

令和 5 年 5 月 23 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H04324

研究課題名(和文) 耕地生態系動態解析のための土壌ガス7成分同時連続測定装置の開発とフィールド観測

研究課題名(英文) Continuous field observation of multiple soil gas fluxes for tracing soil ecosystem dynamics using a portable high-resolution mass spectrometer (MULTUM)

研究代表者

豊田 岐聡 (Toyoda, Michisato)

大阪大学・大学院理学研究科・教授

研究者番号：80283828

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,300,000円

研究成果の概要(和文)：マルチターン飛行時間型質量分析計「MULTUM」を用いた「土壌ガスの同時連続フラックス測定システム」を構築し、無機・有機ガス(N<sub>2</sub>・O<sub>2</sub>・CO<sub>2</sub>・N<sub>2</sub>O・CH<sub>4</sub>など)を同時に長期間連続測定できるシステムの構築を行なった。これまでの土壌表面のみの測定だけでなく、土壌中の複数の地点(深さ)のガス濃度を、2分間隔で計測できるシステムを構築した。施肥した土壌と施肥していない土壌を2系統同時測定したところ、施肥した土壌中では数ppmの亜酸化窒素が発生し、水の添加に伴う濃度上昇も捉えることができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

マルチターン飛行時間型質量分析計「MULTUM」を用いた「土壌ガスの同時連続フラックス測定システム」を構築した。特に、これまでの土壌表面のフラックスみの測定だけでなく、土壌中の複数の地点(深さ)のガス濃度を、2分間隔で同時に計測できるようになり、土壌の物理化学性との関係も含めた生物過程の指標として活用できるだけでなく、不均一な土壌中の平均場を評価する計測法として非常に有益な測定システムとなる。

研究成果の概要(英文)：We have constructed a "Simultaneous Continuous Flux Measurement System for Soil Gas" using a multi-turn time-of-flight mass spectrometer called "MULTUM." This system allows for the simultaneous long-term continuous measurement of inorganic and organic gases (such as N<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>O, CH<sub>4</sub>, etc.). In addition to surface measurements, we have built a system capable of measuring gas concentrations at multiple points (depths) within the soil at 2-minute intervals. Using commercially available horticultural soil, we conducted simultaneous measurements of fertilized and unfertilized soils. As a result, we observed the emission of several ppm of nitrous oxide from the fertilized soil, and we were able to capture concentration increases associated with water additions. Thus, this system enables the monitoring of the dynamics of soil gases within the soil.

研究分野：質量分析学

キーワード：土壌ガス 多成分同時連続モニタリング マルチターン飛行時間型質量分析計 オンサイトモニタリング  
オンサイトマススペクトロメトリー

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

## 1. 研究開始当初の背景

近年、温暖化をはじめとする地球環境変動が大きな問題となっている。温暖化が進めば、例えば大型台風の頻度増や前線などによる豪雨での降雨量増など、温暖化の影響は我々の生活に直接大きな被害をもたらす。農業分野における温室効果ガス類（GHG類：二酸化炭素 CO<sub>2</sub>、メタン CH<sub>4</sub>、亜酸化窒素 N<sub>2</sub>O など）の排出は、2010年の時点で世界の温室効果ガス排出量の約5分の1をしめており、その抑止は農業セクターに課せられた大きな課題である。これらGHG類は、土壤微生物による酸化還元反応で生じ、土壤構造と気象要素に大きく影響を受けると共に、その排出は、土壤中の有機物や有機・無機肥料中の炭素や窒素が深く関係している。また、土壤へ施用した肥料や堆肥中の養分は、これらの養分が土壤微生物活動により、作物が利用可能な化学形態へ変換され、それらが土壤構造状態によって運ばれるという一連のサイクルを繰り返すことで、作物の利用へとつながっている。すなわち、微生物活動と土壤物理化学性、化学物質等の挙動を明らかにすることが、温室効果ガス類排出抑制対策や作物生育状態管理においても重要となってくる。

しかし、実際の土壤環境は極めて複雑である。土壤中には多種多様な微生物や菌類が生息し、また存在する生物群集の全てが均一に活動しているとは限らず、生物群集構造とそれらの生物活性状況を直接・網羅的に計測することは、現時点では不可能である。さらに、土壤中では堆肥養分がどのような化学形態で存在し、土壤中では局在している農作物の根からどれだけが取り込まれているのかについては、土壤の持つ物理化学的かつ生物的な不均一性の高さから、定量的な解析が極めて困難である。

