

KIT システムによる光合成測定—LI6262を使用—

2015.12.3 半場

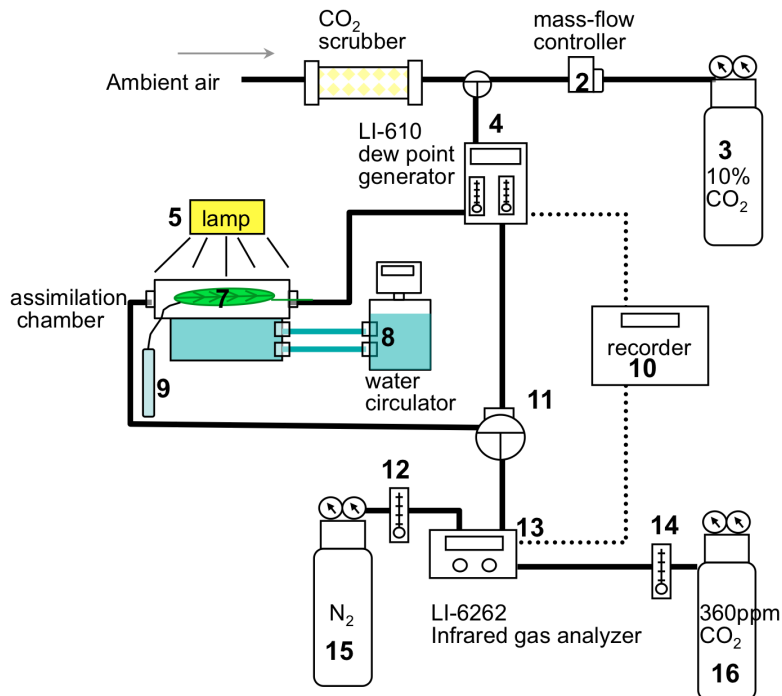


図1 KIT システムの全体

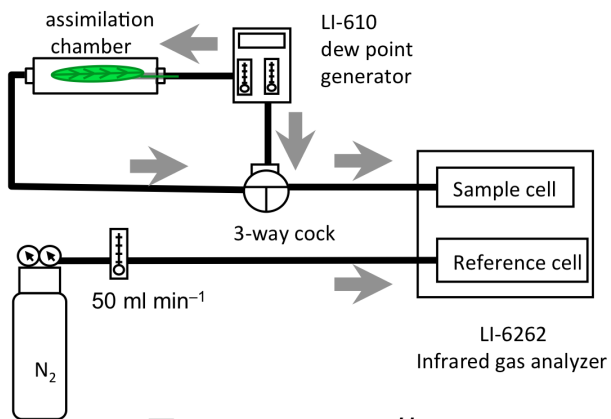


図2 LI6262への配管



図3 Differential modeでの配管

(1) KIT システムの概要

1) LI6262 の Ref セルには常に CO₂、H₂O とともにゼロのガス(乾燥 N₂ ガス)を流している(図2)。この方法は LI6262 のマニュアル 4-5 に記載されている。ゼロガスの流量は 50 ml min⁻¹。配管の方法は Differential Mode であるが(図3)、実質的には Absolute Mode での測定となっている。

2) チャンバに入る空気 Air(in)は、CO₂ 濃度を調節し、さらに Li-610 を通して水蒸気を加えたものである(図1)。コック 11 を切り替え、LI6262 の Sam セルに流す。

3) チャンバから出た空気 Air(out)も同様に、コック 11 を切り替え、LI6262 の Sam セルに流す。

4) 光合成を測るときは、Sam セルに流した Air(in)と Air(out)の空気の CO₂、H₂O の差をもとに計算する。Air(in) も Air(out)も水蒸気を含んでいるため、Sam セルと Ref セル(乾燥 N₂ ガス)の水蒸気分圧に差が生じ、その結果 LI6262 の計測値である CO₂ モル分率は真の値よりも少なく計測される(水蒸気のモル数が大気に追加され、分母である大気のモル数が増加するため)。したがって、水蒸気の追加分を補正する必要がある(補正後は、CO₂ モル分率は増加する)。これは Dilution effect とよばれるものである。Dilution effect は Ref セルと Sam セルの水蒸気量の差に依存するため、KIT システムでは Air(in)と Air(out)それぞれについて Dilution effect を補正する必要がある。

★(参考)Li-6400 システムでは、Ref セルに Air(in)を、Sam セルに Air(out)を流しており、KIT システムとは異なり、LI6262 における Differential mode での測定に相当する。Li-6400 では、光合成による Dilution effect は Air(in)と Air(out)の水蒸気量の差に依存する。空気の流量を体積流量ではなくモル流量であらわした場合、葉面積あたりの光合成速度 A (mol m⁻² s⁻¹)は次の式で計算される(von Caemmerer et al. 1981 式 B(7)):

$$A = \frac{u_e}{s} \left(C_e - C_o \frac{1-w_e}{1-w_o} \right) \quad (1-1)$$

ここで、 u_e はチャンバに入る空気のモル流量 (mol s⁻¹)、 w_o と w_e はチャンバの出口と入口の空気の水蒸気分圧 (mol mol⁻¹)、 C_o と C_e はチャンバの出口と入口の空気の CO₂ 分圧 (mol mol⁻¹)、 E は蒸散速度 (mol m⁻² s⁻¹) である。また、蒸散速度は次の式で表される。

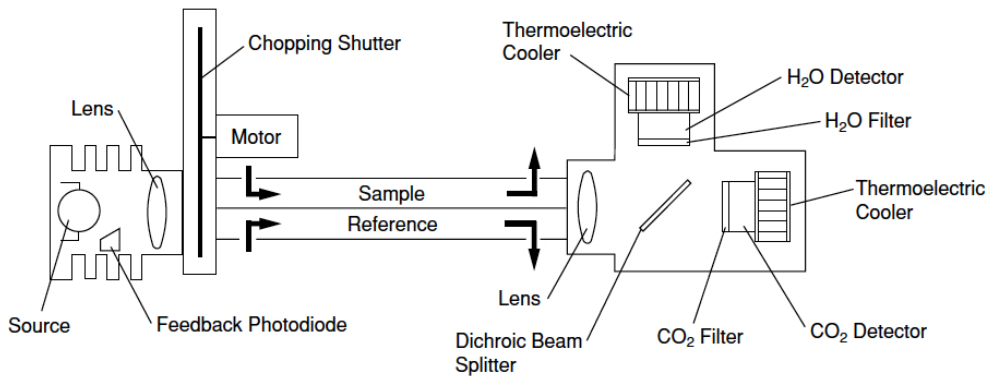
$$E = \frac{u_e}{s} \left(\frac{w_o - w_e}{1 - w_o} \right) \quad (1-2)$$

