

# 植生から放出される揮発性炭化水素の計測 リーフレベルから群落レベルまでの計測方法の確立に向けて

谷 晃

東海大学開発工学部生物工学科

atani@wing.ncc.u-tokai.ac.jp

## 1. はじめに

植物が生産し放出する揮発性炭化水素 (Biogenic Volatile Organic Carbon, 以下 BVOC とする) の主成分は, イソプレンやモノテルペンなどのテルペン類である。テルペン類は大気中でオゾンやヒドロキシラジカルと反応性が極めて高く, ヒドロキシラジカルとの一連の反応によって局地的なオゾン生成 (Daum et al., 2000) や, オゾンとの反応でピノンアルデヒドなどエアロゾルの凝結核の元となる粒子状物質や過酸化物の生成に関与する (Yokouchi and Ambe, 1985)。最近では, BVOC として放出される炭素量が無視できず, 森林の炭素収支を検討する際, 森林からの有機炭素の放出を加味する必要性が指摘され始めている。例えば, Geron et al. (2002) はコスタリカの熱帯湿潤林で放出される BVOC が純生態系炭素交換量 (NEE) の 10% であると見積もった。また, Guenther (2002) は地球上の年間 BVOC 放出量を炭素換算で 1.2 PgC と見積もった。この見積もりは多くの不確定要素を含むが, 大気中の年間 CO<sub>2</sub> 増加量 (3.3 PgC) やミッシングシンク (1.8 PgC) に対して同オーダーであることは注目に値する。放出される BVOC が大気中で最終的に二酸化炭素に分解されることを考慮すると, 森林の炭素交換量を CO<sub>2</sub> のみで評価することは, 森林の炭素吸収能力を過大評価する危険性を少なからず含む。

これら物質の植物からの放出は温度の上昇とともに高まることが示され, 広く使用されている G93 モデル (Guenther et al., 1993) によると, 葉の温度が 25 から 30 に高まると, イソプレンの放出は 2 倍, モノテルペンの放出は 1.5 ~ 2.5 倍になる。しかし, この推定は短期間のデータから得た式に基づいており, 植物の環境順化のような長期にわたる環境適応反応の予測には利用できない。また, 気温の上昇の主要因である CO<sub>2</sub> 濃度の上昇が植物のテルペン類放出に及ぼす影響は明らかでない。

著者らの研究グループは, 日本および東アジア地域の代表的な森林構成樹種や主要作物からのテルペン類放出が CO<sub>2</sub> 濃度や気温の上昇といった気候変動に対してどのように変化するかを長期の栽培実験にて調べる研究を開始した。本稿では, その根幹技術

である BVOC の計測法に関して, リーフレベルから群落レベルまで解説し, その問題点と技術的課題を探る。

## 2. リーフレベルでの測定

### 2.1 枝チェンバー法

枝チェンバー法 (Branch Enclosure Method) は, 透明フッ素樹脂製の袋を枝葉に被せ, 内部の BVOC をサンプリングする方法である。単に放出物の組成を調べたい場合, 完全に密閉し数分から十数分後に内部ガスを採取してもよい。しかし, より正確に放出速度を求める場合, 通気法を用いる。チェンバー内に清浄空気を常に通気し続けることで, 内部の温度と湿度の上昇を抑え, かつ植物の光合成に必要な CO<sub>2</sub> 濃度を外気並に維持できる。この際, 植物の蒸散量が高く袋の内面に結露が起こると, 凝結水中へ BVOC の溶解が起こりうる。これを防ぐため, より高い通気速度が必要である。通気速度は袋で囲う枝葉の量によって異なるが, 通常 2 ~ 10 L/min である。内部の空気はテフロンファンで適度に攪拌する。あるいは, 小孔を多数配したテフロンチューブを用いて小孔から空気を噴きださせ均一に攪拌する。攪拌の程度は, 湿らせた紙で作った模擬葉を用いて測定した境界層コンダクタンスが十分に高いこと, および可視化した気流の攪拌がほぼ均一であることで確認できる。

