

# Application News

## No. 073

### 全有機体炭素測定

## TOCとTGによる微細藻類バイオマスの分析

微細藻類は食料と競合することなく油脂を生産し、他のバイオマス燃料よりも、単位時間・単位面積あたりの生産性が高く、さらに耕作可能地の選択肢が多いという優れた特長を持っています。微細藻類は培養条件により挙動の異なる成長を遂げますが、その含有有機炭素量や無機炭素量の変動を把握することが必要とされ、この炭素成分を測定する際に、全有機体炭素計 (TOC) が活用できます。また、固体試料燃烧装置を使用すれば湿潤態の微細藻類を直接測定でき、熱重量測定 (TG) と併用することで乾燥態の微細藻類中の炭素量を簡単に評価できます。今回は、3種類の微細藻類を測定した例を紹介します。

Y. Ikezawa, M. Tanaka

### 試料

今回の実験には筑波大学 白岩善博教授よりご提供いただいた、ハプト藻類円石藻類の *Emiliana huxleyi* NIES-837 (藻類 A)、ハプト藻類イソクリシス類の *Tisochrysis lutea* (藻類 B)、緑藻クロレラ類の *Chlorella vulgaris* (藻類 C) の3種類の微細藻類を使用しました。

藻類 A~C の株を設定された条件下で約 10 日間培養を行い微細藻類懸濁液を作製しました (図 1)。これらの微細藻類懸濁液を容器に小分けし、遠心分離および洗浄を繰り返し、培地成分を洗浄した後、沈殿部分であるペレット状の培養細胞のみを回収して試料としました (図 2)。

### 分析方法

ペレット状微細藻類試料の全炭素測定は、全有機体炭素計 TOC-L シリーズとそのオプションである固体試料燃烧装置 SSM-5000A を合わせた TOC 固体試料測定システムを使用しました (表 1)。また、水分率の測定は、熱分析計である示差熱・熱重量同時測定装置 DTG-60 による TG 測定結果から評価しました (表 2)。

表 1 TOC-L+SSM-5000A 測定条件

分析計	: TOC 固体試料測定システム (全有機体炭素計 TOC-L <sub>CPH</sub> +固体試料燃烧装置 SSM-5000A)
セル長	: ショートセル
キャリアガス	: 500 mL/min 酸素
TC 酸化方式	: 燃烧触媒酸化 (燃烧温度 900 °C)
測定項目	: TC (全炭素)
検量線	: 炭素量 40 % のグルコース粉末使用による 1 点検量線

表 2 DTG-60 測定条件

分析計	: DTG-60
サンプルパン	: 白金
雰囲気ガス	: 空気
加熱速度	: 20 °C/min
ホールド温度	: 800 °C

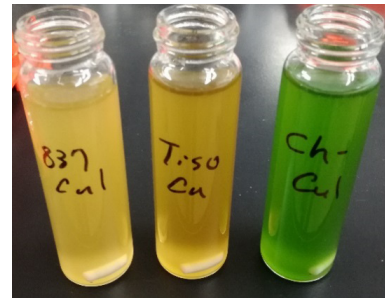


図 1 微細藻類懸濁液 (左から A、B、C)

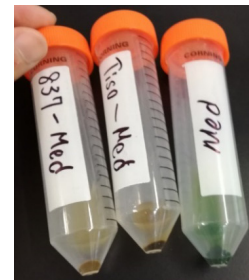


図 2 ペレット培養細胞

### 測定結果

#### (1) ペレット状微細藻類試料の全炭素測定

TOC 固体試料測定システムによる培養細胞測定方法の妥当性を評価するため、ペレット重量と全炭素量の直線性を評価しました。藻類 A~C のペレット細胞に対して、約 20 mg ~100 mg の範囲で複数の重量に分けて測定を行い、ペレット重量と全炭素量の相関図を作成しました。

その結果、図 3 の通りペレット重量に対して全炭素量の関係が良好な直線性を示すことが分かりました。この結果より遠心分離で回収したペレット細胞に含有する炭素量には均一性があり、サンプリングによる炭素量の偏りは起こらない状態であることが分かりました。この相関が得られたことで、ペレット重量を変えても正しい全炭素量を求めることができます。

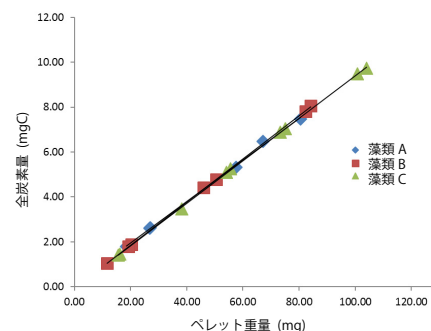


図 3 ペレット重量と全炭素量の相関図

## (2) ペレット状微藻類試料の水分率測定

示差熱・熱重量同時測定装置 DTG-60 は、加熱による脱水、昇華、蒸発、分解、燃焼などの反応による重量変化を測定することで試料の熱特性を知ることができる装置です。