(2) LI6262 システムによる計測原理 (日本環境計測(株) LI6262 マニュアルを改変)

Section3 Theory of Operation

3.1 General Description

LI-6262 は NDIR と呼ばれる非分散赤外線ガス分析計である。2 つのセルを通しての赤外線吸収量の差を計測することで、CO₂ と H₂O を計測するものである。Ref セルには既知濃度の CO₂ と H₂O を含むガスを流し、Sam セルには未知濃度のガスを流すためのセルである。光源から Optical Bench(光学基台)までの光路空間は密閉されており、Mg(ClO₄)₂ とソーダライムを使って、CO₂ と H₂O の除去を行っている。セルを通過した IR は Dichroic Beam Splitter によって、CO₂ 検出器と H₂O 検出器の両方に分光されている。



150nm バンドパスフィルターを使って、CO₂ の吸収波長である 4.26μm の光を検出器に届けている。また、50nm バンドパスフィルターを使って、H₂O の吸収波長である 2.59μm の光を検出器に届けている。これらのフィルターは要求される波長以外の IR を効果的に拒絶し、多種の IR 吸収ガスによる影響を除去している。フィルターは熱的安定性のために検出器の直上に設置されている。

CO₂ のノイズレベル: 350ppm、1 秒平均で 0.3ppm(peak to peak) 350ppm 0.1 秒平均で 1.0 ppm(peak to peak)

H₂O のノイズレベル: 1 秒平均のとき 0.002kPa~2.0kPa 0.1 秒平均のとき 0.006kPa~

ノイズレベルを下げたい場合は応答速度が犠牲になるが、4 秒平均時には 50%ノイズレベルが下がる。

3.2 Calculating Gas Concentrations

LI-COR ガス分析計は固体センサーを検出部に用いており、その働きは量子数カウンターと同様である。センサーのレンジを越える程度の光子が検出器に入ってくると信号出力 v は光子の数に比例する。出力電圧 V は CO₂ モル分率の計算に使用されるもので、Sam セルから出る光子を検出器がとらえた時の信号出力 v_s と Ref セルから出る光子を検出器がとらえた時の信号出力の差 v_r に比例する。

$$V = k (v_r - v_s) \quad 3-1$$

v_r は一定になるように電子回路によりコントロールされているので $K = k v_r$ とおくと式 3-1 は以下のように定義できる。

$$V = K \left(1 - \frac{v_s}{v_r}\right) \quad 3-2a$$

Absolute mode では Ref セル内部が CO₂ フリーになるので光子吸収による減少がなくなり v_r が最大になる。Sam セルの出力 v_s は CO₂ が多く含まれるほど減少する。透過率を τ とおき、吸収率を A とおくと、式 3-2a は

$$V = K (1 - \tau) \quad 3-2b$$

$$V = KA \quad 3-2c$$

K は機器固有の値なので、付属のキャリブレーションシートに定数として記載されている。

式 3-2-c は分析計の出力電圧が吸収量に比例することを示している。しかし吸収量は CO₂ モル分率に対してリニアではない関係にある。図 3-1 にこの関係を示す。Factory Calibration は、何種類もの標準ガスに対する電圧出力 V を記録することで、機器固有の 5 次式を決定している。(H₂O に対しては 3 次式)。この校正は、Ref セルが CO₂ フリーの状態でやっている。

$$F(V) = a_1 V + a_2 V^2 + a_3 V^3 + a_4 V^4 + a_5 V^5 \quad 3-3$$

式 3-3 の各係数は付属のキャリブレーションシートに定数として記載されている。なお、この式は Factory Calibration が実施されたときの状態(気温、大気圧、Ref セルが CO₂ フリー)と同じ条件の時に有効である。経

験的に絶対温度はガス濃度にリニアに影響し、圧力は出力 V にリニアに影響する。Ref セルに zero ガスを流している状態(Absolute mode)でのガス濃度 C と出力電圧 V の関係は以下のように表現される。

$$C = F \left(V \frac{P_0}{P} \right) \frac{T}{T_0} \quad 3-4$$

P: セル内部の圧力(大気圧)kPa、 P_0 : 標準大気圧(101.3kPa) ※Factory Cal 時の大気圧、T: IRGA(機器)の温度(°Cまたは K)、 T_0 : IRGA 標準温度(°Cまたは K) ※Factory Cal 時の温度 である。

Differential Mode では、式 3-4 は Ref セルに存在する CO₂による影響により影響を受ける。そのゲイン G とすると

$$G = 1 - V_r / K \quad 3-7$$

Sam セルの CO₂ モル分率 C は、次のようにあらわされる:

$$C = F \left[(VG + V_r) \frac{P_0}{P} \right] \frac{T}{T_0} \quad 3-8$$

3.3 Calculating CO₂ Concentration

Differential Mode の場合、CO₂ モル分率(FCT22: $\mu\text{mol mol}^{-1}$)は式 3-8 から求めることが出来る。Ref ガスの濃度 C_r は FCT59 で $\mu\text{mol mol}^{-1}$ の単位で入力できる。水蒸気を含んでいる場合には補正が必要である(Section 3.5、3.6)。

3.4 Calculating H₂O Concentration

FCT32 で表示する水蒸気モル分率 w (mmol mol^{-1})は式 3-8 と同様な式で表すことが出来る。しかし、圧力依存性は式 3-12 での扱われ方とは異なっている。式 3-12 では P_0/P であるが、水蒸気の場合には経験的に $(P_0/P)^{0.9}$ となる。従って、

$$w = F_w \left[(VG + V_r) \left(\frac{P_0}{P} \right)^{0.9} \right] \frac{T+273}{T_0+273} \quad 3-12$$