ガスの採取は, TENAX 等の吸着剤へ採取する方法が一般的で, 100 ~ 200 mL/min の流速で 5 ~ 10 分間採取する。採取管への採取は, BVOC を濃縮できる効果もある。森林大気の測定では検出される濃度は 0.1 ~ 1 ppbv の範囲であるが, 枝チェンバー内濃度はそれより 1 ~ 2 桁高くなるので, 採取時間は短くてもよい。しかし, ガスクロマトグラフ質量分析器で放出物の同定を行う場合, より正確な質量スペクトルを得るため採取量を増す。BVOC を濃縮採取した採取管は, 実験室にて熱脱着装置を装備したガスクロマトグラフで分析する。採取管を 250 ~ 280 に加熱し, 吸着成分 (BVOC) を熱脱着する。脱着成分は低温に保たれたトラップチューブで再度吸着保持される (クライオフォーカス処理)。トラッ

ブチューブは内径が極めて小さく、再度の加温時に瞬時に熱が均一に上昇するように工夫されている。内部にはTENAX等の吸着剤が少量充填されている。トラップチューブを250~280℃へ加熱し、脱着成分をGCのキャピラリーカラムへ導入する。トラップチューブを用いたクライオフォーカス処理は、その後の加熱脱着が極めて短時間で行われるため、カラム内での化合物の分離が良好である。

## 2.2 リーフキュベット法

リーフキュベット法は、野外での光合成測定に利用される、内部環境を調節可能な携帯用リーフキュベットを用いる。キュベット出口の空気は通常CO<sub>2</sub>分析計へ導かれるが、途中で配管を分岐し、キュベット内空気をサンプリングする。この方法の利点は、光強度や気温を順に変更し、植物のBVOC放出を、気孔開度や光合成速度とともに計測できることである。イソプレンの放出には温度と光強度、モノテルペンの放出には温度が主に影響するが、それら環境要因とBVOC放出の関係付けが容易であり、放出モデルの作成に有効な手法である。広葉用のリーフキュベットを用いる場合、測定対象は1枚の葉の一部(面積6~10 cm<sup>2</sup>)でしかなく、枝チェンバー法より小さい面積しか扱えない。しかし、針葉用、細葉用など様々なキュベットが用意されており、ほとんどの形態の葉で、本方法でBVOCを採取できる。

しかし、高い極性のBVOC、特に酸化物は、キュベット内壁やパッキン、配管などに吸着し、以後の測定に影響する可能性がある(メモリーエフェクト)。著者らはLi-Cor社の携帯用光合成測定装置に付属のリーフキュベットでユーカリのBVOCを採取した場合、吸着力の高い含酸素モノテルペンの一種、シトロネラルが吸着し、内部に残存することを確認した。そのため、後の測定で、シトロネラルを発散しないコナラの測定でもシトロネラルを検出した。含酸素炭化水素を放出する植物では、キュベット内壁や密閉用パッキン部の材質の改良が必要である。現在、当研究室でBVOC測定用改良型リーフキュベットを製作中である。

リーフキュベット法の場合、内部ガスを採取管で採取する方法の他に、陽子移動反応質量分析計(PTR-MS)で直接測定する方法が便利である(Hayward et al., 2004)。光合成など他の生理パラメータと同様にBVOC放出をリアルタイム計測できる。PTR-MSを用いることで、植物の生理反応のオンラインモニタリングが可能となる(谷・伏見, 2005)。

PTR-MSはイオン源、ドリフトチューブ、質量分

析器からなる。ドリフトチューブ内で陽子移動反応を引き起こす主要なイオンはH<sub>3</sub>O<sup>+</sup>イオンである。H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>イオンは、イオン源内部で純水の蒸気がプラズマ放電によってイオン化されることで生成され、ベンチュリー管経由でドリフトチューブへ供給される。ドリフトチューブには電場がかけられており、反応イオンおよびサンプル空気中の分子は加速される。サンプル空気中のガス成分Rのプロトン親和力がH<sub>3</sub>O<sup>+</sup>イオンのそれより高い場合、衝突によって陽子移動反応が起こる。PTR-MSに関する詳細な記述には、Hewitt et al (2003)および谷(2004)の解説がある。

