

穩定同位素在農業研究之應用

農試所農化組 劉滄琴

一、前言

氫、氧、碳、氮和硫等穩定同位素普遍存在於大氣圈、水圈、岩石圈及生物圈中，它們在自然界中的含量豐富，且屬質量較輕的元素。所謂同位素為元素之質子數相同，但因具不同之中子數導致質量數不同，如表一中之 ^{16}O 、 ^{17}O 、 ^{18}O 。一般而言，質量較輕的同位素含量較豐(如表一中之 ^{12}C 、 ^{14}N 、 ^{16}O 、 ^{32}S 和 ^1H)；相較而言，質量較重的同位素(如表一中之 ^{13}C 、 ^{15}N 、 ^{18}O 、 ^{34}S 和 ^2H)含量較低。近30年以來，由於相關測定穩定同位素比值($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 、 $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ 、 $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ 、 $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$ 和 $^2\text{H}/^1\text{H}$)的儀器，如氣相同位素比值質譜儀或同位素光譜儀，不僅在分析精確性的提高，同時逐漸普及於各國之實驗室，使得穩定同位素的技術成為各地球環境相關領域研究的有力工具之一。

二、穩定同位素分析

上述氫、氧、碳、氮和硫等穩定同位素的研究主要探討反應物與產物

間相關同位素的比值($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 、 $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ 、 $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ 、 $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$ 和 $^2\text{H}/^1\text{H}$)變化的比較；此反應物與產物間的同位素比值差異乃由同位素分化作用造成。依國際規則及可跨實驗室比較，同位素的比值以 δ 表之(如 $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ 、 $\delta^{18}\text{O}$ 、 $\delta^{34}\text{S}$ 和 $\delta^2\text{H}$)，其定義為：

$$\delta (\text{‰}) = (R_{\text{Sample}}/R_{\text{Reference}} - 1) \times 1000 \dots \dots \dots (1)$$

(1)式中R為 $^2\text{H}/^1\text{H}$ 、 $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ 、 $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 、 $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ 或 $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$ ， R_{Sample} 為樣品之同位素比值， $R_{\text{Reference}}$ 為國際共同標準品的同位素比值(表一)。因為同位素分化作用(fractionation)造成同位素含量之變化是微量的，因此以千分比(‰)為單位。

同位素比值的測定早先是以「同位素比值型質譜儀」(isotope ratio mass spectrometer)為之。因質譜儀精密，其測定及維護需花費較大之精神及經費，才能維持分析水準。有別於質譜分析，近年有以光譜分析技術的「同位素分析儀」商品化，使同位素分析較質譜分析更為快速、簡便，維護更為容易。但「氣相同位素比值型質譜儀」與「同位素分析儀」在分析及維護上互有長、短之處，端看使用者之需求。

作者：劉滄琴副研究員
連絡電話：04-23317426

三、同位素分化作用

穩定同位素的技術在各相關領域研究的基礎在於同位素分化作用(isotope fractionation)。扼要而言，同位素分化作用是指同種元素雖進行相同的化學反應，但是輕、重同位素間因質量、鍵結能的差異，會導致在不同條件下(如溫度)，各同位素間的反應速率不同，進而造成輕、重同位素以不同的比例分配在產物及反應物中。因此，我們可藉由相關元素之同位素組成的變化，探討相關自然環境變遷的訊息及意義。

以光合作用為例， C_4 植物之 CO_2 固定效率較 C_3 植物為高，以避免長時間打開氣孔，導致水分通過蒸散作用過快的流失。因 C_4 與 C_3 植物之固碳途徑不同，故有不同的碳同位素分化作用；相對而言， C_4 型植物具相對較多之 ^{13}C 之同位素，其 $^{13}C/^{12}C$ 比值($\delta^{13}C$)也較高(Lajtha and Marshall, 1994; O'Brien, 2015)。因此，