ここで T: IRGA(機器)の温度(°C)、 T_0 : IRGA 標準温度(°C)。この式を V について解くと

$$V = F_w^{-1} \left[w_r \left(\frac{T+273}{T_0+273} \right) \right] \left(\frac{P_0}{P} \right)^{0.9} \quad 3-13$$

計算速度を上げるために以下の近似式を用いる。

$$\left(\frac{P_0}{P} \right)^{0.9} \cong \left(\frac{P_0}{P} \right) 0.8845 + 0.1089 \quad 3-14$$

FCT38 の水蒸気圧 e(kPa)は水蒸気モル分率 w (mmol mol^{-1})と全圧 P(kPa)から計算できる。

$$e = \frac{wP}{1000} \quad 3-15$$

FCT38 の露点温度 T_d (°C)は List(1966)が作った Goff and Gratch(1946)のデータに合う式により計算できる。
-50°C~50°Cの温度範囲における飽和水蒸気圧の式である。

$$Td = 242.62z / (7.6448 - z) \quad 3-16$$

ここで $z = \log_{10}(e/0.61083)$ 、e は水蒸気圧(kPa)である。

3.5 Pressure Broadening Due to Water Vapor and other gases (LI6262 および LI-6400 マニュアルより)

水蒸気は以下の3つの方法でCO₂の検出に影響を与える。1)H₂OのIR吸収波長がCO₂のIR吸収波長に重なっている。2)希釈効果 dilution effect 3)圧力による broadening。1)に関しては慎重な波長とフィルターの選択で仮想的に防げる。2)は3.6章で述べる方法で補正できる。3)に関しては問題が多い。

気相によるIRの吸収は光エネルギーが分子の振動や回転エネルギーに誘導されることで生じている。このようなエネルギー準位の変化は分子間の衝突によって引き起こされ、圧力が上昇するとその回数も増加する。ガスと分子機構に関する力学的法則により、吸収帯幅は圧力と共に増加する。

吸収帯の拡張は、全てのガスにおいて同じように起きるものではない。対称型の分子構造のガスに対するこの効果の方が、非対称型のそれに比較して大きい。この効果は平衡圧 (equivalent pressure)あるいは効果圧 (effective pressure)P_e の概念に含まれている。平衡圧 P_e は次のように定義される:

$$P_e = a_1 p_1 + a_2 p_2 + \dots$$

ここで a_i は窒素(a_{N2}=1)に対する圧力による broadening の weighting factor である。

水蒸気圧 e と乾燥ガス圧 P_d で構成された単純な空気を考えると、全圧 P は

$$P = P_d + e$$

これをモル分率単位に直すと

$$1 = X_d + X_w \tag{3-18}$$

X_d は乾燥ガスのモル分率、X_w は:水蒸気モル分率(=e/P)である。

平衡圧 P_e は $\sum a_i p_i + a_w e$ と示される。理論的には P_e は CO₂ 分圧と共に変化するが、CO₂ 分圧は非常に小さいので無視出来る。従って他の構成ガスが一定なら平衡圧 P_e は以下のように定義できる。

$$P_e = a_d P_d + a_w e$$

$$P_e = P (a_d X_d + a_w X_w) \tag{3-19}$$

ここで、P_d は乾燥ガスの分圧の和、a_d は乾燥空気の weighting factor である。Li-COr では CO₂ と H₂O を含んだ空気を用いてすべての分析器のキャリブレーションを行っており、標準的な状態では a_d = 1 である。式 3-19 に 3-18 を代入して、

$$P_e = P[1 + (a_w - 1) X_w] \tag{3-20}$$

a_w の値は文献値とは異なる; 文献では窒素を標準としているのに対して乾燥空気を標準としているからである。a_w は経験的に、乾燥空気に対して 1.5 であるとされている。a_w は FCT78 により LI-6262 に入力できる。

式 3-20 は窒素を基準とし、水蒸気や酸素などの他種のガスを変動要素としても適用できる。式 3-20 をより一般的な形にすると

$$P_e = P[1 + (a_w - 1) X_w + \sum (b_i - 1) X_i] \tag{3-21}$$

現時点では式 3-20 は LI-6262 で使われているが、3-21 は使われていない。

LI-6262 では、式 3-20 をコンパクトにすると、

$$P_e = P \chi(X_a) \tag{3-22}$$

ここで

$$\chi(X_a) = 1 + (a_w - 1) X_w$$

である。a_w = 1.5 を代入すると(3-22)は次のように書ける、

$$P_e = P (1 + 0.5X_w) \tag{3-22a}$$

ここで、X_w は水蒸気のモル分率 (mol/mol) である。これは broadening の効果を補正するために CO₂ の校正関数として組み入れられている。LI-6400 では、さらに酸素を考慮した次の式が補正式として使われている。

$$P_e = P (1 + 0.5X_w - 0.1X_o) \tag{3-22a}$$

ここで、 X_0 は酸素のモル分率 (mol/mol) である。

CO₂ 校正関数の式 3-4 は経験的に得られているが、IR 吸収ガスの濃度が小さく、かつ光路が短いという条件の下において、non overlapping line approximation と呼ばれる相似則からも導くことができる (Wolfe and Zissis, 1978)。相似則とはある条件下での吸収の計測が、他の条件の時にも当てはまることを示すものである (Jamieson, et.al. 1963)

$$A/P = g(u/P) \quad 3-23$$

A: 吸収帯の全量、P: 全圧 (kPa)、u: 吸収ガス総量 (mol m⁻²) = ρL 、 ρ : モル密度 (mol m⁻³)、L: 光路長 (m)
g: general unspecified function。理想気体の法則より、吸収ガスのモル密度 ρ は

$$\rho = p/(RT) = XP/(RT) \quad 3-24$$

p : 吸収ガスの分圧、 X : 吸収ガスのモル分率 (mol absorber/mol air)

u: 吸収ガス総量 (mol m⁻²) = ρL であるので、3-24 は次のように書ける。

$$u/P = XL/(RT) \quad 3-25$$

式 3-25 を式 3-23 に代入し、定数 L と R を関数 h に書き換えると

$$A/P = h(X/T) \quad 3-26$$

モル分率 X に関して解くと

$$X = h^{-1}(A/P)T \quad 3-27$$

ところで、LI6262 では電圧出力 V は吸収率 A と比例し

$$V = KA \quad 3-28$$

3-28 を 3-27 に代入すると、absolute mode では、モル分率 C (μ mol/mol) と電圧出力 V との関係は次のようになる (式 3-4 と同じ):

