

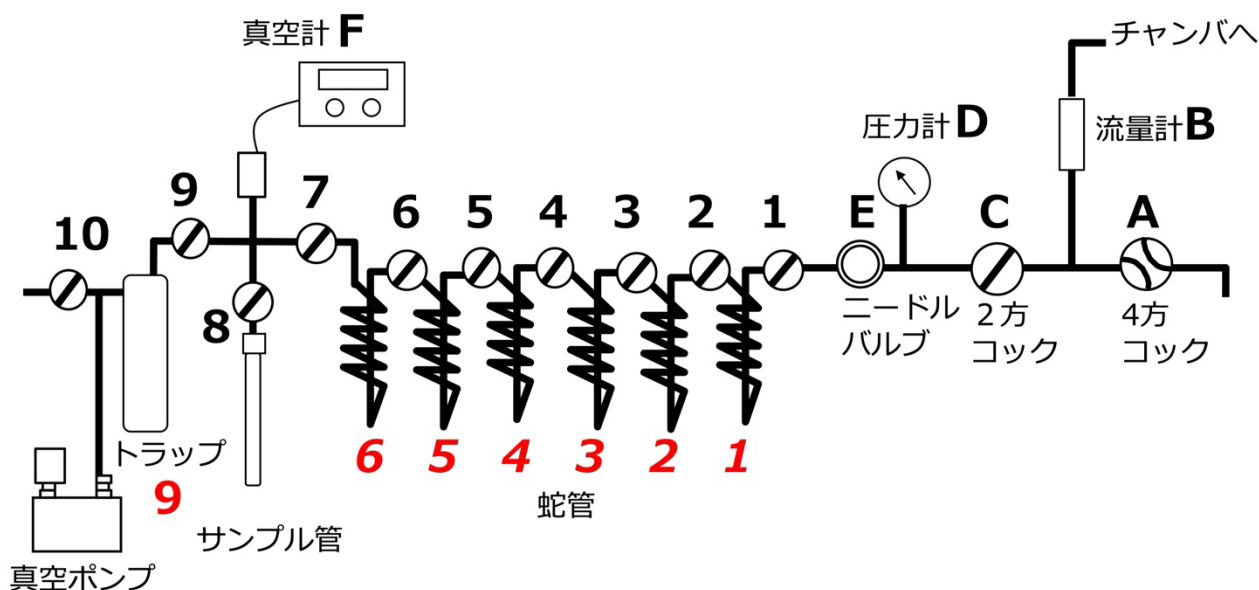
## 葉肉コンダクタンス測定の手順

2020 年 12 月 9 日 文責：半場祐子

2022 年 5 月 18 日 改訂：安井祐太郎

2026 年 2 月 2 日 改訂：奥川颯馬 半場確認

1.



### 1 装置の立ち上げ

#### <真空ラインのチェックとメンテナンス>

■しばらく使わなかったときは、真空ラインのコックをすべて取り外し、コックの外側と真空ラインの中に付着しているグリースを取り除く。コックのOリングを取り替え、グリース（真空ライン専用の Apiezon N-グリース）を薄く塗って真空ラインに取り付ける。

■overnight で真空ラインをポンプで引いておく。

#### <ガス交換装置>

光合成測定を行うための立ち上げを行う（別紙）。

#### <真空ライン>

1. コック 10（リークコック）を CLOSE、真空ポンプのスイッチ ON。
2. コック 9, 7, 6, 5, 4, 3, 2 を OPEN（1 は絶対に開けない）。
3. 真空計 F の値が下がって行くのを確認（ $1.5 \times 10^{-3}$  torr 程度）。