表一、氫、氧、碳、氮、硫等穩定同位素之同位素含量、同位素之比值、待測氣體、參考標準及參考標準之同位素比值的綜合整理(彭宗仁等, 2006)

| 元素 | 同位素豐度(%) | 待測氣體 | 同位素比值 | 國際參考標準品 | 參考標準品比值 |
|----|--|------------------|-------------------|---------|-------------------------|
| H | 1H : 99.985 2H : 0.015 | H_2 | $^2H / ^1H$ | VSMOW | 1.5575×10^{-4} |
| O | ^{16}O : 99.795 ^{17}O : 0.037 ^{18}O : 0.204 | CO_2 | $^{18}O / ^{16}O$ | VSMOW | 2.0052×10^{-3} |
| C | ^{12}C : 98.89 ^{13}C : 1.11 | CO_2 | $^{13}C / ^{12}C$ | VPDB | 1.1237×10^{-2} |
| N | ^{14}N : 99.633 ^{15}N : 0.366 | N_2 | $^{15}N / ^{14}N$ | AIR-N2 | 3.677×10^{-3} |
| S | ^{32}S : 95.00 ^{33}S : 0.76 ^{34}S : 4.22 ^{36}S : 0.014 | SO_2 SF_6 | $^{34}S / ^{32}S$ | CDT | 4.5005×10^{-2} |

$^{13}C/^{12}C$ 比值記錄著植物生長環境(CO_2 含量、水分境況)的條件。

續以脫氮作用為例。高硝酸根(NO_3^-)濃度的地下水處在無氧環境中，如果再無 NO_3^- 進入補充的話，地下水就有機會因脫氮作用而減緩其污染程度。地下水經歷顯著之脫氮作用後不僅其 NO_3^- 濃度會較初始濃度為低，同時其 $^{15}N/^{14}N$ 比值($\delta^{15}N$)較初始比值為高(Kendall, 1998)。在微生物參與的脫氮作用過程中，要打斷與重的同位素原子間之鍵結(如 $^{15}N-^{15}N$)要較與輕的同位素原子(如 $^{14}N-^{14}N$)需要較多的能量。因此，當微生物將 NO_3^- 中的N轉化成 N_2 時，會生成含較輕同位素(^{14}N)較多的氮氣，而殘餘的 NO_3^- 則會較富集 ^{15}N ；是故，反應物(NO_3^-)之 $^{15}N/^{14}N$ 比值較產物(N_2)之比值為高。在一連續之脫氮作用之後，較後階段地下水之 $^{15}N/^{14}N$ 比值($\delta^{15}N$)會較前階段為高。因此，可藉比較各時間階段地

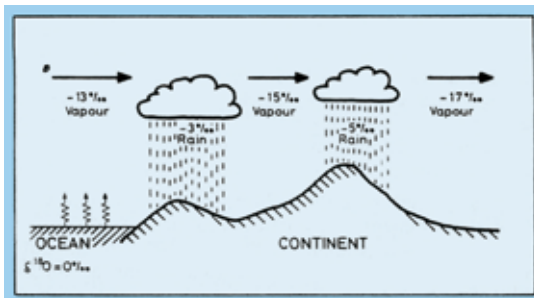
下水之 $\delta^{15}N$ 值與初始值以評估地下水經歷脫氮作用的程度。