## 3. 林床からの放出測定

林床からのBVOC放出のデータは極めて少ない。しかし、モノテルペンは根でも分泌されるため、林床からも放出される。植物体内に蓄えられたテルペン類はイソプレンを除き高沸点(>150℃)であるため、林床に溜まった落葉落枝中にも長く留まり、それらからもモノテルペン類やその分解物が放出される。

林床からのBVOC放出を測定するには、土壌チェンバーを用いる。土壌呼吸測定用に用いられる土壌チェンバーを応用可能であるが、接ガス部をテフロン等フッ素樹脂素材に変更する必要がある。土壌呼吸測定用に開発された、チェンバーの蓋を自動で開閉できる装置もBVOC測定に利用できる。

測定方法は、閉鎖式と通気式に大別される。閉鎖式では、内部のBVOC濃度の上昇速度から放出速度を求める必要があり、PTR-MSを用いたリアルタイム測定に向く。採取管への濃縮採取には、1回の採取に5~10分間を要するため、内部のBVOC濃度の上昇を測定する本方法には向かない。通気式では、チェンバーに通気口を2つ設け(入り口と出口)、常にチェンバー内へ清浄空気を通気する。出口のガスをサンプリングし、BVOC濃度を求める。出口空気を採取管に吸引しBVOCを濃縮採取するか、PTR-MSを用い直接測定する。

チェンバー内面の材質は吸着を防ぐ意味で、テフロン製が望ましい。しかし、テフロン製チェンバーは高価なため、塩化ビニルやアクリル製のチェンバーを用意し、接ガス面のみテフロンのフィルムで被う方法が都合よい。通気法では、チェンバーにテフロン製隔壁ユニオンを取り付け、ユニオンに接続したテフロンチューブから内部へ清浄空気を送る。

チェンバーは測定の都度、林床に設置するのではなく、設置後はその場所から移動しないほうが良い。設置の際、林床土壌や根に圧力がかかり、過度な放

出を招く場合がある。例えば、土壌間隙の空気が押し出され、その中に閉じ込められていたテルペンがチェンバー内に出てくる場合がある。また、細根が踏圧で切断され、切断面からテルペン類が発散される場合もある。そのため、測定の数日前にチェンバーを設置する。このように、林床からのテルペン類の放出測定は、土壌呼吸測定以上に注意深く行わねばならない。

チェンバー内の環境が長期間外部環境と異なることを避けるため、測定時以外は蓋を開けておく工夫も必要である。特に雨や夜露も測定チェンバーに入る状況が望ましい。その意味で自動開閉式の土壌呼吸測定システムは、林床からのテルペン類放出測定にも都合がよい。自動化が困難な場合は、測定の都度チェンバーの蓋を閉める。その際、上記の踏圧による過度なテルペン放出には注意する必要があり、測定上の工夫が求められる。

#### 4. 群落レベルでの測定

地域規模および地球規模での BVOC 放出を見積もる際、リーフレベルや個体レベルから積み上げた群落放出見積もり量と、群落上で微気象学的に測定した放出量（フラックス）とが一致しない例がしばしばある。これは、リーフレベルでの測定に用いられる葉として、測定しやすい場所にあるものが選ばれるため、全体を代表していないことが一因である。この場合、できるだけ多くの葉を測定し、日陰と日向の葉での BVOC 放出活性の違いを考慮することで、見積もり精度の向上がはかられる。また、階層モデル、ビッグリーフモデルなど、光合成で使われる積み上げモデルを応用した手法も取られる。積み上げた群落放出見積もり量とフラックス測定値が一致しないもうひとつの理由は、BVOC、特にテルペン類の分解 (Atkinson, 1990) がある。フラックス測定での BVOC 採取口は、通常群落トップから数～十数 m 高い場所に設置される。葉から放出された BVOC がフラックス測定用の採取高さ到達するまでに、ある程度の時間がかかる。その滞留の間に分解が起こり、フラックス値は群落放出量を過小評価する。拡散係数から輸送に要する時間を計算し、群落トップから採取高度まで輸送される間の分解量を評価する方法が取られているが、キャノピー内での滞留時間までは推定できない。

