略) と呼ばれ、藻体バイオマスの 10% 前後も占める。²⁶⁾

このバイオポリマーの起源を調べるために、初めに A 品種のマトリクスに存在する炭化水素以外の脂溶性成分について詳細に研究が行われた。A 品種の炭化水素含量は株により大きく変動する。これは炭化水素含量の少ない株では、炭化水素そのものの代わりに、alkadiene, alkatriene と共通の長鎖アルキル構造を持つエポキシド、フェノール、アルデヒド、およびエーテル類が大量に含まれているためである。²⁷⁻²⁹⁾ これらの化合物は炭化水素と同様にオレイン酸等の脂肪酸を前駆体とし、炭素鎖の伸長により生成する超長鎖脂肪酸を経て生成される。これらの中で、炭素数 32 のシアルデヒドは、更にアルドール縮合することにより高分子のポリアルデヒドを形成する。³⁰⁾ 現在ではこのポリアルデヒドが A 品種のバイオポリマーの主成分と考えられている。

したがって A 品種においては炭化水素とバイオポリマーは生合成上、密接な関係があると考えられる。

一方、B, L 品種のバイオポリマーについても、放射

性同位体の取り込み実験、固体 ¹³C NMR、および熱分解物の分析により、主成分は A 品種同様、脂肪酸由来の直鎖状の化合物からなると考えられてきた。^{31,32)} このことはこれらの品種では炭化水素とバイオポリマーには直接的な関係が無いことを意味している。

これに関連し、筆者らは B 品種のマトリクスに特異的に存在する色素に着目した。

前述の様に本藻種の群体の色調は、生産する炭化水素のタイプとは関係がないといわれてきた。しかしながら B 品種は活発に増殖している時でも A 品種に比べ、緑色が鮮やかではないことが多い。

これは個々の細胞は緑藻特有の緑色をしているが、マトリクス部分にカロテノイド類が存在するためである。これらのカロテノイド (以後、細胞外カロテノイドと呼ぶ) は炭化水素同様、細胞を破碎せず藻体を有機溶媒に浸すだけで溶出してくるため、細胞内に存在する carotene 類や lutein と分けて抽出することが出来る。

本藻種の B および L 品種のカロテノイド組成を増殖期と定常期とで比較し、定常期には細胞外カロテノイドとして echinenone, canthaxanthin 等の赤色のケトカロテノイドの含量が増加するため、藻体の色が赤みを帯びるとの報告があった。³³⁻³⁵⁾

筆者らが B 品種の細胞外カロテノイドの組成を分析したところ、通常のケトカロテノイドの他に未知のカロテノイド類が存在していた。

これらのカロテノイドの単離、構造決定を行ったところ、B 品種に特異的な炭化水素である tetramethylsqualene を分子内に含む新規カロテノイドであったので、botryoxanthin A (9), α-botryoxanthin A (10), botryoxanthin B (11), braunixanthin 1 (12) および braunixanthin 2 (13) と命名した。³⁶⁻³⁸⁾ Braunixanthin 類の存在は、従来 A 品種からのみ存在が報告され、alkadiene, alkatriene と生合成上関係の深い長鎖アルキルフェノールが、B 品種においても存在することを意味している。

これらのカロテノイドは、増殖期、定常期ともマトリクスに存在し、従来のケトカロテノイドに加えて B 品種の藻体の色調の発現に関与していることが示唆された。³⁹⁾ またこれらの物質の化学構造は、さらに重合して高分子化合物を形成できることから、B 品種のバイオポリマーの形成に、品種に特異的な炭化水素と関連のある化合物が関与している可能性を示すことが出来た。これを機に、その後 B 品種から tetramethylsqualene の、L 品種からは lycopadiene のエポキシド類の存在が報告され、⁴⁰⁾ これらのテルペン由来の物質が、従来バイオポリマーの主成分と考えられてきた直鎖状の物質、特にアルデヒド類とアセタールを介して複雑なネットワークを