$$C = F \left(V \frac{P_0}{P} \right) \frac{T}{T_0} \quad 3-29$$

定数 K、 P_0 、 T_0 は関数 F に含まれており、 $P_0 = 101.3$ kPa、 $T_0 =$ 校正時のケルビン温度

式 3-29 は LI-6262 の重要な校正関数である。式 3-22 を 3-23 に代入すると CO₂ の校正関数は

$$V_r = \chi(w_s) F^{-1} \left[\frac{C_r}{\chi(w_r)} \left(\frac{T_0 + 273}{T + 273} \right) \right] \frac{P_0}{P}$$

$$G = 1 - V_r/K \quad 3-30$$

$$C = \chi(w_s) F \left[\frac{VG + V_r}{\chi(w_s)} \left(\frac{T + 273}{T_0 + 273} \right) \right] \frac{P_0}{P}$$

以上のように、水蒸気補正は理論的な方法で行われている。

3.6 Dilution Corrections(重要)

水蒸気による希釈効果に対する補正を LI6262 で行うことができる。全圧が一定だと仮定したとき、多成分混合ガスの中からある成分を取り除くと、他の全ての成分の分圧は増加する。例えば、一定圧力のもとで水蒸気が除かれるとき、以下の式に示すようにその他の成分の全ての分圧が増加する。

$$P = \frac{\sum P_i^{wet}}{1-w} \quad 3-31$$

w: 水蒸気モル分率 (mol/mol) P_i^{wet} : 水蒸気を除く前の(湿っている)その他の成分ガスの分圧。個々の成分に関して式 3-31 は

$$P_i^{dry} = \frac{P_i^{wet}}{1-w}$$

3-32

CO₂とH₂Oを両方計測している場合、SamセルとRefセル間における水蒸気モル分率の違いから生じるCO₂モル分率の計測値の補正が必要な場合になることが多い。RefガスかSamガスのどちらか一方から水蒸気が除去されると、CO₂モル分率に明確な違いが生じる。この希釈効果はFCT76のVapor FlagがBndBrd, Dil→RefにセットされているときSamガスのCO₂モル分率がRefガス内の水蒸気モル分率w^{ref}(mol/mol)に対して補正される(C_s^{wr})。

$$C_s^{wr} = C_s^{ws} \frac{1-w_{ref}}{1-w}$$

3-33 (重要)

C_s^{ws}はSamセルの水蒸気wにより希釈されているSamガスの実測CO₂モル分率(補正前)、C_s^{wr}(補正後の値)は水蒸気により希釈されていた場合のSamセルのCO₂モル分率相当値(真の値)。

FCT76のVapor Flagは以下の3通りから選択できる。

0-Corrections Off: Band broadeningによる効果と希釈効果を補正しない。

1-Band Broadening: Band broadeningによる効果に対する補正を適用する。希釈効果の補正は行わない。Samセルのactual CO₂モル分率、あるいはRef、Samセル間のactual CO₂モル分率差を表示する。

2-BndBrd, Dil→Ref: Band broadeningによる効果と希釈効果に対する補正を適用する。SamセルのCO₂モル分率とRef、Samセル間のCO₂モル分率差をRef、Samセル間の水蒸気圧差に対して補正する。これは光合成計測システムにおいて最適である。(※工場出荷時の設定ではこの状態にセットされている。)

Section4 Calibration

4.1 Calibration General Information

LI-6262のFactory CalibrationはCO₂とH₂Oを求めるための多項式の係数を決定するものである。この係数は長時間にわたって安定すべきものであるが、2年に一度Factory Calibrationに出すのがよい。

ユーザーによるキャリブレーションは、zero spanを調節することであり、それにより分析計の出力は多項式であるF(V)式に一致するようになる。6262-03圧力変換器が装着されていない場合、一日に一回の頻度で実施すべきである。Span shiftは大気圧変動により、zero shiftは温度変動により生じるものである。

4.3 Absolute Mode Calibration

KITシステムはDifferential Modeの配管であるが、Refセルに常に乾燥窒素ガスを流しているため、実質的にはAbsolute Modeでの測定である。

CO₂ Zero and Span Calibration

1. FCT59で、Refガス濃度をzeroに合わせる。このとき6262-03圧力変換器を装着していない場合は、FCT77で大気圧を入力する。通常は入力する必要はない(FCT59は0に、FCT77は100kPaにセットされている)。
2. FCT22で、Absolute CO₂モル分率(μmol/mol)を表示する。
3. 乾燥したCO₂フリーのガスを両セルに流す。
4. zero調節つまみのロックを解除し、Absolute CO₂モル分率(μmol/mol)の表示がゼロになるように調節する。
5. RefセルにCO₂フリーのガスを流したままで、SpanガスをSamセルに流す。Span調節つまみのロックを解除し、SpanガスのCO₂モル分率(μmol/mol)を入力する。

6. 調節つまみをロックする。

H₂O Zero and Span Calibration

H₂O の zero span 校正は CO₂ の校正と同じであるが、時間がかかる。

1. FCT68 で、H₂O Ref を zero にセットする。6262-03 圧力変換器を装着していないときは FCT77 で大気圧を入力する。通常は入力する必要はない(FCT68 は 0 に、FCT77 は 100kPa にセットされている)。
2. FCT32、34、36 で、Absolute H₂O を表示する。
3. 両セルに乾燥ガスを流す。
4. H₂O zero 調節つまみを Absolute H₂O の表示が zero になるように調節する。
5. Ref セルに乾燥ガスを流しつつ、Sam セルに span ガスを流す。Span 調節つまみを使って、Span ガスの水蒸気圧にセットする。
6. 調節つまみをロックする。