温室効果ガスでもある二酸化炭素・亜酸化窒素・一酸化窒素・メタンといった土壤中に存在するガスは、微生物が土壤中の炭素や窒素を利用して行う呼吸、硝化や窒素固定などの生物活動が、土壤環境状態に影響を受けながら生成（あるいは消費）される生態系起源ガスである。また、エチレンは、土壤微生物が関与する植物ホルモンであり、間接的な作物生育状態評価の有用な指標となる。さらに、土壤内部の酸化還元環境状態を知る上で、土壤内部の酸素濃度はその直接的な指標となる。つまり、これらの生態系起源ガス類を同時かつ連続的に土壤内部の各深度および地表面で測定すれば、土壤の物理化学性との関係も含めた生物過程の指標として活用できるだけでなく、不均一な土壤中の平均場を評価する計測法として非常に有利である。

様々なガス種が耕地生態系の生物・物理化学プロセス研究のトレーサーとして有用であると考えられるにもかかわらず、現在のガス分析手法では、多成分ガスの測定のためには、ガス種に応じた個別の測定装置や煩雑な前処理が必要であり、ガス分析技術の制約から、野外での高頻度での同時多成分ガス分析がほとんどなされていないのが現状である。

## 2. 研究の目的

本研究では、これまで開発を行ってきた4成分土壤ガスフラックスの連続同時測定システムを、7成分の無機・有機ガス（N<sub>2</sub>・O<sub>2</sub>・CO<sub>2</sub>・N<sub>2</sub>O・NO・CH<sub>4</sub>・C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>）を同時連続測定できるシステムへと拡張する。新たに土壤内部ガス採取のための浸透膜採気システムを開発し、MULTUMに接続することで、土壤内部および地表面での土壤ガス類同時連続測定手法を開発する。開発したシステムを圃場フィールド観測へ適用して、世界に先駆けて、土壤内部および地表面における全7成分耕地生態系起源ガスを、一挙に2分程度の高時間分解能で捉える。各成分間の関係、土壤物理化学性や気象要素、作物生育状態等との関係について考察を行い、多成分ガスの動態を明らかにすることを目的とする。

研究代表者らが開発した、デスクトップ PC サイズでありながら高質量分解能を達成可能なマルチターン飛行時間型質量分析計「MULTUM」を用いたガス分析システムにより、土壤起源の温室効果ガスであり、かつ生物起源ガスである二酸化炭素・亜酸化窒素・一酸化窒素・メ

タン ( $\text{CO}_2 \cdot \text{N}_2\text{O} \cdot \text{NO} \cdot \text{CH}_4$ ), 土壌の酸化還元環境状態の指標となる窒素・酸素 ( $\text{N}_2, \text{O}_2$ ), および土壌微生物が関わる植物ホルモンであるメチレン ( $\text{C}_2\text{H}_4$ ) について, これらの濃度差が 6 桁以上異なる 7 種の多成分ガスを, 圃場土壌内部およびその地表面並びに地中で, 一挙に同時連続測定を行う。

### 3. 研究の方法

マルチターン飛行時間型質量分析計「MULTUM」(infiTOF-UHV, MSI.TOKYO 製) に土壌チャンパーを接続した, 土壌表面からの複数ガスフラックス連続測定システムは開発済みであった。しかしながらこれまで用いてきた infiTOF-UHV は, 老朽化し修理部品も手に入らなくなったため, 新型である infiTOF-DUO (MSI.TOKYO 製) を新たに購入した。当研究では, 微量ガスの分析が求められるため, 大阪大学で開発したイオンカウンティングシステムとアベレージングを併用できるシステムを導入する必要があるため, まずは infiTOF-DUO の制御システムを改造することから始めた。infiTOF-UHV と infiTOF-DUO の電源回路や制御システム, ソフトウェアは全く異なるものになっているため, 制御回路やシステムなどをゼロから再開発を行なった。

また, これまで行なってきた地表面でのフラックス測定に加えて, 土壌内部の生態系起源ガスの挙動を捉えるために, 土壌内部のガス採取法の開発を行なった。散水用ポラスチューブや 3D プリンターを用いて様々な形状のガスサンプラーを作成し, 市販されている衣類用の透湿防水素材をサンプラー側面に貼ることで, 水の侵入を防ぐこととした。これら作成したガスサンプラーの性能評価をし, 土壌中および土壌表面の複数箇所のガス濃度を同時に測定可能なシステムを構築した。