形成することで、安定なポリマーを形成していると考えられるようになった。すでにL品種からは、A品種と同様のポリアルデヒドと lycopadiene の誘導体が結合したポリアセタールが報告されている。⁴¹⁾ 以上のことからB品種により生産されるトリテルペンの内、微量成分と考えられていた squalene 誘導体の生産量が、従来考えられていたより大きいことが分かり、B品種は燃料油としての botryococcene 生産だけでなく、ファインケミカルの原料としての squalene 生産にも利用できる可能性が示された。

4. おわりに

本藻種のA品種では炭化水素、炭化水素関連化合物、およびバイオポリマーの全てが脂肪酸由来の直鎖状物質であり生合成上、共通性がある。しかしながらBおよびL品種ではバイオポリマーの主成分は脂肪酸由来の直鎖状物質であり、とりわけB品種はA品種同様に長鎖アルキルフェノールを作れるにも関わらず、テルペン由来の炭化水素を蓄積する。

さらにB品種では、同じトリテルペンでも squalene 関連化合物がバイオポリマー形成に関与している可能性があるのに対し、大量に作られ蓄積されている botryococcene 類が関与していることを示す証拠は未だ得られていない。

これらのことはB品種において光合成によって固定された炭酸ガスが、脂肪酸由来の直鎖状の脂質とトリテルペン系の脂質に振り分けられ、さらにトリテルペン系脂質の中でも botryococcene 類と squalene 類へ必要に応じて振り分けがなされていることを意味している。

この微細藻が何のために液状炭化水素を蓄積するのかはまだ不明であるが、今後本藻種を用いて有用炭化水素生産を効率的に行うためには、これらの炭素の振り分けのシステムを解明していくことが必要であろう。

謝 辞

本研究を遂行するに際し、終始ご指導ご鞭撻を賜った東京大学名誉教授山口勝己先生、同助教授村上昌弘先生に心からお礼申し上げます。また、Berkeley 株の分与および藻体の培養法をご教示いただいた元明治大学農学部教授岩本浩明先生に厚く御礼申し上げます。さらに様々な点でご助力を賜った共同研究者の方々および東京大学水産化学研究室、旧水産学第三講座（現水圏天然物化学研究室、水圏生物工学研究室）の皆様深く感謝する。

文 献

- 1) S. Aaronson, T. Berner, K. Gold, L. Kushner, and N. J. Patni: Some observations on the green planktonic alga,