4.4 H₂O Absolute Mode Caution

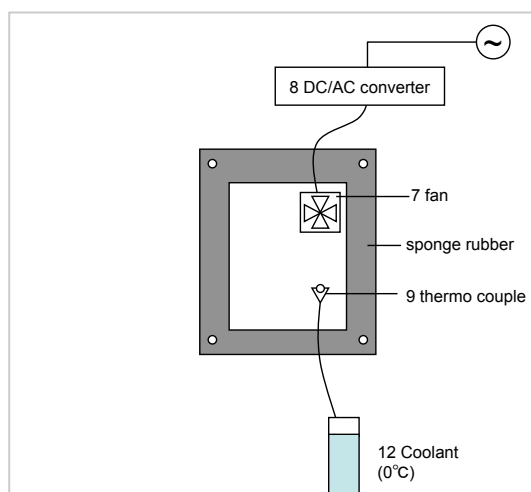
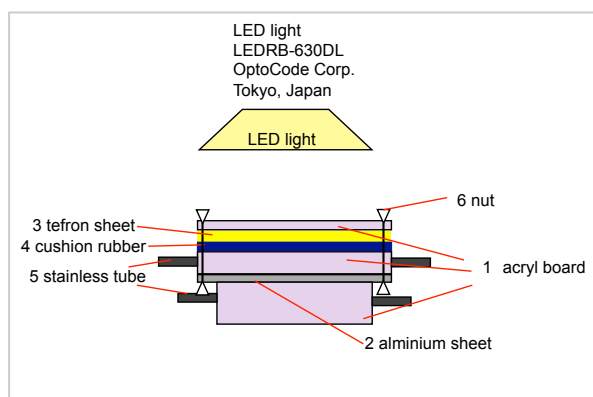
LI-6262 が 2.2 章で示されているような Absolute Mode における配管がなされているなら、チョッピングモーターによって作り出された空気の流量は CO₂ の除去には十分である。しかし、H₂O を除去するには不十分である。6262-04 等のポンプを用いて、500(ml/min)以上の流量にし、吸着管、ポンプ、Ref セルを循環する配管にセットする。

Ref セルと scrubber tuber の乾燥空気には、吸着剤である Soda-Lime や Mg(ClO₄)₂ の能力やメンテナンスが大きく影響する。吸着剤に関しては、Soda-Lime の基本的特性として、CO₂ 吸着時に少量の H₂O を必要としている。通常この微量な H₂O はチューブから拡散によって供給されるが、ここでの使用法では、Mg(ClO₄)₂ により完全に近いくらいに H₂O は除去されている。従って Soda-Lime を乾燥大気にさらす時間が長くなると、CO₂ の吸着能力が減少してしまう。

このような理由から、Absolute Mode においては、Soda-Lime を 1~2 日で交換することを勧める。もし、この交換が問題となる場合は、低流量で CO₂ フリーの乾燥ガスを圧縮ボンベから、チョッパーと Ref セルに連続供給すると良い。

KIT システムは Differential Mode の配管であるが、Ref セルに常に乾燥窒素ガスを流しているため、上記のように Absolute Mode で「低流量で CO₂ フリーの乾燥ガスを圧縮ボンベから、チョッパーと Ref セルに連続供給する」状態となっている。

(3) LI6262システムによる計測の実際



- ・チャンバ: 透明アクリル樹脂製 四隅をねじ止め
- ・光源: 赤(630nm)と青(460nm)の LED
- ・葉温: 恒温槽から温度制御した水をチャンバ下部に循環させて調節。熱電対(片方を氷水につける)で計測
- ・チャンバ内環境: ファンで空気を攪拌

表1 パラメータ 一覧

略号	説明	単位	計測値
C_e	チャンバに入る空気の CO_2 モル分率	$\mu\text{mol mol}^{-1}$	LI6262 FCT22 コック1 Sam 側
C_o	チャンバから出る空気の CO_2 モル分率	$\mu\text{mol mol}^{-1}$	LI6262 FCT22 コック1 ref 側
T_e	チャンバに入る空気の露点	$^{\circ}\text{C}$	LI-610 の露点設定値
W_e	チャンバに入る空気の 水蒸気分圧	Pa	T_e から計算
W_o	チャンバから出る空気の 水蒸気分圧	Pa	LI6262 FCT38 コック1 Sam 側
U_e^a	チャンバに入る空気の流量	$\text{m}^3 \text{sec}^{-1}$	LI-610 の流量計 U_e^a (ml min^{-1})
W_L	葉の内部の空気の 水蒸気分圧	Pa	T_L から計算
L	葉面積	m^2	スキャナで計測 L^a (cm^2)
T_L	葉温	$^{\circ}\text{C}$	熱電対の出力(mV)から計算
T_o	チャンバから出た空気の温度	$^{\circ}\text{C}$	大気温度 T_o^a ($^{\circ}\text{C}$)を入力
P	大気的全圧	Pa	101325Pa とする
A	光合成速度	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{sec}^{-1}$	式 KIT-1 で計算
C_a	大気 の CO_2 分圧	$\mu\text{mol mol}^{-1}$	P_o と等しい
C_s	葉の表面の CO_2 分圧	$\mu\text{mol mol}^{-1}$	KIT-6 で計算
C_i	葉内の細胞間隙の CO_2 分圧	$\mu\text{mol mol}^{-1}$	KIT-5 で計算
g_w	水蒸気に対する気孔コンダクタンス	$\text{mol m}^{-2} \text{sec}^{-1}$	KIT-3
g_s	CO_2 に対する気孔コンダクタンス	$\text{mol m}^{-2} \text{sec}^{-1}$	KIT-4
E	蒸散速度	$\text{mol m}^{-2} \text{sec}^{-1}$	KIT-2
K	気孔比		

(1) 光合成速度と蒸散速度

光合成速度は単位葉面積あたりの CO₂ 吸収量で表される。LI-6262 でチャンバ入り口および出口の CO₂ モル分率 C_e、C_o(μmol/mol)に対する水蒸気の希釈効果および圧力 broadening (Pressure broadening)の効果が補正されている場合(FCT 76 で vapor flag が BndBrd, Dil→Ref に設定)には、水蒸気の補正を行う必要はない。そのとき、光合成速度 A =チャンバによる CO₂ 吸収量/葉面積 であるので、葉面積を L (m²)、空気のモル流量を U_{mol} (mol sec⁻¹)とすると

$$A = \frac{U_{mol} \times (C_e - C_o)}{L} \quad \mu\text{mol m}^{-2} \text{sec}^{-1} \quad (1-1)$$