### 4. 研究成果

#### (1) 測定システムの開発ならびに評価

まず, 飛行時間型質量分析計の検出器として用いているマイクロチャンネルプレート (MCP) のゲイン低下について評価・検討を行なった。MCP はイオンが入射すると, その後一定時間, 当該チャンネルのゲインが低下することが知られている。これにより測定するガス濃度の定量性に影響が出る。マルチターン飛行時間型質量分析計で, 周回数を変えながら測定することで, ゲイン低下の程度と回復時間の評価を行なった。その結果, ゲイン低下後, MCP の RC 時定数程度の時間で回復していることが確認された (J. Mass Spectrom., 56 (2021), e4706.)。現在, さらなる評価, メカニズムに関する研究を続けてはいるが, MCP をゲイン低下が起こらないように低いゲインで用いることが現時点で考えられる解決策であるため, MCP とアバランシェフォトダイオードを組み合わせた検出器を用いることとした。

続いて, 質量分析計にリアルタイムフィードバック (質量及びイオン強度の較正) 機能を追加し, ガス測定システム全体の長時間の安定性の評価を行なった。その結果, 建物の廊下で窓などを極力開けて屋外に近づけた環境下での 48 時間の大気濃度  $\text{CO}_2$  の連続測定で, 質量精度が 0.45 mDa, 濃度の CV 値が 8.6%であった (Int. J. Mass Spectrom., 463 (2021), 116555)。

また, これらの評価の副次的な成果として, マルチターン飛行時間型質量分析計で長年問題になっていた, 周回中に質量が小さいイオンが大きいイオンを追い越す問題の解決法を見出した。追い越しが起こったとしても, マルチターン飛行時間型質量分析計の高い質量精度を活かせば, 追い越しが起こったスペクトルであってもコンピューター上で復元できるということを実証した (Mass Spectrometry (Tokyo), 10 (2021), A0098. 特願 2021-114594)。この方法を用いれば, 広い質量範囲の対象物を高分解能で同時に測定ができるようになり, 高スループットでの測定が可能になった。

## (2) 土壌内部ガス採取システムの開発

まずは、土壌中の水分や土などがガスサンプリング系に入り込まないように、市販されている暗渠排水パイプや散水用ポラスチューブ（図 1）に透湿性防水シート（タイベック，デュポン製）を巻きつけたものを用いることとした。チューブを地中に埋め、チューブ中に拡散した土壌ガスを、これまでの



図 1 ポーラスチューブ

チャンバー法と同様のガス分析系を利用して 2 分間隔で亜酸化窒素濃度を計測できるシステムを構築した（図 2）。チューブ内のガスを循環させることで、局所的なガスをサンプリングできるようにした。実際に実験室内で、市販されている園芸用の土を用いて評価を行い、土中の亜酸化窒素濃度が、土に水を含めると 1ppm 以上発生していることを捉えることに成功した。土壌表面でガスが薄まっている状況と異なり、ガス密度がかなり高いことが分かった。しかしながら、ポーラスチューブ内へのガスの拡散に 20 分程度要することが分かり、数分以内のガスの挙動を捉えることが出来ないことが分かった。

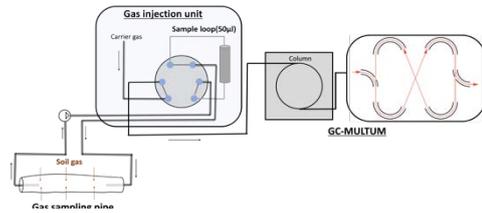


図 2 土壌内部ガス採取測定システム

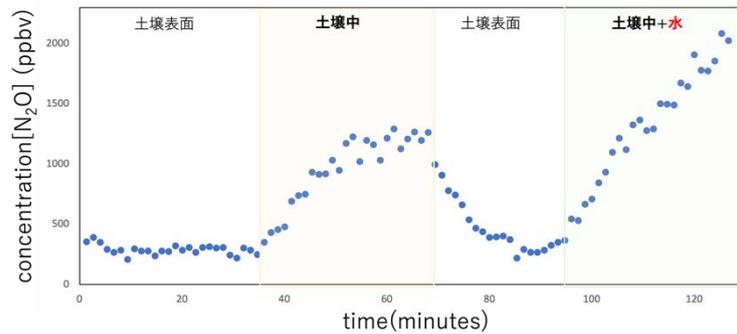


図 3 サンプリングチューブを、土壌表面→土壌中→土壌表面→水を撒いた土壌中と変えた場合の亜酸化窒素濃度の変化

そこで、ガスサンプリングチューブの応答を速くするために、3D プリンターを用いて様々な形状のガスサンプラーを作成し（図 4）、その側面に透湿性防水シート（タイベック）を貼ることで、土や水の侵入を防ぐようにした。このガスサンプラーを用いて、評価を行った。この系では、測定頻度の 2 分以内の時間で十分にガスの置換が起こっていることを確認した。

