

# 揮発性有機化合物 (VOC) 測定手法の確立と植物による VOC 放出・吸収過程におよぼす微気象要因の解明

谷 晃

静岡県立大学

Development of Volatile Organic Compound (VOC) measurement methods to understand effects of micrometeorological factors on VOC exchanges by plants

Akira TANI

University of Shizuoka

## 1. はじめに

このたびは、栄えある農業気象学会賞学術賞を賜り、たいへん光栄に存じます。ご推薦くださいました平野高司博士をはじめ、学会賞審査委員会、大政謙次前会長、役員の皆様に心から感謝を申し上げます。

私が大学院博士課程を中退して所属研究室（大阪府立大学農学部環境調節工学研究室）の助手になった当時、研究室教授の相賀一郎先生から、研究テーマの変更を強くご提言いただきました。理由は、当時行っていた研究が農業気象学会や関連学会で多くの研究者や学生が取り組んでいるものであり、私が研究を進めても、二番煎じ、三番煎じになっていると判断されたことによります。「お前はそれでは食っていけない」とよく言われたことを覚えています。今考えてみれば確かにそうで、周辺分野を補うような研究しかできていなかったと思います。

本稿では、それ以降の受賞研究に至る過程と、研究内容について紹介させていただきます。

## 2. 閉鎖系の実験

新たな研究テーマとして、宇宙の微小重力場や閉鎖系における、物質循環や植物栽培装置開発の研究に携わることになりました。地上の1Gと異なる重力場で水蒸気濃度を正確に測定するために、航空機実験によって使用可能／不可能な湿度センサを選別し、その原因を明らかにしました (Tani *et al.* 2000)。閉鎖系での植物栽培研究を進める中で、密閉度の高いチャンバー内で育てた植物の葉に異常が見られ、その原因を突き止めるため内部の微量ガス濃度を測定する必要が生じました (Tani *et al.*, 1996)。原因として、植物が自ら放出するエチレングスとチャンバー材質から揮発する有機化合物 (VOC) が疑われました。エチレンは ppm レベルの低濃度であったため、液体酸素を用いた低温条件下で吸着剤に濃縮捕集し、その濃縮試料を加熱脱着して FID 検出器を装備したガスクロマトグラフで分析しました。植物の放出速度を生育段階ごとに定量化するとともに、異なるエチレン濃度下で植物を長期間栽培することで、可視害の濃度下限を突き止めました (谷ら, 1996)。

エチレン以外の微量気体の分析は、分析機器がなく手法もよく知らなかったので、分析会社へ外注しました。一連の研究により、密閉性の高いチャンバーや施設内では、エチレンに加え部材から揮発する VOC の一種であるフタル酸エステル類などが問題であるとの結論を得ました。

## 3. ガスクロマトグラフ質量分析計の入手

この研究を通して海外の関係論文を調べるうちに、植物の栽培現場だけでなく、自然生態系でも VOC が周囲の環境や樹木の生長に直接および間接に影響を知り、特に樹木が二次代謝物として生産し放出するテルペン類が大気環境に大きなインパクトを及ぼす可能性に興味を持ちました。日本でこの研究を行っている研究者は、大気化学の分野にわずかしおらず、植物側からアプローチすればオリジナリティーの高い研究を進められると思いました。

しかし、それを分析するにはガスクロマトグラフ質量分析計という高額な機器が必要です。使い方がわかる研究者も、当時勤務していた大学（東海大学開発工学部）にはいませんでした。農業気象や関連分野の研究者も誰もその機器を使用していませんでした。幸い、購入できるプロジェクト研究費がありましたので、「清水の舞台から飛び降りるつもり」で購入しました。分析機器会社の講習会に参加したり教科書を読み込むなどして、少しずつ装置の仕組みや適切な使用方法を理解していきました。

## 4. テルペン類のフラックス測定

テルペン類は大気中で反応性が極めて高いため、光化学オキシダントの生成に関与します。オゾンに代表される光化学オキシダントはヒトの健康や植物の生育に悪影響を及ぼします。従来、排ガスなどに含まれる人為起源の VOC がオゾン生成の主要因とされてきましたが、森林からのテルペン類の放出量は人為起源ガスのそれと少なくとも同程度であるという推計が報告されるようになり、植物のテルペン類放出機構や気象環境の影響を明らかにする研究の必要性が生じました。特に大きなソースである森林群落が研究対象となりました。