KIT システムでは空気の流量は体積流量で計測しているため、モル流量に換算する。大気圧を P(= 1.013・10⁵ Pa)、気体定数を R(= 8.311 m³Pa mol⁻¹ K⁻¹)、チャンバの温度を T_o(°C)とする。チャンバに入る空気の体積流量を U_e^a (ml min⁻¹)とすると、理想気体の方程式 PV = nRT より、モル流量 U_{mol} (mol sec⁻¹)は次のようになる。

$$U_{mol} = P \times \frac{10^{-6}}{60} U_e^a \times \frac{1}{R \times (T_o + 273)} \quad \text{mol sec}^{-1} \quad (1-2)$$

実測された葉面積 L^a の単位は cm² であるので L(m₂)=L^a (cm²)/10⁴である。これを(1-1)に代入する。さらに、実測されたチャンバ入り口および出口の CO₂ モル分率 C_e、C_o(μmol/mol)を使って光合成速度は次のように書ける。

$$A = \frac{1}{6000} \times \frac{P \times U_e^a \times (C_e - C_o)}{R \times (T_o + 273) \times L^a} \quad \mu\text{mol m}^{-2} \text{sec}^{-1} \quad (\text{KIT-1})$$

蒸散速度 E は、式(1-2)にならって次のように書ける。この式で w_e、w_o はチャンバの入り口と出口の水蒸気モル分率 (mol/mol)であり、P は大気の全圧 = 1.013・10⁵ (Pa)である。

$$E = \frac{1}{6000} \times \frac{P \times U_e^a \times (w_o - w_e)}{R \times (T_o + 273) \times L^a \times (1 - w_o)} \quad \text{mol m}^{-2} \text{sec}^{-1} \quad (\text{KIT-2})$$

LI-6262 で CO₂ モル分率に対する水蒸気の希釈効果および圧力 broadening の効果が補正されていない場合は補正する。式(3-33)における Ref セルの水蒸気モル分率 w_{ref} はゼロである(Ref セルに常に乾燥窒素ガスを流しているため)ので、チャンバ入り口と出口の CO₂ モル分率は水蒸気の希釈効果について次のように補正される:

$$C_e^{wr} = C_e^{ws} \frac{1}{1 - w_e} \quad \mu\text{mol mol}^{-1} \quad (\text{KIT-1a})$$

$$C_o^{wr} = C_o^{ws} \frac{1}{1 - w_o} \quad \mu\text{mol mol}^{-1} \quad (\text{KIT-1b})$$

この式を(KIT-1)に代入し、(3-22a)を使って圧力 broadening の効果を補正すると、光合成速度は次のようになる。

$$A = \frac{1}{6000} \times \frac{P(1 + 0.5w_o) \times U_e^a \times (C_e^{wr} - C_o^{wr})}{R \times (T_o + 273) \times L^a} \quad \mu\text{mol m}^{-2} \text{sec}^{-1} \quad (\text{KIT-1c})$$

葉の乾燥重量あたりの光合成速度 A_{mass} は、面積あたりの光合成速度を A_{area}、葉の乾燥重量を M(g)、葉面積を L^a (cm²)とすると、次のようになる。

$$A_{mass} = A_{area} \times L^a \times 10^{-4} / M \quad \mu\text{mol g}^{-1} \text{sec}^{-1} \quad (\text{KIT-1d})$$

蒸散速度についても圧力 broadening の効果を補正し

$$E = \frac{1}{6000} \times \frac{P(1+0.5w_o) \times U_e^a \times (w_o - w_e)}{R \times (T_o + 273) \times L^a \times (1 - w_o)} \quad \text{mol m}^{-2} \text{ sec}^{-1} \quad (\text{KIT-2a})$$

葉の乾燥重量あたりの蒸散速度 E_{mass} は

$$E_{\text{mass}} = E_{\text{area}} \times L^a \times 10^{-4} / M \quad \text{mol g}^{-1} \text{ sec}^{-1} \quad (\text{KIT-2b})$$

ただし、式(KIT-2a)では、分母の水蒸気の補正項 w_e 、 w_o は1に比べて非常に小さく、この項による影響は2-3%程度であるので、無視できる場合が多い。

チャンバの入り口の水蒸気モル分圧 w_e (mol mol⁻¹)は、チャンバに入る空気の露点 T_e (°C)から、次の式を使って計算する(Buck 1981、LI6400 マニュアル 14-24 式)。大気圧を P (= 1.013・10⁵ Pa)とする。

$$w_e = 1000 \times 0.61365 \times e^{\frac{17.502 \times T_e}{240.97 + T_e}} \times \frac{1}{P} \quad \text{mol mol}^{-1} \quad (\text{KIT-3})$$

なお、水蒸気分圧 W_e (Pa)と水蒸気モル分圧 w_e (mol mol⁻¹)との関係は、次の通り(LI6400 マニュアル 14-21 式)。

$$w_e = W_e \times \frac{1}{P} \quad \text{mol mol}^{-1} \quad (\text{KIT-4})$$

(2) 気孔コンダクタンスと葉内 CO₂ 分圧 (C_i)

(2-1) 気孔コンダクタンス

葉の総コンダクタンスと葉内 CO₂ 分圧 (C_i)を計算するときには、混合ガス(CO₂、大気、水蒸気)における ternary effect(三重の効果)を考慮しなければならない。ternary effect は、大気および気孔腔における CO₂ 分子と大気分子、水蒸気分子と大気分子、そして CO₂ 分子どうしや水蒸気分子どうしの衝突の効果であり、これを考慮すると、葉の内部と葉の周辺大気 CO₂ および水蒸気モル分率は次のように表される(von Caemmerer and Farquhar 1981)

$$w_i - w_a = + \left(\frac{\bar{a}}{g_{wa}} + \frac{\bar{c}}{g_{wc}} \right) E + \frac{\bar{w} A}{g_{wc}} \quad \text{mol/mol} \quad (\text{B9})$$

$$c_i - c_a = - \left(\frac{\bar{a}}{g_{ca}} + \frac{\bar{w}}{g_{wc}} \right) E + \frac{\bar{c} E}{g_{wc}} \quad \text{mol/mol} \quad (\text{B10})$$