再者以水(H_2O)之蒸發及凝結作用為例。一般而言，水之氫與氧原子具同步趨勢之同位素分化作用。陸域之非深地層水體均由大氣降水而來，而降水之氣團源自海水蒸發之水

氣(圖一)。海水之 $\delta^2\text{H}$ 及 $\delta^{18}\text{O}$ 均在0%左右,在蒸發作用過程, ^{16}O (或 ^1H)或較 ^{18}O (或 ^2H)容易進入汽相,造成蒸發之水氣會相對海水富集 ^1H 及 ^{16}O 同位素,故水氣之 $\delta^2\text{H}$ 及 $\delta^{18}\text{O}$ 值會小於0%。假設水氣之 $\delta^{18}\text{O}$ 值為-13%,此水氣先在海岸地區凝結降水,其值約-3%,在凝結作用過程,氣團中之 ^{18}O (或 ^2H)會較 ^{16}O (或 ^1H)容易在降水內;此舉會造成降水後之氣團內之 ^{18}O (或 ^2H)相對含量較初始氣團為少($\delta^{18}\text{O}$ 值變小,如圖一之-15或-17%)。因此,越後階段氣團內之 $\delta^{18}\text{O}$ 值會越低於初始之-13%;也就造成越後階段之降水之 $\delta^{18}\text{O}$ 值也越小(如圖一之-5%)。是故會有內陸水體之 $\delta^{18}\text{O}$ 值會較海岸地區之值為低的地理差異。因此,不同環境或地區的水體其 $\delta^2\text{H}$ 或 $\delta^{18}\text{O}$ 特徵值可能相異;此水體之 $\delta^2\text{H}$ 或 $\delta^{18}\text{O}$ 地理差異亦會反應在植體上,造成不同地理區之農作物會有相異之 $\delta^2\text{H}$ 或 $\delta^{18}\text{O}$ 值。此為以氫氧同位素作為鑑別相關農產品產地來源之原理依據。

四、現階段研究成果

農委會農業試驗所自2006年購置「同位素比值型質譜儀」以來,除單位本



圖一、水分子自海水蒸發到冷凝降水期間之同位素分化示意圖(Hoefs, 1987)。

身之研究任務外,也與各相關學術單位合作,以穩同位素技術進行相關課題研究。以下扼述近10年以來之部分成果。

(一)有機栽培蔬菜之鑑別試驗研究

不同來源的氮會有不同的 $\delta^{15}\text{N}$ 值。因為化學肥料的製造以大氣中之氮作為原料(哈柏法),所以化學肥料的 $\delta^{15}\text{N}$ 值與大氣相似,約為0%。動物排泄物之 $\delta^{15}\text{N}$ 值會明顯較大,這是因為新鮮的動物排泄物中之 $^{14}\text{NH}_3$ 較 $^{15}\text{NH}_3$ 容易揮發,導致動物排泄物表現出較大的 $\delta^{15}\text{N}$ 值,約10~25%。基於化肥與動物排泄物(有機肥)之 $\delta^{15}\text{N}$ 值有明顯差距,如果施用化學肥料者,其植體中之 $\delta^{15}\text{N}$ 值應會與施用有機肥之值有所區別。

由表二之結果顯示,如果在產地上能同時分析植體及所施用之有機肥之 $\delta^{15}\text{N}$ 值,且植體之 $\delta^{15}\text{N}$ 值大於有機肥之 $\delta^{15}\text{N}$ 值的情況,初步可認為此蔬菜是有機蔬菜。相反地,如果全程施用化肥,則蔬菜植體之 $\delta^{15}\text{N}$ 值會在0%左右。

(二)市售瓶裝海洋深層水之水源鑑別

誤貼標籤和攙雜假貨的問題一直都存在,它不僅威脅誠實商人的生計,同時也影響消費者的權利。市售瓶裝飲用水依其水源可分成陸域淡水來源及海域海水來源兩類。以海水做為水源之瓶裝水是將海水透過適當之海水淡化處理後製備而成;以陸域淡水為水源之瓶裝飲用水,依其水源或處理方式之不同,常被標示為純水、天然水、礦泉水、礦質水、湧泉水或竹炭水等展售。以台灣市場瓶裝飲用水之單價而言,使用海水做為水源之瓶裝水(包括國內及進口之海洋

深層水商品)約每公升新台幣30至170元。另一方面,以陸域淡水為水源之市售瓶裝飲用水,其價格約為每公升18至35元。相較而言,亦可做為飲用水的自來水其每公升僅約0.01元。因此,市售瓶裝水之單價遠高於自來水。

由圖二之結果顯示,除有一商品(DSDW-B)之 $\delta^2\text{H}$ 與 $\delta^{18}\text{O}$ 特徵值與陸域水體相同外,其餘海洋深層水商品之 $\delta^2\text{H}$ 與 $\delta^{18}\text{O}$ 值與海水之特徵值相近(Peng et al., 2015)。DSDW-B之海洋深層水標示應該是錯誤的。