海外の文献を見ても、森林群落からのテルペン類フラックスを報告した例は数件しかなく、1997年頃から長野県伊那のアカマツ林や北海道のカラマツ林で、傾度法や簡易渦集積法 (REA 法) を用いた測定を開始しました。二酸

化炭素の測定と違い吸着剤の入った採取管にテルペン類を濃縮採取するため、30分ごとにタワーに上り採取管を交換する必要があります。この手間を省くため、自動採取装置の製作に着手し(谷・野副, 1999)、電動バルブでガス採取ラインを自動で切り替え、ヒーターで採取管の温度を一定に保つ装置を自作しました(野副・谷, 2004)。その後この装置を REA 法用に改良しました(望月ら, 2011)。これまでアカマツ林 (Tani *et al.*, 2002)、コナラ林、カラマツ林 (Mochizuki *et al.*, 2014)、水田にて群落放出量を定量化しました。特にカラマツ林の測定では、テルペン類放出が土壌水分の影響を強く受けることがわかり、気温や日射で説明されていたこれまでの放出モデルを改良した、土壌水分を説明変数に加えたモデルを提唱しました。

## 5. テルペン類放出と気象環境要因

群落フラックス測定と並行して、個葉の測定を行い、フラックスサイトのない樹種の放出見積もりに利用してきました。これには、配管を改良した LI-COR 社の携帯用光合成測定装置 (LI6400) を用い、光合成速度、蒸散速度に加えてテルペン類放出速度を測定できるようにしました(谷・伏見, 2005)。また、枝チャンバー法(谷, 2010)も併用しました。これまで、単独および共同の研究でスギ (Matsunaga *et al.*, 2011; Matsunaga *et al.*, 2012; 奥村ら, 2013)、ヒノキ (奥村ら, 2008; Mochizuki *et al.*, 2011; Matsunaga *et al.*, 2013)、コナラ類 (Tani and Kawawata, 2008; Okumura *et al.*, 2008a, b; Tani *et al.*, 2011; Miyama *et al.*, 2012) のテルペン類放出速度の定量化と気象環境要因の影響を明らかにしました。

また、中国で樹木からのテルペン類放出を測定し、放出マップを作成したり、気候変動による今後の放出予測やそれに伴う大気汚染度の推定を、浙江大学との共同研究で行いました (Chang *et al.*, 2012; Guo *et al.*, 2013; Ren *et al.*, 2014)。

今後変動しうる環境要因として、高濃度の二酸化炭素とオゾンの影響を調べるために、オープントップチャンバー (OTC) を用いた実験を行いました。針葉樹では葉に接触刺激を与えるとテルペン類放出を高め、定常状態での測定ができないため、枝葉に触れず OTC をそのまま同化箱として用いる測定法を開発しました (Mochizuki *et al.*, 2015)。また、カラマツとグイマツの雑種を用いた測定で、高濃度オゾンによって反応性が高いモノテルペンの葉内での分解が進み、放出されるテルペン類の組成が変化すること (Mochizuki *et al.*, 2016)、長期の高濃度オゾン曝露によってコナラとミズナラのイソプレン放出速度が低下し、それは前駆物質の生産量とイソプレン合成酵素活性の低下によること (Tani *et al.*, 2017)、などを見出しました。

## 6. 陽子移動反応質量分析計を用いたリアルタイム測定系

2001年に英国ランカスター大学に客員研究員として滞在し、研究する機会を得ました。受け入れ教授は、大気化学的視点からテルペン類の研究を進めている Nick Hewitt 教授でした。彼に面白い装置があると紹介されたものが、1998年にオーストリアで開発された陽子移動反応質量分析計 (PTR-MS) でした。この装置の最大の特徴は ppb レベルの低濃度 VOC を秒単位で測定できることでした。通