ここで w_a と w_i は葉周辺の大気と葉の内部の水蒸気モル分率(mol/mol)、 c_a と c_i は葉周辺の大気と葉の内部の CO₂ モル分率(mol/mol)、 \bar{a} は水蒸気と CO₂ 以外の空気のモル分率(mol/mol)であり

$$\bar{a} + \bar{c} + \bar{w} = 1 \quad (\text{B10a})$$

$$\bar{w} = \frac{w_a + w_i}{2} \quad \text{mol/mol} \quad (\text{B10b})$$

$$\bar{c} = \frac{c_a + c_i}{2} \quad \text{mol/mol} \quad (\text{B10c})$$

大気中の水蒸気、大気中の CO₂、および水蒸気中の CO₂ のコンダクタンス(mol m⁻² s⁻¹)はそれぞれ次のようになる。

$$g_{wa} = \frac{C D_{wa}}{l}, \quad g_{ca} = \frac{C D_{ca}}{l}, \quad g_{cw} = \frac{C D_{cw}}{l} \quad \text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1} \quad (\text{B11})$$

ここで D_{wa} 、 D_{ca} 、 D_{cw} は大気⇌水蒸気、大気⇌CO₂、水蒸気⇌CO₂の双方向の拡散係数(mol m⁻² s⁻¹)、 C はガス濃度の総計 (mol m⁻³)、 l は気孔腔の効果長(m)である。大気⇌CO₂ と水蒸気⇌CO₂ の拡散係数はほぼ等しいので $D_{cw} \cong D_{ca}$ 、また $D_{wa} \cong 1.6D_{ca}$ であるので、

$$g_{cw} = g_{ca} \quad (B11-a)$$

$$g_{wa} = 1.6 g_{ca} \quad (B11-b)$$

(B9)と(B10)の最初の項はそれぞれ水と大気、CO₂ と大気の衝突によって、二番目と3番目の項はいずれもCO₂と水の衝突によって得られる。(B9)については、CO₂のモル分率が水蒸気や大気と比べるとはるかに小さいため B10a は次のように近似できる。

$$\bar{a} = 1 - \bar{w} - \bar{c} \cong 1 - \bar{w} \quad (B11-c)$$

さらに二番目と三番目の項も無視できるため、(B10)は、次のように簡略化できる。

$$w_i - w_a \cong \left(\frac{\bar{a}}{g_{wa}}\right) E = \frac{1 - \bar{w} - \bar{c}}{g_{wa}} E \cong \frac{1 - \bar{w}}{g_{wa}} E \quad (B12)$$

この式を g_{wa} について書き換えると、水蒸気に対する葉の全コンダクタンス $g_{wa}^t = g_{wa}$ なので

$$g_{wa}^t = \frac{E(1 - \bar{w})}{w_i - w_a} = \frac{E(1 - \frac{w_i + w_a}{2})}{w_i - w_a} \quad \text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1} \quad (B14)$$

ここで、 w_i と w_a はそれぞれ葉と大気における水蒸気分圧 (mol/mol) である。

水蒸気および CO₂ に対する全コンダクタンス g_{wa}^t 、 g_{ca}^t (mol m⁻² s⁻¹) は、気孔コンダクタンス g_{wa}^s 、 g_{ca}^s と境界層コンダクタンス g_{wa}^b 、 g_{ca}^b を使って次のように表される。

$$\frac{1}{g_{wa}^t} = \frac{1}{g_{wa}^s} + \frac{1}{g_{wa}^b} \quad (B15)$$

$$\frac{1}{g_{ca}^t} = \frac{1}{g_{ca}^s} + \frac{1}{g_{ca}^b} \quad (B16)$$

なお、葉の両面に気孔がある場合には、式(B15)は次のように書ける。

$$\frac{1}{g_{wa}^t} = \frac{1}{g_{wa}^s} + \frac{k_f}{g_{wa}^b} \quad (B15-1)$$

ここで、 k_f は気孔比 (葉の裏面に対する表面の気孔の割合に相当) K に基づいて次のように計算される (Li-6400 マニュアルより: 気孔が裏面にしかないとき $K=0$ 、同じ数あるときには $K=1$ である):

$$k_f = \frac{K^2 + 1}{(K + 1)^2} \quad (B15-2)$$

水蒸気に対する CO₂ の拡散係数の比は、大気では 1.6、境界層では 1.37 であるので、水蒸気と CO₂ についてのコンダクタンスの関係は次のようになる。

$$g_{ca}^s = g_{wa}^s / 1.6 \quad (B16a)$$

$$g_{ca}^b = g_{wa}^b / 1.37 \quad (B16b)$$

von Caemmerer and Farquhar (1981) では、葉のチャンバのどちらの側でも、水蒸気に対する境界層コンダクタンス g_{wa}^b は 0.4 mol m⁻² s⁻¹ であった。LI6262 を使っての測定にあたっては、境界層コンダクタンスを実測する必要がある。境界層コンダクタンスは、湿潤させた「ろ紙」の蒸散速度を測定することによって求めることができる。2015年にわれわれが行った実験によると、L cm² の「ろ紙」では H₂O に対する境界層コンダクタンスは面積と直線的な相関があり

$$g_{wa}^b = -1.036 \times 10^{-2} + 1.915 \quad R^2 = 0.9365 \text{ (mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}) \text{ 測定数=31} \quad (\text{KIT-5})$$

であった。

式(B-15-1)より、水蒸気に対する気孔コンダクタンス g_{wa}^s は次式で計算される(Li6400 マニュアル 式 1-9)。

$$g_{wa}^s = \frac{1}{\frac{1}{g_{wa}^t} - \frac{K_f}{g_{wa}^b}} \quad (\text{B17})$$

式(B16a)より、CO₂に対する気孔コンダクタンス g_{ca}^s は、次のようになる。

$$g_{ca}^s = \frac{1}{1.6} \times \frac{1}{\frac{1}{g_{wa}^t} - \frac{K_f}{g_{wa}^b}} \quad (\text{B18})$$

また、CO₂に対する全コンダクタンス g_{ca}^t は、水蒸気に対する気孔と境界層のコンダクタンスを使って次のようになる(Li6400 マニュアル 式 1-19)。

$$g_{ca}^t = \frac{1}{\frac{1.6}{g_{wa}^t} - \frac{1.37K_f}{g_{wa}^b}} \quad (\text{B19})$$