### 3 光合成の測定手順

1. チャンバ出口 (Sample ガス) と入口 (Reference ガス) の  $\text{CO}_2$  濃度の差がなるべく大きくなるようなチャンバを選ぶ；測定精度が向上する。
2. 4方コック A を sample 側とし、光合成が安定するまで待つ。
  - ・チャンバ出口と入口の  $\text{CO}_2$  濃度の差がなるべく大きくなるように（少なくとも  $20 \mu\text{l l}^{-1}$ ）流量計 B で流量を調節。重要；この差が大きいほど測定精度は高くなる。
  - ・葉温が  $25\text{--}26^\circ\text{C}$ ，VPD が  $1.4\text{kPa}$  以下かつチャンバが結露しないよう，かつ葉をはさんでいるときのチャンバ出口の  $\text{CO}_2$  濃度が  $400 \mu\text{l l}^{-1}$  になるように調節。
3. 光合成速度のためのパラメータをファイルに入力し（Sample ガス；チャンバ出口の  $\text{CO}_2$  分圧、葉を通したガスのこと）、4方コック A を reference 側\*に切り替える。
4. 真空ラインのコック 9、7、6、5、4、3、2 が OPEN しているのを確認。
5. 二方コック C を Line 側（真空ライン側）に切り替え、すばやくコック 1 を OPEN。
6. 圧力計 D の値が 0 付近であることを確認。
7. 流量計 B の流量が光合成測定時と同じになるようニードルバルブを調節する（重要）。真空計 F が  $1 * 10^{-1} \text{ torr (10torr)}$  付近を指示していることを確認する。5 分程度待つ。
8. 蛇管 1，2，3 にドライアイスエタノールのトラップをつけ、蛇管 4，5，6 に液体窒素のトラップをつけ、ポンプ側の大トラップ 9 に液体窒素をつける。
9. 真空計 F と流量計 B の数値が変化していないのを確認、表 1 の値を参考に流量に応じて一定時間待つ。500mL/min の流量であれば、6 分待つ。
10. コック 1 を CLOSE、すばやく 2 方コック C を IRGA 側に切り替える。
11. 4 方コックが Reference 側であることを確認し、パラメータをファイルに入力する（Reference ガス；チャンバ入口の  $\text{CO}_2$  分圧、葉を通していないガスのこと）。
12. 4 方コックを Sample 側に切り替える。光合成が安定するまで待ち、ファイルにパラメータを入力する（こちらは Sample ガス、一回のサイクルで 2 回データが取れる、どちらも使ってもよい）。
13. 3 分待ち、真空計 F が LO を指示するのを確認。
14. コック 4 を CLOSE（ドライアイスエタノールをつけた蛇管を遮断する）蛇管 1，2，3 のドライアイスエタノールのトラップをはずし、トラップの中身をかきまぜる。
15. コック 7 を CLOSE、蛇管 4，5 の液体窒素のトラップをはずし、ドライアイスエタノールに付け替える（蛇管 6 は液体窒素をつけたまま）。
16. 5 分待つ。蛇管 6 のトラップの液体窒素の液面が下がらないように適宜追加。
17. コック 7 を OPEN，1 分待って真空計 D が LO まで下がるのを確認。
18. コック 7 を CLOSE，コック 6 を CLOSE。
19. 蛇管 4，5 のドライアイスエタノールのトラップをはずし、蛇管 6 の液体窒素をドライアイス

エタノールに付け替えて 5 分待つ。

20. 待っている間にコック 8 にガラス管（還元銅 0.1g を測って入れておく）をセットしコック 8 を OPEN。真空計 F が LO まで下がるのを確認。
  21. コック 9 を CLOSE、コック 7 を OPEN、真空計 F が 30torr 前後になるのを確認。この値が低すぎる場合は、CO<sub>2</sub> の収集に失敗している。
  22. ガラス管 8 に液体窒素のトラップをつけ（ガラス管の底の部分が浸かればよい）、2 分待つ。ガラス管に CO<sub>2</sub> が集まっているのを確認する（白い輪ができる）。真空計 F の値が  $1.5 \times 10^{-3}$  torr 程度（この桁になったらよい）まで下がるのを確認。
  23. コック 9 を OPEN、真空計 F の値が  $1.5 \times 10^{-3}$  torr 程度まで下がるのを確認し、コック 8 を CLOSE、バーナーでガラス管を封じる（やけど注意）。
  24. ガラス管をほうろうのトレイに入れる。
  25. コック 9、7、6、5、4、3、2 をすべて OPEN。
  26. トラップをすべてはずす。
  27. 蛇管および大トラップをドライヤーで熱して水分をとばす。キムタオルなどで覆いながら熱風を送ると乾きやすい。
  28. 真空計 F の値が下がっていく（ $1.5 \times 10^{-3}$  周辺）のを確認。
- ★一回の測定作業に必要な時間は慣れれば 30 分程度。

### 3 終了操作

2. 窒素と 5%CO<sub>2</sub> のボンベのコックを CLOSE。
3. マスフローコントローラの値がゼロ近くになるのを確認してからスイッチ OFF。
4. 恒温槽、LI-7000 本体のスイッチ、LI-610 のスイッチ、レコーダ、チャンバのファン、冷却用ファン、ソプのスイッチ OFF。
5. チャンバのふたをあけておく。
6. 真空計 D の値がある程度下がったら真空ラインのコック 9 を CLOSE、空ポンプのスイッチを OFF にしてコック 10 を OPEN、空ラインの大トラップに空気を入れてからふたたび CLOSE
7. 真空計 D のスイッチ OFF。
8. ボンベの栓がすべて CLOSE しており、すべての機器の電源が OFF になっているのを確認する。おわり。