常 ppb レベルの微量気体を測定する場合、濃縮後に GCMS で測定するため、濃縮に要する時間 (10分~30分) の平均濃度しか求められません。また、分析終了まで最低1時間を要します。PTR-MSはその1データを1秒で測定し、連続測定が可能、という画期的な装置でした。しかし、同じ質量数の物質を分離できなかったり、陽子移動反応の際、物質が開裂し別の質量数のイオンができるために正確な定性・定量分析ができない場合がある、等の欠点がありました。そこで、この装置をテルペン類測定に用いる際の最適条件を見つけ出す研究に着手しました。装置はオーストリアのベンチャー企業が様々な部品を流用して一つ一つを手作業で組み立てたものであり、よく故障しました。何度目かの故障の後に装置が復旧したクリスマス休暇中に、実験室に一人こもりようやく良いデータが取れました。一連の研究成果は質量分析に関する国際誌などに原著論文として報告しました (Tani *et al.*, 2003, 2004; Hewitt *et al.*, 2003; Tani, 2013)。この最適条件は以後のテルペン類放出測定の際、PTR-MSの標準条件として広く設定されるようになったため、特に2003年に発表した論文 (Tani *et al.*, 2003) は被引用数が100件を超えています。この最適条件に装置を設定し、アラスカトウヒからのテルペン類放出を測定する中で、通常明期にしか放出されないイソプレン ( $C_5H_8$ ) が、照明を消灯した約10分後に急激に放出され、10分程度で終息する現象を見つけました (Hayward *et al.*, 2004)。これは、ポストイルミネーションバーストと呼ばれる現象で、世界初の発見と喜んでいましたら、我々が観測した1週間後にオーストリアの研究者によって論文として報告されました。

## 7. 植物による VOC の吸収機構の解明

PTR-MS を用いた植物によるテルペン類放出のリアルタイム測定を行う中で、植物の大気浄化機能を評価するため、この装置を植物の VOC 吸収測定に用いたと思いました。赤外線ガス分析計 (IRGA) で光合成速度を測定するのと同じように VOC 吸収を測定できるはずでした。特に高感度の PTR-MS を用いることで、これまで不可能であった大気濃度域 (ppb レベル) の VOC の植物吸収をモニタリングしたいと考えました。帰国後、日本で PTR-MS をレンタルできると知り、この実験に着手しました。同時に純光合成速度と蒸散速度も測定できる系を組みました。誤差伝播の法則を用いた誤差分析の結果、PTR-MS を用いた測定系は GC を用いる場合より大幅に誤差を低減できることを示しました (Tani *et al.*, 2007)。

これを用いて観葉植物や樹木苗の様々な VOC 種の吸収測定を行いました。大学時代有機化学を履修しなかった私にとって一からの勉強となりました。大気化学の研究者と話す機会も多かったので、度々教えを請いました。データを収集する中で、植物が吸収する VOC と吸収しない VOC の構造上の違いや物理化学特性の違いが徐々に分かってきました。概略は、酸素を含む VOC であるアルデヒドやケトン、アルコール類は植物に吸収されやすいのですが、C と H だけからなる脂肪族や芳香族の炭化水素はほとんど吸収されません。この原因は、一つにはヘンリー則定数で示される葉内水分への分配量の程度であり、もうひとつは葉での代謝活性によると考えられました。テルペン類の一種イ

ソブレンが大気中で酸化変換された物質であるメタクロレイン(アルデヒドの一種)が、植物に再吸収されることを発見しました (Tani and Hewitt, 2009; Tani *et al.*, 2010; Tani *et al.*, 2013)。山口大学の松井博士との共同研究の中で、吸収された含酸素 VOC はヒドロキシ化され再放出されたり、細胞内で抱合化され貯蔵されることを証明しました (Muramoto *et al.*, 2015)。これら一連の研究によって、無機ガスに限定されていた植物の大気浄化能について VOC に関する知見を加え、理論的な解釈を与えることができました (谷, 2014)。

## 8. 研究に対する考え方

化学物質の名前がいろいろ出てくる私の研究を、農業物理をバックグラウンドとする農業気象学会で発表すると、当初は聴衆からほとんどレスポンスはありませんでした。しかし、ある大御所の先生からは、“面白い研究だからがんばりなさい”と激励を受けました。私の研究は、農業気象学や植物生理生態学に最新の分析化学的手法を適用することで、これまで対象とされてこなかった物質の植物交換測定を可能とした、境界・複合領域の研究です。このような境界・複合領域の研究を農業気象学会学術賞に値すると評価していただいたことには、本当に感謝いたします。この受賞に満足することなく、さらに精進しなさいと背中を押していただいているものと思っています。