- Botryococcus braunii* and its bloom form. *J. Plankton Res.*, **5**, 693-700 (1983).
- 2) J. R. Maxwell, A. G. Douglas, G. Eglinton, and A. McCormick: Botryococcenes, hydrocarbons of novel structure from the alga *Botryococcus braunii*. *Phytochemistry*, **7**, 2157-2171 (1968).
- 3) B. A. Knights, A. C. Brown, E. Conway, and B. S. Middleditch: Hydrocarbons from the green form of the freshwater alga *Botryococcus braunii*. *Phytochemistry*, **9**, 1317-1324 (1970).
- 4) A. C. Brown, B. A. Knights, and E. Conway: Hydrocarbon content and its relationship to physiological state in the green alga *Botryococcus braunii*. *Phytochemistry*, **8**, 543-547 (1969).
- 5) P. Metzger, C. Berkloff, E. Casadevall, and A. Coute: Alkadiene- and botryococcene producing races of wild strains of *Botryococcus braunii*. *Phytochemistry*, **24**, 2305-2312 (1985).
- 6) F. R. Wolf and E. R. Cox: Ultrastructure of active and resting colonies of *Botryococcus braunii* (Chlorophyceae). *J. Phycol.*, **17**, 395-404 (1981).
- 7) P. Metzger, B. Allard, and E. Casadevall: Structure and chemistry of a new chemical race of *Botryococcus braunii* (Chlorophyceae) that produces lycopadiene, a tetraterpenoid hydrocarbon. *J. Phycol.*, **26**, 258-266 (1990).
- 8) J. Templier, C. Largeau, and E. Casadevall: Mechanism of non-isoprenoid hydrocarbon biosynthesis in *Botryococcus braunii*. *Phytochemistry*, **23**, 1017-1028 (1984).
- 9) J. Templier, C. Largeau, and E. Casadevall: Biosynthesis of *n*-alkatriene in *Botryococcus braunii*. *Phytochemistry*, **30**, 2209-2215 (1991).
- 10) Z. Huang and C. D. Poulter: Tetramethylsqualene, a triterpene from *Botryococcus braunii* var. *showa*. *Phytochemistry*, **28**, 1467-1470 (1989).
- 11) P. Metzger, E. Casadevall, M. J. Pouet, and Y. Pouet: Structures of some botryococcenes: branched hydrocarbons from the B-race of the green alga *Botryococcus braunii*. *Phytochemistry*, **24**, 2995-3002 (1985).
- 12) M. Murakami, H. Nakano, K. Yamaguchi, S. Konosu, O. Nakayama, Y. Matsumoto, and H. Iwamoto: Meijicoccene, a new cyclic hydrocarbon from *Botryococcus braunii*. *Phytochemistry*, **27**, 455-457 (1988).
- 13) P. Metzger, M. David, and E. Casadevall: Biosynthesis of triterpenoid hydrocarbons in the B-race of the green alga *Botryococcus braunii*. Sites of production and nature of the methylating agent. *Phytochemistry*, **26**, 129-134 (1987).
- 14) F. R. Wolf, E. K. Nemethy, J. H. Blanding, and J. A. Bassham: Biosynthesis of unusual acyclic isoprenoids in the alga *Botryococcus braunii*. *Phytochemistry*, **24**, 733-737 (1985).
- 15) M. N. Galbraith, L. W. Hillen, and L. V. Wake: Darwinene: a branched hydrocarbon from a green form of *Botryococcus braunii*. *Phytochemistry*, **22**, 1441-1443 (1983).
- 16) F. R. Wolf, A. M. Nonomura, and J. A. Bassham: Growth and branched hydrocarbon production in a strain of *Botryococcus braunii*. *J. Phycol.*, **21**, 388-396 (1985).
- 17) E. Casadevall, D. Dif, C. Largeau, C. Gudín, D. Chaumont, and O. Desanti: Studies on batch and continuous cultures of *Botryococcus braunii*: hydrocarbon production in relation to physiological state, cell ultrastructure, and phosphate nutrition. *Biotechnol. Bioeng.*, **27**, 286-295 (1985).
- 18) C. Largeau, E. Casadevall, C. Berkloff, and P. Dhamelincourt: Sites of accumulation and composition of hydrocarbons in *Botryococcus braunii*. *Phytochemistry*, **19**, 1043-