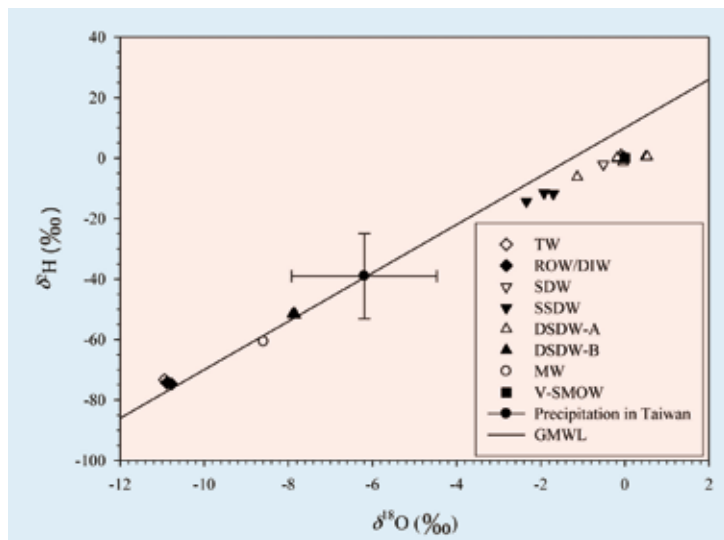
(三)大蒜產地之鑑別研究

由於地理位置、氣候條件及土壤母質不同,造成不同產地植體之同位素組成及微量元素特徵互有差異。分析大蒜標本之 $\delta^2\text{H}$ 及 $\delta^{18}\text{O}$ 值及銣、鋇等25種微量元素濃度,配合主成份分析進行產地區分。試驗標本包括來自阿根廷、中國、越南、韓國及台灣。

由圖三之結果顯示, $\delta^2\text{H}$ 及 $\delta^{18}\text{O}$ 值能清楚區分出阿根廷(南美洲)及亞洲各國標本,但不能清楚區分亞洲內之各國標本。進一步以PCA分析,結果顯示(圖四),台灣標本與中國、越南、韓國皆能清楚區分;越南標本可與韓國標本區分,韓國標本可與中國標本區分,但少數越南標本落於中國福建標本群組內。

表二、栽培材料及不同處理青江菜之 $\delta^{15}\text{N}$ 和 $\delta^{13}\text{C}$ 分析值(劉滄琴等, 2009)

| 材料/處理 | $\delta^{15}\text{N}$ (‰) | $\delta^{13}\text{C}$ (‰) |
|------------|---------------------------|---------------------------|
| 材料 | | |
| 種子 | 2.35 | -28.76 |
| 栽培介質 | 3.49 | -27.33 |
| 有機肥 | 17.64 | -24.51 |
| 化肥 | -0.30 | -36.11 |
| 各處理 | | |
| 對照 | 9.56 | -32.59 |
| | 5.46 | -32.93 |
| | 4.62 | -32.62 |
| 平均值 | 6.55 | -32.71 |
| 施有機肥 | 19.06 | -30.53 |
| | 18.92 | -31.44 |
| | 21.19 | -31.76 |
| 平均值 | 19.72 | -31.24 |
| 施化肥 | 0.99 | -30.60 |
| | -0.11 | -33.00 |
| | 1.55 | -31.53 |
| 平均值 | 0.81 | -31.71 |
| 施有機及化肥 | 7.12 | -32.51 |
| | 15.71 | -32.28 |
| | 15.54 | -32.29 |
| 平均值 | 12.78 | -32.29 |



