

1 装置の立ち上げ

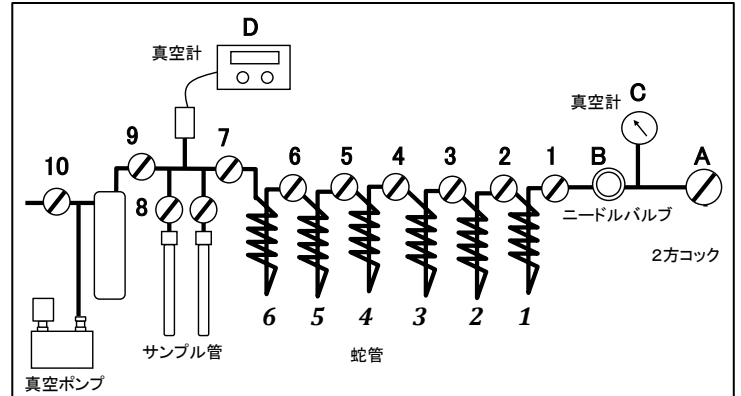
- 使用直前に、6mmのガラス管に還元銅を0.2g入れておく。還元銅はガラス管入りのアンプルになっており、パラフィルムを巻いておけば再利用できる。褐色に変色したものは使用しない。

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



長期間使用しなかったときには、overnightで真空ラインをポンプで引いておく

2 実際の測定手順

温度が異なるトラップを使い、サンプル大気中の水を取り除き、二酸化炭素だけを収集する。ドライアイスエタノールは -70°C なので水は捕集されるが二酸化炭素は捕集されない。液体窒素は -180°C なので、二酸化炭素が捕集できる。

1. チャンバに葉をはさんで光合成が安定するまで待つ（草本は5分程度，樹木は10~30分）。光合成速度が低い植物の場合は、葉面積がなるべく大きくなるようにする。場合によっては複数の葉をチャンバにセットする。
 - ・ チャンバ出口と入口の 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 $25-26^{\circ}\text{C}$ になるように冷却水の温度を調整
 - ・ VPDが1.4以下かつチャンバが結露しないよう（チャンバ出口の空気の露点<チャンバ冷却水の温度 $+1^{\circ}\text{C}$ ），チャンバの露点（循環水の温度）と空気の流量調整
 - ・ 葉をはさんでいるときのチャンバ出口の CO_2 濃度が $400 \mu\text{l l}^{-1}$ になるように空気の流量と CO_2 マスフローコントローラを調節
2. 光合成速度のためのパラメータをファイルに入力し、4方コックをreference側に切り替える。
3. 真空ラインのコック9, 7, 6, 5, 4, 3, 2がOPENしているのを確認する
4. 二方コックAをLine側（真空ライン側）に切り替える
5. すばやくコック1をOPEN
6. ニードルバルブBをOPEN, 真空ゲージCの値が0付近であり, LI-610の流量が光合成測定時と同じであることを確認する。
7. 真空計Dが $1 \sim 2 \times 10^{-1}$ torrを指示するように調節する
8. 5分待つ
9. 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る
10. 蛇管4, 5, 6に液体窒素のトラップをつける
11. ポンプ側の大トラップに液体窒素をつける
12. 真空計DとLI-610の流量の数値が変化していないのを確認, 一定時間待つ*
13. コック1をCLOSE, すぐにニードルバルブBも閉める
14. すばやく2方コックAをIRGA側に切り替える
15. 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
16. 3分待ち, 真空計DがLOを指示するのを確認
17. 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）
18. 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す
19. トラップの中身をかきまぜる
20. コック7をCLOSE

21. 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はそのまま)
 22. 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
 23. コック7をOPEN, 1分待つ真空計DがLOまで下がるのを確認する
 24. コック7をCLOSE, コック6をCLOSE
 25. 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
 26. 待っている間に, コック8に還元銅を入れたガラス管をセットしコック8をOPEN。つづいてコック9をOPENして真空計DがLOまで下がるのを確認する
 27. コック9をCLOSE, コック7をOPEN, 真空計Dが2.8 torr前後になるのを確認
 28. ガラス管8に液体窒素のトラップをつけ, 2分待つ。真空計Dの値が 1.5×10^{-3} torr程度まで下がるのを確認
 29. コック8をCLOSE, バーナーでガラス管を封じる(やけど注意)。
 30. ガラス管をほうろうのトレイに入れる
 31. コック9, 7, 6, 5, 4, 3, 2をすべてOPEN
 32. トラップをすべてはずす
 33. 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
 34. 真空計Dの値が下がっていくのを確認する
- ★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

1. 窒素と5%CO₂のポンベのコックをCLOSE
2. 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
3. 恒温槽, LI-6262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, ランプのスイッチOFF
4. チャンバのふたをあけておく
5. 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, 真空ポンプのスイッチをOFFにして, コック10をOPEN, 真空ラインの大トラップに空気を入れてからふたたびCLOSE
6. 真空計DのスイッチOFF

ポンベの栓がすべて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 N₂O→N₂の還元

N₂Oは大気中に1%程度含まれている。CO₂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, N₂O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°C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⁻¹以下では値が不正確になることがある

流量 mL min ⁻¹	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 ⁻¹	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