- 1051 (1980).
- 19) K. G. Blackburn: *Botryococcus* and the algal coal. I. A reinvestigation of the alga *Botryococcus braunii*, Kützing. *Trans. R. Soc. Edin.*, **58**, 841-854 (1936).
- 20) C. Largeau, S. Derenne, E. Casadevall, A. Kadouri, and N. Sellier: Pyrolysis of immature torbanite and of the resistant biopolymer (PRB A) isolated from extant alga *Botryococcus braunii*. Mechanism for the formation and structure of torbanite. *Org. Geochem.*, **10**, 1023-1032 (1986).
- 21) J. W. Moldowan and W. K. Siefert: First discovery of botryococcane in petroleum. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, **1980**, 912-914 (1980).
- 22) L. V. Wake and L. W. Hillen: Nature of hydrocarbon content of blooms of the alga *Botryococcus braunii* occurring in Australian freshwater lakes. *Aust. J. Mar. Freshwater Res.*, **32**, 353-367 (1981).
- 23) S. Okada, M. Murakami, and K. Yamaguchi: Hydrocarbon composition of newly isolated strains of the green microalga *Botryococcus braunii*. *J. Appl. Phycol.*, **7**, 555-559 (1995).
- 24) S. Okada, M. Murakami, and K. Yamaguchi: Characterization of hydrocarbons from the Yayoi strain of the green microalga *Botryococcus braunii*. *Phytochem. Anal.*, **8**, 198-203 (1997).
- 25) S. Okada, M. Murakami, and K. Yamaguchi: Hydrocarbon production by the Yayoi, a new strain of the green microalga *Botryococcus braunii*. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **67**, 79-86 (1997).
- 26) C. Berkaloff, E. Casadevall, C. Largeau, P. Metzger, S. Peracca, and J. Virlet: The resistant polymer of the walls of the hydrocarbon-rich alga *Botryococcus braunii*. *Phytochemistry*, **22**, 389-397 (1983).
- 27) P. Metzger and E. Casadevall: Aldehydes, very long chain alkenylphenols, epoxides and other lipids from an alkadiene-producing strain of *Botryococcus braunii*. *Phytochemistry*, **28**, 2097-2104 (1989).
- 28) P. Metzger and E. Casadevall: Botryals, even C₅₂-C₆₄ aldehydes from aldol condensation, in the A race of the green alga *Botryococcus braunii*. *Tetrahedron Lett.*, **29**, 2831-2834 (1988).
- 29) P. Metzger and E. Casadevall: Ether lipids from *Botryococcus braunii* and their biosynthesis. *Phytochemistry*, **31**, 2341-2349 (1992).
- 30) P. Metzger, Y. Pouet, R. Bischoff, and E. Casadevall: An aliphatic polyaldehyde from *Botryococcus braunii* (A race). *Phytochemistry*, **32**, 875-883 (1993).
- 31) J. Laureillard, C. Largeau, and E. Casadevall: Oleic acid in the biosynthesis of the resistant biopolymers of *Botryococcus braunii*. *Phytochemistry*, **27**, 2095-2098 (1988).
- 32) S. Derenne, C. Largeau, E. Casadevall, and C. Berkaloff: Occurrence of a resistant biopolymer in the L race of *Botryococcus braunii*. *Phytochemistry*, **28**, 1137-1142 (1989).
- 33) M. Grung, P. Metzger, and S. L-Jensen: Primary and secondary carotenoids in two races of the green alga *Botryococcus braunii*. *Biochem. Syst. Ecol.*, **17**, 263-269 (1989).
- 34) M. Grung, P. Metzger, and S. L-Jensen: Secondary carotenoids in the green alga *Botryococcus braunii*, race L, new strain. *Biochem. Syst. Ecol.*, **22**, 25-29 (1994).
- 35) M. Grung, P. Metzger, C. Berkaloff, and S. L-Jensen: Studies on the formation and localization of primary and secondary carotenoids in the green alga *Botryococcus braunii*, including the regreening process. *Comp. Biochem. Physiol.*, **107B**, 265-272 (1994).
- 36) S. Okada, H. Matsuda, M. Murakami, and K. Yamaguchi: Botryoxanthin A, a member of a new class of carotenoids from the green microalga *Botryococcus braunii* Berkeley. *Tetrahedron Lett.*, **37**, 1065-1068 (1996).
- 37) S. Okada, I. Tonegawa, H. Matsuda, M. Murakami, and K. Yamaguchi: Botryoxanthin B and α -botryoxanthin A from the green microalga *Botryococcus braunii* Kawaguchi-1. *Phytochemistry*, **47**, 1111-1115 (1998).
- 38) S. Okada, I. Tonegawa, H. Matsuda, M. Murakami, and K. Yamaguchi: Braunixanthins 1 and 2, new carotenoids from the green microalga *Botryococcus braunii*. *Tetrahedron*, **53**, 11307-11316 (1997).
- 39) I. Tonegawa, S. Okada, M. Murakami, and K. Yamaguchi: Pigment composition of the green microalga *Botryococcus braunii* Kawaguchi-1. *Fisheries Sci.*, **64**, 305-308 (1998).
- 40) V. Delahais and P. Metzger: Four polymethylsqualene epoxides and one acyclic tetraterpene epoxide from *Botryococcus braunii*. *Phytochemistry*, **44**, 671-678 (1997).
- 41) O. Bertheas, P. Metzger, and C. Largeau: A high molecular weight complex lipid, aliphatic polyaldehyde tetraterpenediol polyacetal from *Botryococcus braunii* (L race). *Phytochemistry*, **50**, 85-96 (1999).