上記のような問題は残るが、フラックス測定は現在、群落からの放出を推定する最も信頼性のある手法として用いられつつある。BVOC フラックス測定法は以下の 3 種に大別される。

##### 傾度法

##### 渦集積法

##### 渦相関法

の傾度法は、BVOC サンプルングに際して特別な設備を要しないため、広く用いられている (Tani et al., 2002)。群落上の 2 高度で大気を 30 分間程度連続採取し、2 高度の濃度差に拡散係数を乗じて求める。拡散係数を得るためには、群落上の熱収支を測定する熱収支法、水平方向の風速の鉛直分布から運動量の輸送量を求め、拡散係数を算出する空気力学的方法、が用いられる。最近では、超音波風向風速温度計から求めた顕熱輸送量と 2 高度の気温から、拡散係数を算出する方法も利用される。傾度法の適用に際しては、大気の状態が不安定あるいは中立の条件が必要である。

の渦集積法は上昇、下降気流の BVOC 輸送量を別々にサンプルングする方法である。鉛直風速に比例して採取量を変える手法が理想であるが、技術的に困難を伴う。そのため、簡易渦集積法 (REA 法) が用いられつつある。これは、上昇と下降気流で個別に大気を採取するが、その採取速度を一定とする方法である。メタンのフラックス測定で利用例が多い。高速 (<20ms) で耐久性のある電磁弁、高応答性のマスフローコントローラ (90% 応答が 0.5s 以下が理想) などが必要である。著者の研究室では、上記スペックを満たし、さらに採取管経路を自動で選択するためにマルチポジションバルブを装備した、REA 測定用自動サンプルング装置を開発した。マルチポジションバルブや配管には加温のためのヒーターを配置し、テルペン類の吸着を抑えている。本装置を用いれば、8 本までの採取管を自動で交換でき、測定タワーに上る回数を低減できるとともに、人為ミスを抑えられる。

の渦相関法は、従来の吸着管への大気採取では不可能であったが、最近開発された PTR-MS を用いることで実現性が増してきた。しかし、PTR-MS 測定での時間分解能は最良でも約 1s と、渦相関法用にはまだ満足のものではない。しかし、1s 以上の周期の渦が 80% 以上ある乱れの少ない群落では、利用可能である。これまで、群落から放出されるメタノール、アセトンなどの測定に用いられている。渦相関法は物質濃度の変動量を測定する方法なので、モノテルペン等吸着性のある物質に用いる場合、PTR-MS 内で陽子移動反応が起こるドリフトチューブへ到達するまでの全経路で、吸着を完全に抑える必要がある。加温ヒーターを装備することはもちろんであるが、適切な温度範囲を明確にする基礎実験が必須である。大気湿度が PTR-MS の測定感度に及ぼす影響 (Tani et al., 2004) や、陽子移動反応の際

起こるイオン解離 (Tani et al., 2003) についても留意する必要がある。

PTR-MS での測定値の低い時間分解能を補う方法に、高周波まで測定可能な温度データの変動性との近似を利用する方法 (バンドパスコバリアンス法の一つ) が検討されている。BVOC の濃度変動が顕熱の変動と相似であると仮定し、PTR-MS で測定できない高周波数側のデータを推定する。PTR-MS の測定値に対するこの手法の適用は 2005 年 1 月にオーストリアで開催された第 2 回 PTR-MS 会議で発表された。今後の研究展開を待ちたい。