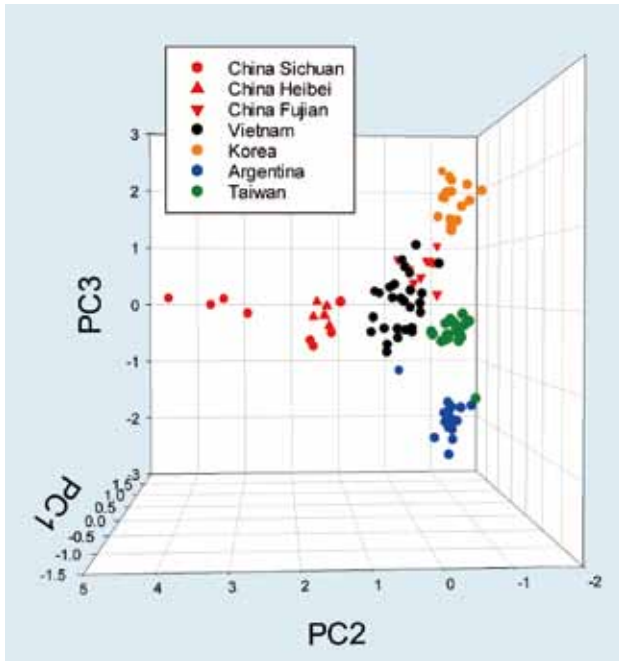
圖二、各相關水體 $\delta^2\text{H}$ 與 $\delta^{18}\text{O}$ 之關係圖(Peng et al., 2015)。圖上顯示DSDW-B海洋深層水商品之 $\delta^2\text{H}$ 與 $\delta^{18}\text{O}$ 特徵值與陸域水體相同,但海水源水體有極大之差異。

(四)生態食物網之確認

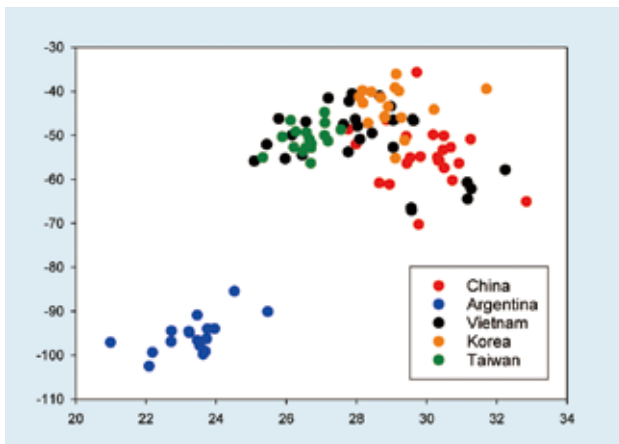
利用穩定碳、氮同位素研究食物網的原理主要是建構在食物營養的關聯性；也就是消費者體內之碳、氮之同位素組成會與其所覓取食物源之同位素組成相似。然而因代謝作用，造成消費者

體內之 ^{13}C 和 ^{15}N 的同位素含量會比其食物內相對較多。也就是說，較高營養階生物體內 ^{13}C 和 ^{15}N 的同位素含量相對會比低營養階生物體內為多，而造成具較重之 $\delta^{13}\text{C}$ 與 $\delta^{15}\text{N}$ 值 (Rossmann, 2001)。一般而言，碳穩定同位素常用於食物來源之追

蹤，而氮穩定同位素則常用於營養階層的建立 (Fry, 1999)。七家灣溪位於雪霸國家公園境內的大甲溪上游支流，是珍貴稀有保育動物台灣櫻花鉤吻鮭目前僅存的主要棲地；因此，七家灣溪生態保育功能極受各界重視。本研究之目的即透過碳、氮同位素技術，配合已有之研究資訊，了解七家灣溪之食物網特徵，進而了解台灣櫻花鉤吻鮭各營養來源之相對重要性。由 $\delta^{13}\text{C}$ 及 $\delta^{15}\text{N}$ 特徵值顯示(圖五)， C_3 型濱岸植物是七家灣溪最重要的基礎營養來源。由IsoSource軟體分析七家灣溪各營養階主要食物來源之結果顯示，在營養關聯由基礎生產者至消費者依序為： C_3 型濱岸植物、濾食性水棲昆蟲、掠食性水棲昆蟲、台灣櫻花鉤吻鮭(陳良偉等，2011)。



圖三、由 $\delta^2\text{H}$ 與 $\delta^{18}\text{O}$ 之比較，可清楚區分阿根廷(南美洲)及亞洲各國之大蒜標本。



圖四、以PCA分析能清楚區分台灣與中國、越南、韓國大蒜之差異。

五、結語

近30年由於相關測定穩定同位素組成的儀器，如氣相同位素比值質譜儀或同位素光譜儀，不僅在分析精確性的提高，同時普及於各國之實驗室，使得穩定同位素的技術成為農業及環境相關領域研究的有力工具之一。穩定同位素的研