若いころの反動からか、人のやってなさそうな、でもいざ重要分野になると思われる(勝手に思う)研究を発想し行おうのが私のスタイルとなりました。このような、人が注目しない、時流に乗っていない研究はマイペースで進められ、じっくり取り組みます。もちろん、時流に乗った研究テーマについて大きなコミュニティの中で情報交換しながら、進めていく研究も必要です。研究分野のボトムアップになり、若手の研究者にとっては職を得るチャンスが増えます。ただし、研究のオリジナリティーについていつも念頭に置いてほしいと思います。

## 9. 英文誌 Journal of Agricultural Meteorology の重要性

現在、私は当学会の英文誌 Journal of Agricultural Meteorology (JAM) の編集委員長 (Editor-in-Chief) を務めています。平野前編集委員長時代の 2016 年にインパクトファクター (IF, web of science ベース) が初めて付与されました。これによって、JAM に掲載された論文は、世界からこれまで以上に高い評価を受けることになり、学位取得を目指す学生や若手研究者にとっても目指す投稿先として順位が上がったと思います。

農業気象や環境調節に関係する研究室は、同じ部局の他の研究室と業績面で比較されるのは必然ですが、昨今の組織改編によって IF 付きの国際誌相当に投稿するのが過去数十年前から当たり前のライフサイエンス分野とも渡り合わねばならない場合があります。また、若手が研究者ポストに応募する際、様々な分野の応募者がいる中で、IF が付いている英文誌への論文掲載実績は極めて重要です。そういう意味で、JAM に IF が付与されたことは朗報です。20 年前、30 年前とは大きく異なった環境と価値観に置かれている現状で、自分の研究分野に IF を持った国際英文誌があり、そこに投稿できることは嬉しい限りです。こ

れまで IF 獲得に向けて努力してこられた歴代編集委員長や編集理事、編集委員の皆さまには深く感謝いたします。和文誌「生物と気象」も併せて、学会誌の運営には今後とも協力いただきますようお願いいたします。

## 10. 謝 辞

私が主任を務めた東海大学および静岡県立大学の研究室で学位研究を進めた野副 晋博士、奥村智憲博士、望月智貴博士の熱意ある勤勉な研究が、本研究を進める原動力になりました。また、共同研究を通じて、松永 壮博士、Chang Jie 博士、Sean Hayward 博士、Nick Hewitt 博士、和田龍一博士、高橋善幸博士、米村正一郎博士、深山貴文博士、松井健二博士とは、ともに現場で測定し論文を作成しました。大阪府立大学の学生時代および助手時代には、所属研究室に在籍されていた原菌芳信博士、北宅善昭博士、平野高司博士、村上克介博士、隣の研究室(農業気象)の小元敬男博士、文字信貴博士、高市益行博士、青野靖之博士、東海大学勤務時代には林 真紀夫博士、星 岳彦博士など、優秀でユニークな方々から様々な刺激を受けました。上記の皆様には感謝いたします。

学生時代、助手時代に、矢吹萬壽先生、相賀一郎先生、清田 信先生にご指導いただきました。当時学長であった矢吹先生からは、本づくりのためご自宅を何度も訪問させていただき、研究の取り組み方などについて薫陶を受けました。相賀先生には学位取得まで、叱咤激励を受け続け、今の自分がある原点の教えを受けました。清田先生からは今年の年賀状に“我より古をなす”という激励の言葉をいただきました。上記3名の先生がたには格別の謝意を表します。