## 5. まとめ

本稿では、イソプレンとモノテルペンを主とする生物由来揮発性炭化水素 (BVOC) の計測技術の現状を解説し、問題点を述べた。陽子移動反応質量分析計 (PTR-MS) が開発され利用できるようになったことで、測定自由度が大幅に高まり、これまで不可能であった VOC の渦相関法による測定の可能性まで見えてきた。今回、個体レベルの測定手法について記述しなかったが、これは個葉レベルと群落レベルの間をつなぐ重要な計測である。しかし、大掛かりな装置を要し、BVOC の吸着や溶解等のロスへの対策の難しさから、精度よい測定が可能なシステムは見当たらない。今後の研究開発が必要な部分である。

## 謝辞

本研究は、平成 15 年度住友財団の環境研究助成および平成 15 年度、16 年度新技術開発財団植物研究助成を受けて行った。ここに謝意を表する。

## 文献

Atkinson, R., 1990 : Gas-phase tropospheric chemistry of organic compounds: a review. *Atmos. Environ.*, **24A** (1), 1-41.

Daum, P. H., Kleinman, L. I., Nunnermacker, L. J., Nunnermacker, L. J., Lee, Y. N., Springston, S. R., Newman, L., Weinstein-Lloyd, J., Valente, R. J., Imhoff, R. E., Tanner, R. L. and Meagher, J. F., 2000 : Analysis of O<sub>3</sub> formation during a stagnation episode in central Tennessee in summer 1995. *J. Geophys. Res.*, **105(D7)**, 9107-9119.

Geron, C., Guenther, A., Greenberg, J., Loeschner, W. H., Clark, D. and Baker, B., 2002 : Biogenic volatile organic compound emissions from a lowland tropical wet forest

in Costa Rica. *Atmos. Environ.*, **36**, 3793-3802.

- Guenther, A., 2002 : The contribution of reactive carbon emissions from vegetation to the carbon balance of terrestrial ecosystems. *Chemosphere*, **49**, 837-844.
- Guenther, A., Zimmerman, P. R. and Harley, P.C., 1993 : Isoprene and monoterpene emission rate variability: model evaluations and sensitivity analysis. *J. Geophys. Res.*, **98** (D7), 12609-12617.
- Hayward, S., Tani, A., Owen, S. and Hewitt, C. N., 2004 : Online analysis of volatile organic compound emissions from Sitka spruce (*Picea sitchensis*). *Tree Physiol.*, **24**, 721-728.
- Hewitt, C. N., Hayward, S. and Tani, A. 2003 : The application of proton transfer reaction-mass spectrometry (PTR-MS) to the monitoring and analysis of volatile organic compounds in the atmosphere. *J. Environ. Monit.*, **5**, 1-7.
- IPCC, 2001 : Atmospheric chemistry and green house gases, In *IPCC third assessment report - climate change 2001: The Scientific Basis*. IPCC, Geneva, pp. 238-287.
- Tani, A., Nozoe, S., Aoki, M., Hewitt, C. N., 2002. Monoterpene fluxes measured above a Japanese red pine forest at Oshiba plateau, Japan. *Atmos. Environ.*, **36(21)** : 41-52.
- Tani, A., Hayward, S., Hewitt, C. N. 2003. Measurement of monoterpenes and related compounds by proton transfer reaction - mass spectrometry (PTR-MS), *Int. J. Mass Spectrom.*, **223-224**: 561-578.
- 谷 晃、2003 . 揮発性有機化合物の新規高速分析法 陽子移動反応質量分析計 (Proton Transfer Reaction Mass Spectrometry) 、大気環境学会誌、**38(4)**: A35-A46.
- Tani, A., Hayward, S., Hansel, A., Hewitt, C. N. 2004. Effect of water vapour pressure on monoterpene measurements using proton transfer reaction - mass spectrometry (PTR-MS), *Int. J. Mass Spectrom.*, **239**: 161-169.
- 谷 晃, 伏見 嘉津裕, 2005 . 温度と光強度がミツマタのイソプレン放出におよぼす影響 農業気象, 印刷中 .