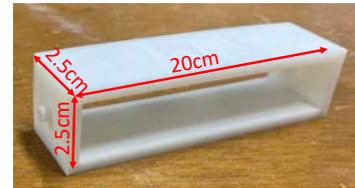


図 4 3D プリンターで作成した土壌ガスサンプラー

さらに、複数箇所（深さ）の土壌ガス濃度を同時に測定可能なように、2 系統切り替え方式に改良した（図 5）。2 系統で経路を共有していることによる影響を評価し、影響は無視できることを確認した。そして、このシステムを用いて、肥料を施肥した土壌と、施肥していない土壌の 2 系統を同時に測定して比較する評価を行なった（図 6）。14L の園芸用の土をケースにいれ、そこに作成したサンプラーを設置して、亜酸化窒素濃度をモニターした。施肥した土壌では 6 倍程度の亜酸化窒素が発生しており、水を 2 回目に添加した直後から亜酸化窒素濃度が上昇することを捉えることに成功した。1 回目の水の添加では、土壌中が嫌気状態になるには十分な量ではなかったと考えられる（図 7）。

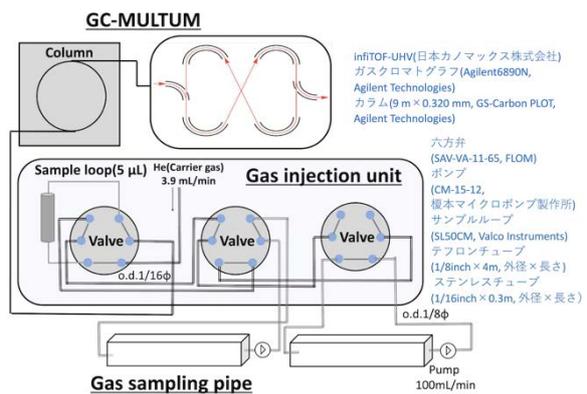


図 5 2 系統同時測定システムの概略図

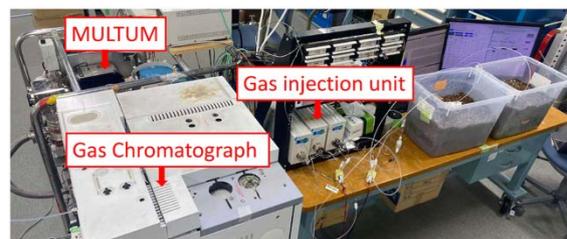


図 6 2 系統の土壌を測定したシステムの写真

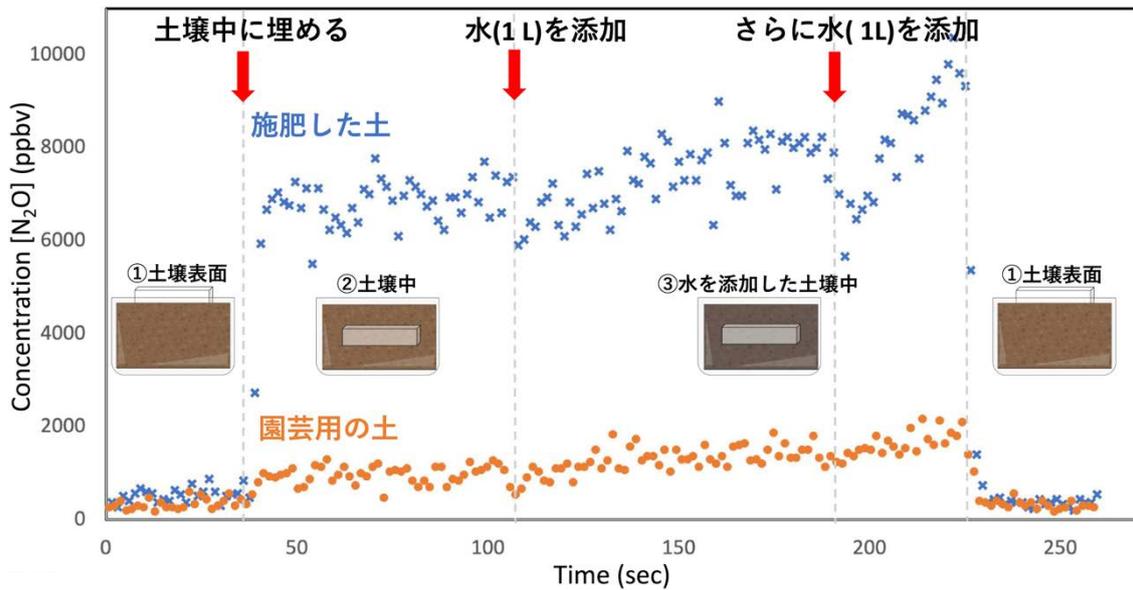


図7 2系統の土壌を測定したシステムで、施肥した土と施肥していない土の2系統を同時に測定した結果.

このシステムでは3系統までのガス濃度を2分間隔で切り替えて測定を行える. さらに系統を増やすためには六方バルブを追加すればよい. 本研究により, 亜酸化窒素の土壌中の深さが異なる地点と, さらには土壌表面のフラックスを切り替えではあるが, 同時に計測が可能なシステムが構築できた.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Toshinobu Hondo, Michisato Toyoda	4. 巻 10
2. 論文標題 A Method for Expanding Mass Range on a Multi-Turn Time-of-Flight Mass Spectrometer by a Lap Superimposed Spectrum	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Mass Spectrometry (Tokyo)	6. 最初と最後の頁 A0098
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.5702/massspectrometry.A0098	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Kobayashi Hiroshi, Hondo Toshinobu, Toyoda Michisato	4. 巻 56
2. 論文標題 Evaluation of microchannel plate gain drops caused by high ion fluxes in time of flight mass spectrometry: A novel evaluation method using a multi turn time of flight mass spectrometer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Mass Spectrometry	6. 最初と最後の頁 e4706
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/jms.4706	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hondo Toshinobu, Nakayama Noriko, Toyoda Michisato	4. 巻 463