## 文 献

- Chang J, Ren Y, Shi Y, Zhu Y, Ge Y, Hong S, Jiao L, Lin F, Peng C, Mochizuki T, Tani A, Mu Y, Fu C, 2012: An inventory of biogenic volatile organic compounds for a subtropical urban-rural complex. *Atmospheric Environment* **56**, 115–123.
- Guo P, Ren X, Ren Y, Shi Y, Tani A, Chang J, Ge Y, 2013: Biogenic volatile organic compound emissions in relation to plant carbon fixation in a subtropical urban-rural complex. *Landscape and Urban Planning* **119**, 74–84.
- Hayward S, Tani A, Owen S, Hewitt CN, 2004: On-Line analysis of volatile organic compound emissions from sitka spruce (*Picea sitchensis* Bong.). *Tree Physiology* **24**, 721–728.
- Hewitt CN, Hayward S, 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. *Journal of Environmental Monitoring* **5**, 1–7.
- Matsunaga S, Chatani S, Nakatsuka S, Kusumoto D, Kubota K, Utsumi Y, Enoki T, Tani A, Hiura T, 2012: Determination and potential importance of diterpene (kaur-16-ene) emitted from dominant coniferous trees in Japan. *Chemosphere* **87**(8), 886–893.
- Matsunaga S, Mochizuki T, Ohno T, Endo Y, Kusumoto D, Tani A, 2011: Monoterpene and sesquiterpene emissions from Sugi (*Cryptomeria japonica*) based on a branch enclosure measurements. *Atmospheric Pollution Research* **2**, 16–23.
- Matsunaga S, Niwa S, Mochizuki T, Tani A, Kusumoto D, Utsumi Y, Enoki T, Hiura T, 2013: Seasonal variation in basal