遠心分離で回収した藻類 A~C のペレットをそのまま DTG-60 のサンプルパンに入れて秤量し、室温から 800℃まで上昇させて測定しました。800℃は有機物が十分に燃焼される温度です。藻類 A のペレットを DTG-60 で測定したデータを図 4 に示します。

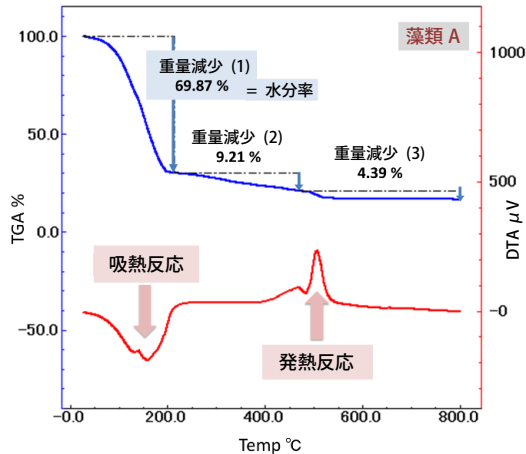


図 4 藻類 A のペレットの DTG-60 測定データ

DTG-60 のグラフの横軸は温度変化、左縦軸は重量変化 (TGA %)、右縦軸は熱量変化 (DTA  $\mu$ V) を示しています。200℃弱までに顕著な重量減少、その後の中温度域と高温度域でも微小ですが重量減少が確認されました。遠心分離で回収した藻類細胞のペレットには、遠心分離で分離しきれなかった水分を含んでいますので、低温域において水分の損失による重量減少 (DTG-60 の測定データ中の「重量減少 (1)」に該当) が起きています。この重量減少分はペレットの持つ水分率として考えられます。中温度域、高温度域での重量減少はおそらく各藻類の乾燥細胞自体の持つ構造や保持している成分に起因する揮発や分解・燃焼が反映されていると考えられます。

藻類 A~C のペレットを測定して得られた DTG-60 測定データから、得られた水分率を表 3 にまとめました。

表 3 藻類 A~C の水分率

藻類	水分率 (%)
A	69.87
B	71.47
C	71.60

## ■ まとめ

### 乾燥培養細胞に含まれる全炭素量の算出

TOC 固体試料測定システムを用いて微細藻類細胞のペレット中の全炭素量を測定し、熱重量測定の結果からペレット中の水分率を求めることができました。測定で得られた各ペレットの全炭素量と水分率の結果から、ペレットを完全に乾燥させた場合の乾燥培養細胞中の全炭素量を算出することができました。各ペレットの全炭素量の測定結果に対して、水分率による換算を行った結果、図 5 の乾燥培養細胞重量と全炭素量の相関グラフが作成できました。

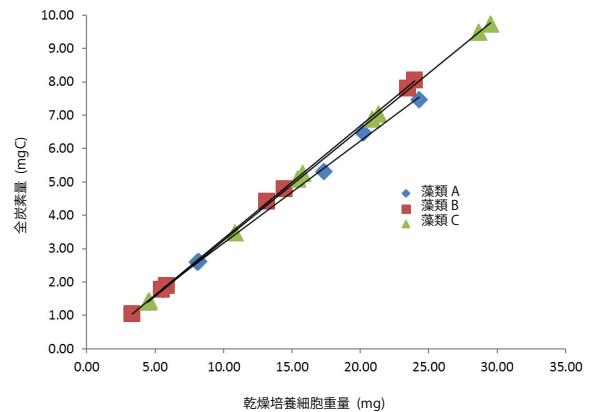


図 5 乾燥培養細胞重量と全炭素量の相関グラフ

微細藻類の培養状況をモニタリングする手段として、従来から乾燥重量法と呼ばれる方法が行われています。乾燥重量法は、微細藻類懸濁液を乾燥させて乾燥細胞の重量を測定して増殖分を評価する方法です。しかしこの方法は、乾燥処理に時間を要することかつ測定精度が低いという課題があります。

今回紹介した TOC 固体試料測定システムと熱重量測定装置を用いた新しい測定方法であれば、微細藻類懸濁液を遠心分離にかけてペレットを回収し、そのペレットを直接測定して全炭素量の情報を、また熱重量測定装置で得られた水分率から乾燥培養細胞分の含有全炭素量を簡単に算出することができます。乾燥重量法と比較して、簡単・迅速だけでなく、選択的に炭素量の増殖分を評価することができるため、より有効な方法として紹介します。

\*1 本アプリケーションニュースは、島津評論 Vol.75、No.1・2、pp.33-39 (2018) を抜粋したものです。