2. 論文標題 Gas chromatography/miniaturized time-of-flight mass spectrometry technique for high-throughput quantitative on-site field analysis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Mass Spectrometry	6. 最初と最後の頁 116555 ~ 116555
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ijms.2021.116555	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 2件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 中山 典子, 当真 要, 古谷 浩志, 波多野 隆介, 豊田 岐聡
2. 発表標題 可搬型高分解能質量分析計MULTUMによる土壌起源温室効果ガスの多成分同時連続フラックス観測：土壌内プロセスの追跡ツールとして
3. 学会等名 日本土壌肥料学会 2020年度岡山大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 鈴木舜也・当真要・中山典子・本堂敏信・河井洋輔・大塚洋一・古谷浩志・豊田岐聡
2. 発表標題 マルチターン飛行時間型質量分析計を用いた土壤中ガスの連続測定
3. 学会等名 第70回質量分析総合討論会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 豊田岐聡
2. 発表標題 質量分析装置の開発について-マルチターン飛行時間型質量分析計の開発を例に-
3. 学会等名 日本プロテオーム学会2022年大会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 豊田岐聡
2. 発表標題 質量分析技術の可能性と将来展望
3. 学会等名 第131回分析マネジメント研修会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 鈴木舜也・吉松佑華・当真要・本堂敏信・河井洋輔・大塚洋一・豊田岐聡
2. 発表標題 マルチターン飛行時間型質量分析計を用いた土壤中ガスの連続測定
3. 学会等名 第71回質量分析総合討論会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 飛行時間型質量分析方法、飛行時間型質量分析装置、および飛行時間型質量分析プログラム	発明者 本堂敏信，豊田岐聡	権利者 国立大学法人大阪大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2021-114594	出願年 2021年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	当真 要  (Toma Yo)  (10514359)	北海道大学・農学研究院・教授   (10101)	
研究分担者	古谷 浩志  (Furutani Hiroshi)  (40536512)	大阪大学・科学機器リノベーション・工作支援センター・准教授   (14401)	
研究分担者	中山 典子  (Nakayama Noriko)  (60431772)	大阪大学・理学研究科・助教   (14401)	令和3年3月31日まで。 付令和3年4月1日付で大阪大学経営企画オフィスURA部門に転出し、研究活動にエフォートを割くことができなくなったため。

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------