究主要是建立在因同位素分化作用所造成的同位素比值差異，在了解造成此差異之原因後，進而協助我們研究農業環境之課題。未來本所除原有之 ^{13}C 、 ^{15}N 、 ^{18}O 和 ^2H 同位素分析外，將建立硫同位素($\delta^{34}\text{S}$)之分析技術，同時配合同位素光譜儀的購入，提升同位素技術能力。

六、參考文獻

陳良偉、林幸助、彭宗仁、郭美華、蔡尚。2011。以穩定同位素探討台灣櫻花鉤吻鮭之營養來源及其食物網。農林學報。60(2): 93-107。

彭宗仁、劉滄琴、林幸助。2006。穩定同位素在農業及生態環境研究上之應用。台灣農業研究。55(2): 79-90。

劉滄琴、彭宗仁、吳昇鴻、范家華、林毓雯。2009。分析植體氮同位素組成鑑別有機蔬菜之初步評估。台灣農業研究，58(3): 169-175。

Fry, B. 1999. Using stable isotope to monitor watershed influences on aquatic trophodynamics. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 56: 2167 – 2171.

Hoefs, J. 1987. *Stable Isotope Geochemistry*. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg.

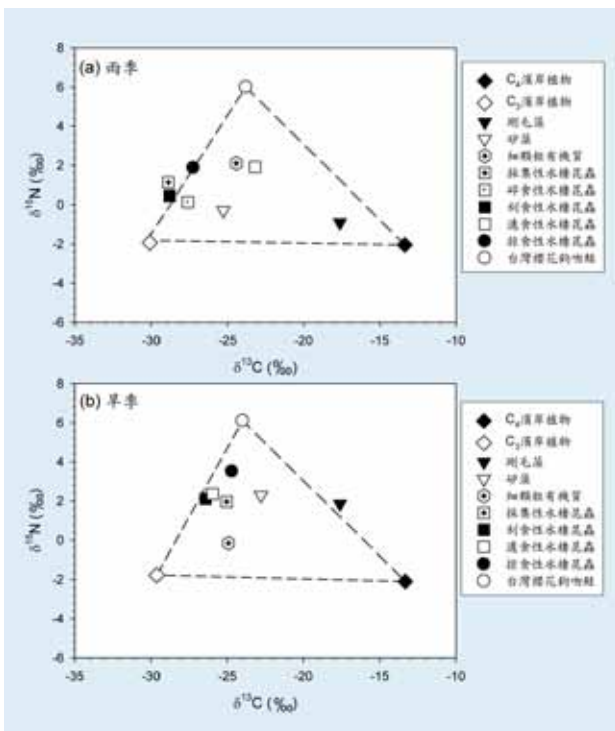
Kendall, C. (1998). Tracing nitrogen sources and cycling in catchments. In C. Kendall and J. J., McDonnell, editors, *Isotope tracers in catchment hydrology*. Elsevier, Amsterdam. p. 519-576

Lajtha, K., and J. D. Marshall. 1994. Sources of variation in the stable isotopic composition of plants. In Lajtha K. and R. H. Michener, editors, *Stable isotopes in ecology and environmental science*. Blackwell Scientific Publications, London. p. 1-21.

O' Brien, D. M. 2015. Stable isotope ratios as biomarkers of diet for health research. *Annu. Rev. Nutr.* 35: 565-94.

Peng, T. R., W. J. Liang, T. S. Liu, Y. W. Lin, and W. J. Zhan. 2015. Assessing the authenticity of commercial deep-sea drinking water by chemical and isotopic approaches. *Isot. Environ. Health Stud.* 51: 322-331.

Rossmann, A. 2001. Determination of stable isotope ratios in food analysis. *Food Rev. Int.* 17(3): 347-381.



圖五、七家灣溪各主要食物源及消費者之 $\delta^{13}\text{C}$ 及 $\delta^{15}\text{N}$ 值比較圖 (陳良偉等, 2011)