- emission rates and composition of mono- and sesquiterpenes emitted from dominant conifers in Japan. *Atmospheric Environment* **69**, 124-130.
- Miyama T, Okumura M, Kominami Y, Yoshimura K, Ataka M, Tani A, 2012: Nocturnal isoprene emission from mature trees and diurnal acceleration of isoprene oxidation rates near *Quercus serrata* Thunb. leaves. *Journal of Forest Research* **18**, 4-12.
- Mochizuki T, Endo Y, Matsunaga S, Chang J, Ge Y, Haung C, Tani A, 2011: Factors affecting monoterpene emission from *Chamaecyparis obtuse*. *Geochemical Journal* **45**, e15-e22.
- Mochizuki T, Saito T, Hirai G, Miwa M, Yonekura T, Tani A, 2015: Development of a reliable method to determine monoterpene emission rate of plants grown in an open-top chamber. *Journal of Agricultural Meteorology* **71(4)**, 271-275.
- Mochizuki T, Tani A, Takahashi Y, Saigusa N, Ueyama M, 2014: Long-term measurement of terpenoid flux above a *Larix kaempferi* forest using a relaxed eddy accumulation method. *Atmospheric Environment* **83**, 53-61.
- 望月智貴・谷 晃・安田倫己・植山雅仁・鱧谷 憲・高橋善幸・米村正一郎・奥村智憲・東野 達・深山貴文・小南裕志, 2011: 可搬型簡易渦集積採取装置の開発とカラマツ林のテルペン類フラックス測定への応用. *Eco-Engineering* **23**, 81-88.
- Mochizuki T, Watanabe M, Koike T, Tani A, 2016: Monoterpene emissions from needles of hybrid larch F1 (*Larix gmelinii* var. *japonica* × *Larix kaempferi*) grown under elevated carbon dioxide and ozone. *Atmospheric Environment* **148**, 197-202.
- Muramoto S, Matsubara S, Mwenda CM, Koeduka T, Sakami T, Tani A, Matsui K, 2015: Glutathionylation and reduction of methacrolein in tomato plants account for its absorption from the vapor phase. *Plant Physiology* **169(3)**, 1744-1754.
- 野副 晋・谷 晃, 2004: フラックス測定用テルペンガス自動濃縮採取装置の開発と性能評価. *農業気象* **60**, 273-283.
- 奥村智憲・井勢卓也・谷 晃・深山貴文・小南裕志・東野 達, 2013: スギ葉のモノテルペン放出に葉温と光強度が与える影響. *Eco-Engineering* **25**, 117-121.
- Okumura M, Tani A, Kominami Y, Takanashi S, Koshugi Y, Miyama T, Tohno S, 2008a: Isoprene emission characteristics of *Quercus serrata* in a deciduous broad-leaved forest. *Journal of Agricultural Meteorology* **64**, 49-60.
- 奥村智憲・谷 晃・小杉緑子・高梨 聡・深山貴文・小南裕志・東野 達, 2008: ヒノキ葉から放出されるモノテルペンの日変化と季節変化. *Eco-Engineering* **20**, 89-95.
- Okumura M, Tani A, Tohno S, Shimomachi A, 2008b: Light-dependent monoterpene emissions from an oak species native to Asia. *Environmental Control in Biology* **46**, 257-265.
- Ren Y, Ge Y, Gu B, Min Y, Tani A, Chang J, 2014: The role of management strategies and environmental factors in determining the emissions of biogenic volatile organic compounds from urban greenspace. *Environmental Science & Technology* **48**, 6237-6246.
- 谷 晃, 2010: 植物からのテルペン類放出測定. *大気環境学会誌* **45**, A13-20.
- Tani A, 2013: Fragmentation and reaction rate constants of terpenoids determined by proton transfer reaction-mass spectrometry. *Environmental Control in Biology* **51**, 23-29.
- 谷 晃, 2014: 植物と環境の相互作用 - 植物による大気浄化とアロマの放出. *フレグランスジャーナル* **57**, 72-79.
- 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* **61**, 113-122.
- Tani A, Hewitt CN, 2009: Uptake of aldehydes and ketones at typical indoor concentrations by houseplants. *Environmental Science & Technology* **43(21)**, 8338-8343.
- Tani A, Kawawata Y, 2008: Isoprene emission from native deciduous *Quercus* spp. in Japan. *Atmospheric Environment* **42**, 4540-4550.
- 谷 晃・野副 晋, 1999: テルペン系ガス自動濃縮採取装置の試作. *農業気象東海支部会誌* **57**, 1-4.
- Tani A, Hayward S, Hansel A, Hewitt CN, 2004: Effect of water vapour pressure on monoterpene measurements using proton transfer reaction - mass spectrometry (PTR-MS). *International Journal of Mass Spectrometry* **239**, 161-169.
- Tani A, Hewitt CN, Hayward S, 2003: Measurement of monoterpenes and related compounds by proton transfer reaction - mass spectrometry (PTR-MS). *International Journal of Mass Spectrometry* **223-224**, 561-578.
- Tani A, Kato S, Kajii Y, Wilkinson M, Owen S, Hewitt CN, 2007: A proton transfer reaction mass spectrometry based system for determining plant uptake of volatile organic compounds. *Atmospheric Environment* **41**, 1736-1746.
- Tani A, Kitaya Y, Goto E, Saito T, Takahashi H, 2000: Effects of gravity on output of humidity sensors with different detection mechanisms at constant humidity. *Journal of Agricultural Meteorology* **56**, 209-215.
- Tani A, Kiyota M, Aiga I, Nitta K, Tako Y, Ashida A, Otsubo K, Saito T, 1996: Measurements of trace contaminants in closed-type plant cultivation chambers. *Advances in Space Research* **18(4/5)**, 181-188.
- Tani A, Nozoe S, Aoki M, Hewitt CN, 2002: Monoterpene fluxes measured above a Japanese red pine forest at Oshiba plateau, Japan. *Atmospheric Environment* **36**, 3391-3402.
- Tani A, Ohno T, Saito T, Ito S, Yonekura T, Miwa M, 2017: Effects of ozone on isoprene emission from two major *Quercus* species native to East Asia. *Journal of Agricultural Meteorology* **73**, 195-202.
- 谷 晃・斎藤隆雄・清田 信・相賀一郎, 1996: 閉鎖系内で蓄積する微量ガスに関する研究 - エチレンがサラダナの成育におよぼす影響 -. *生物環境調節* **34**, 37-43.
- Tani A, Tobe S, Shimizu S, 2010: Uptake of methacrolein and methyl vinyl ketone by tree saplings and implications for forest atmosphere. *Environmental Science & Technology* **44**, 7096-7101.
- Tani A, Tobe S, Shimizu S, 2013: Leaf uptake of methyl ethyl ketone and croton aldehyde by *Castanopsis sieboldii* and *Viburnum odoratissimum* saplings. *Atmospheric Environment* **70**, 300-306.
- Tani A, Tozaki D, Okumura M, Nozoe S, Hirano T, 2011: Effect of drought stress on isoprene emission from two major *Quercus* species native to East Asia. *Atmospheric Environment* **45(34)**, 6261-6266.