### 4 N<sub>2</sub>O → N<sub>2</sub> の還元

N<sub>2</sub>O は大気中に 1%程度含まれている。CO<sub>2</sub> と質量数が同じであるため、0.23%程度同位体比に影響する。還元銅 とともに燃焼させ、N<sub>2</sub> に還元することが必要である。

1. 還元銅を入れて封じたガラス管からサンプル名を記入したテープをはがし、順番が分かるように並べておく。
2. ガラス管をステンレスのトレイに並べ、マッフル炉に入れる。
3. 400℃で3時間加熱するようにセットする。
4. ガラス管が十分に冷却したら、もう一度サンプル名を記入したテープを貼る。順番を間違えないように注意する。

-----

\* 気体の流量とトラップ時間との関係

流量が 400 mL min<sup>-1</sup> 以下では値が不正確になることがある

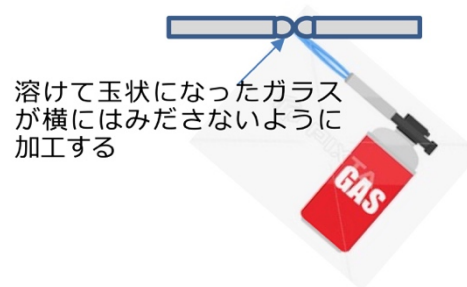
表 1

|                         |      |      |      |      |      |      |      |      |      |
|-------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 流量 mL min <sup>-1</sup> | 300  | 400  | 500  | 600  | 700  | 800  | 900  | 1000 | 1100 |
| トラップ時間 min              | 10   | 7.5  | 6    | 5    | 4.3  | 3.8  | 3.5  | 3.5  | 3    |
| 流量 mL min <sup>-1</sup> | 1200 | 1300 | 1400 | 1500 | 1600 | 1700 | 1800 | 1900 | 2000 |
| トラップ時間 min              | 2.8  | 2.5  | 2.3  | 2.3  | 2    | 2    | 1.8  | 1.8  | 1.5  |

\*\* ガラス管の準備



ガラス管切り

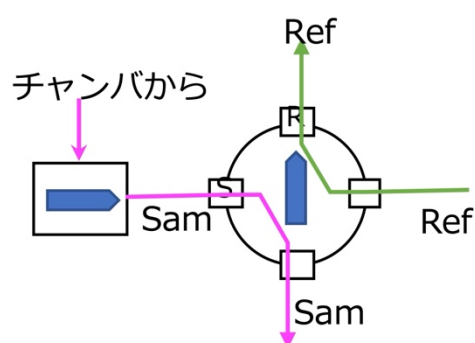


1. 直径 60mm 長さ 1500mm の耐熱ガラス管（硼珪酸ガラス・標準管・肉厚 2.4mm）を和研薬から購入する（ネットショップ不可）。
2. ガラス管切りで半分の長さ（750mm）のところにクラックを入れ、2 つに折る。
3. その半分（375mm）の長さのところにマジックで印をつける。
4. ガスバーナー（炎が細く、高温になるものが良い）で印をつけたところを熱して封じ、2 本のガラス管を作る。溶けたガラスがはみださないよう、丁寧に仕上げる（右図）。**重要：変形やガラスのはみ出しがあると、測定装置にセットできず、測定できなくなる。**
5. 封じた反対側の端に 30 秒ほど炎をあてて、滑らかにする。
6. 仕上がったガラス管をマッフル炉で 400℃、3 時間焼く（ガラス管に付着している有機物を取り除くため）。
7. （測定直前）還元銅を 0.1g（銅チップ約 22 本）入れ、パラフィルムで封をしておく。

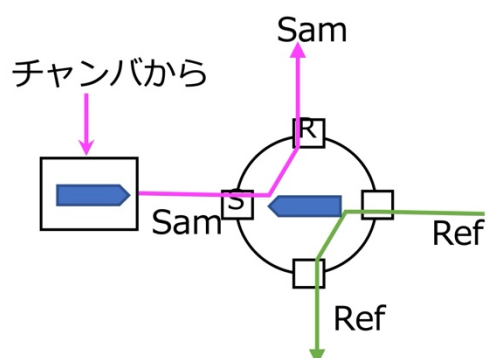
## \*\*バルブの接続状態

真空ラインにガスを送るときは、四方コックは sample 側でもガスの収集はできる。ただし、reference 側にしておくと、CO<sub>2</sub> の収集中にも Li-7000 での reference ガスの計測ができる。

2方コック：IRGA側  
4方コック：R側  
RefガスがLi-7000で計測される



2方コック：IRGA側  
4方コック：S側  
SamガスがLi-7000で計測される



2方コック：真空Line側  
4方コック：R側  
Samガスが真空ラインに送られる