LI-6262 を用いた通常の測定で、チャンバ内でファンを高速に回転させていれば境界層コンダクタンスは気孔コンダクタンスよりはるかに大きい。境界層コンダクタンスが無視できるとすると、式(B15)は次のように書ける。

$$\frac{1}{g_{wa}^t} \cong \frac{1}{g_{wa}^s} \quad (\text{B15c})$$

このとき、式(B14a)は次のように書くことができ、水蒸気に対する葉のコンダクタンスは次のようになる。

$$g_{wa}^s = \frac{E(1 - \frac{W_L + W_0}{2P})}{W_L/P - W_0/P} \quad \text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1} \quad (\text{KIT-4})$$

式(B16a)から、CO₂に対する気孔コンダクタンス g_{ca}^s は次のようになる。

$$g_{ca}^s = g_{wa}^s / 1.6 \quad \text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1} \quad (\text{KIT-5})$$

(2-2) 葉内 CO₂ モル分圧

式(B-10)において、他の大気成分と比べると CO₂ モル分圧はきわめて小さいため、 $\bar{a} = 1 - \bar{w} - \bar{c} \cong 1 - \bar{w}$ と近似でき、さらに $g_{wc} = g_{ca}$ であるので(B-11a、B11-c)、次のように書くことができる。

$$A = (c_a - c_i)g_{ca} - \bar{c}E \quad (\text{B17})$$

気孔腔から外に出て行く空気は、気孔腔の中に入る空気よりもかなり多くの水蒸気を含んでいるため、水と二酸化炭素の相互作用は重要である。

式(B10c)を \bar{c} に代入し、(B17)を c_i について解くと、次のようになる。

$$c_i = \frac{(g_{ca}^t - \frac{E}{2})c_a - A}{g_{ca}^t + E/2} \quad \mu\text{mol mol}^{-1} \quad (\text{B18})$$

境界層コンダクタンスが無視できるとき、CO₂ に対する全コンダクタンスは気孔コンダクタンスと等しくなるため $g_{ca}^t = g_{ca}^s$ である。また、大気中の CO₂ 分圧はチャンバ出口の CO₂ 分圧と等しいと考えられる($C_a = P_o$)ので、葉内の細胞間隙の CO₂ 分圧は、蒸散速度 E (mol m⁻² s⁻¹)、光合成速度 A (μmol m⁻² s⁻¹)、チャンバ出口の CO₂ 分圧 P_o (μmol/mol)から以下のように計算される。

$$C_i = \frac{(g_{ca}^t - \frac{E}{2})P_o - A}{g_{ca}^t + E/2} \quad \mu\text{mol mol}^{-1} \quad (\text{KIT-6})$$

(2-3) コケの光合成測定

コケの光合成速度を測定する場合も、チャンバ内でコケから多量の水蒸気が付加されるため、水蒸気による dilution effect や圧力 broadening を考慮する必要がある。また、コケには多量の水分が含まれ表面に水が付着していることが多く、気孔がないものが多いため、コンダクタンスについては高等植物とは状況が異なる。

光合成測定時に、コケの表面に水が付着している場合と、付着していない場合とを考える (Meyer et al. 2008)。水が付着しているかどうかは、含水率から判断する。含水率 TWC は次のように計算する。

$$\text{TWC} = (\text{WW} - \text{DW}) / (\text{TW} - \text{DW}) \quad (2-3-1)$$

WW は生重量、DW は乾燥重量、TW は水で 24 時間膨潤させたあとの重量である。もし TWC=1 であれば、表面における水の付着はないと考える。

大気の CO₂ 分圧を C_a、コケ表面の水における CO₂ 分圧を C_x、コケ植物体内の CO₂ 分圧を C_c (μmol mol⁻¹) とする。また、コケ表面の水における CO₂ コンダクタンスを g_{iq}、コケ内部の水における CO₂ コンダクタンスを g_{int}、水に対する全コンダクタンスを g_i (mol m⁻² s⁻¹) とすると、Fick の法則より

$$A = g_i (C_x - C_c) \quad \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1} \quad (2-3-2)$$

$$1/g_i = 1/g_{int} + 1/g_{iq} \quad (2-3-3)$$

もし含水率 TWC=1 であれば、表面における水の付着はないので、g_{iq} の項は無視でき、

$$1/g_i = 1/g_{int} \quad (2-3-4)$$

と近似できる。

<含水率 TWC=1 の場合>

Fick の法則より、コケ表面の気層における CO₂ 分圧を C_s とすると

$$A = g_i (C_s - C_c) = g_{int} (C_s - C_c) \quad \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1} \quad (2-3-5)$$

コケ表面の CO₂ 分圧 C_s は、高等植物における葉の境界層の CO₂ 分圧に相当すると考えられる。葉の境界層における CO₂ 分圧 C_s は、次のように近似できる (Gutschick and Simmoneau 2002)

$$C_s = C_a - A / g_{bc} \quad \mu\text{mol mol}^{-1} \quad (2-3-5)$$

ここで、g_{bc} は境界層における CO₂ コンダクタンス (mol m⁻² s⁻¹) である。

境界層コンダクタンス g_{bc} は、ろ紙からの蒸散速度を測定することによって算出できる。ろ紙で測定した場合、式(B14)、式(B15)において気孔コンダクタンス g_{wa}^a をゼロとできるので、全コンダクタンス g_{wa}^t = 境界層コンダクタンス g_{wa}^b である。

$$g_{wa}^t = g_{wa}^b = \frac{E(1-\bar{w})}{w_i - w_a} = \frac{E(1 - \frac{w_i + w_a}{2})}{w_i - w_a} \quad \text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1} \quad (2-3-6)$$

$$g_{ca}^b = g_{wa}^b / 1.37 \quad (2-3-7)$$

w_a と w_i は葉周辺の大气 (=チャンバ出口の大气) と葉の内部の水蒸気モル分率 (mol/mol)。2015 年にわれわれが行った実験によると、54cm² の「ろ紙」では CO₂ に対する境界層コンダクタンスは

$$g_{wa}^b = -1.036 \times 10^{-2} + 1.915 \quad R^2 = 0.9365 \quad (\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}) \quad \text{測定数}=31 \quad (\text{KIT-5})$$

であった。