

穩定同位素在農業及生態環境上之應用¹

彭宗仁^{2,5} 劉滄琴³ 林幸助⁴

摘 要

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：55:79~90。

近 20 年由於「氣相同位素比值質譜儀」的改良和氫、氧、碳、氮和硫等穩定同位素的廣泛研究，穩定同位素的研究技術已實質增加我們對於這些元素在自然生態系中生地化循環的瞭解。雖然物質具相同之化學組成，但如果來源不同或經不同物理/化學過程所產生，其同位素比值會因同位素的分化作用而有差異。穩定同位素的研究主要是建立在此同位素分化作用所造成的同位素比值差異，而此同位素比值差異可被質譜儀測知。在了解造成此差異之原因後，進而幫助我們解釋環境變遷的訊息及意涵。為讓國內更多相關研究人員了解穩定同位素技術的可利用性，本文描述氣相同位素比值質譜儀之分析原理，及整理氫、氧、碳、氮和硫等同位素在農業及相關生態環境研究上應用的文獻。

關鍵詞：穩定同位素、同位素分化作用、氣相同位素比值質譜儀

前 言

質譜儀最早是用於找尋穩定同位素，對大多數人而言，質譜儀分析就是表示有機分子結構的測定。然而，近 20 年內，「氣相同位素比值質譜儀」分析卻大幅地幫助我們增加對於自然生態系中有關 C、N、S、H 及 O 等元素之生地化循環的瞭解。

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。每一元素包括有一個含量較豐的優勢‘輕’同位素，如表 1 中之¹²C、¹⁴N、¹⁶O、³²S和¹H，和一個或兩個含量較少的‘重’同位素，如表 1 中之¹³C、¹⁵N、¹⁷O、¹⁸O、³³S、³⁴S和²H。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。曾經這些元素的同位素含量在自然界中被認為是固定不變的，然而，由於質譜儀測量精確性的提高，研究人員發現不同來源或經不同過程所產生的同一化學物質，其同位素比值間會因同位素分化作用(isotope fractionation) 而產生些微的差異現象 (Barrie & Prosser 1996)。穩定同位素的研究即建立在此因同位素分化作用所造成的同位素組成差異，進而幫助我們探討及了解大氣圈、水圈、岩石圈、土壤圈及生物圈等環境的變遷訊息。穩定同位素之技術應用層面廣泛，在原領域之研究方法上提供了另一類似示蹤之研究技術，常獲得更深入之關鍵資訊。也因氫、碳、氮、氧和硫等元素屬質量較輕的元素，一物質中此等元素之不同同位素間含量的變化，就較質量數較重的元素容易偵測，這就

1. 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第 2254 號。接受日期：95 年 4 月 5 日。

2. 國立中興大學土壤環境科學系助理教授。臺灣 臺中市。

3. 本所農業化學組助理研究員。臺灣 臺中縣 霧峰鄉。

4. 國立中興大學生命科學系教授。臺灣 臺中市。

5. 通訊作者，電子郵件：trpeng@dragon.nchu.edu.tw；傳真機：(04)22859950。

表 1. 氫、氧、碳、氮、硫等穩定同位素之同位素含量、同位素之比值、質譜儀待測氣體、參考標準及參考標準之同位素比值的綜合整理

Table 1. Summary of isotopic characteristic of hydrogen, oxygen, nitrogen, carbon and sulfur isotopes

Element	% natural abundance	Measured gas	Ratio	Reference	Abundance ratio of Reference
H	¹ H: 99.985 ² H: 0.015	H ₂	² H/ ¹ H	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-N ₂	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

是為何穩定同位素方面的研究，主要是利用氫、碳、氮、氧和硫等穩定同位素的原因 (Clark & Fritz 2000)。

同位素分化作用

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，而導致化學或物理作用的反應速率不同，這就是所謂的同位素分化作用。也就是說當物質發生某種物理或化學變化時，在反應系統中，產物的同位素組成與原反應物間存在差異，即輕、重同位素以不同的比例分配在產物及反應物中。因此，藉由相關元素之同位素組成的變化，探討大氣圈、水圈、岩石圈及生物圈等自然環境變遷的訊息及意義。

以植物之光合作用為例，因植物參與光合作用途徑不同而有 C₃、C₄ 及 Crassulacean acid metabolism (CAM) 三型態的區別，此三型態植物雖均行光合作用，但因途徑不同導致有不同的碳同位素分化作用，故其穩定碳同位素亦有所差異。相對而言，C₄ 型植物具相對較多之 ¹³C 之同位素，而 C₃ 型植物具相對較多之 ¹²C 之同位素 (Peterson & Fry 1987; Tieszen & Boutton 1988)，因此生態學家常利用此碳同位素組成的特徵差異去鑑定植物的光合作用途徑。在硝酸鹽的脫氮作用過程中，因涉及微生物反應所發生的同位素分化作用，主要是微生物與介質反應時，要打斷與重的同位素原子間之鍵結要較與輕的同位素原子需要較多的能量，因此微生物偏好利用較輕的氮同位素 (¹⁴N) 先於較重的同位素 (¹⁵N)，此原因造成由微生物所產生的物質 (產物)，會較未被反應的物質 (反應物或基質) 具有較輕的同位素組成 (¹⁴N 相對較多)。因此當微生物將 NO₃⁻ 中的 N 轉化成 N₂ 時，會生成含較輕同位素 (¹⁴N) 較多的氮氣，而殘餘的 NO₃⁻ 則會較富集 ¹⁵N。在食物鏈方面，不同營養階之

生物會具不同的氮同位素組成，位階越高者，其體內之 ^{15}N 會相對較多，例如肉食性與雜食性的動物會較草食性之動物體內含較多的 ^{15}N 。因為草食性動物食用植物，故草食性動物之氮同位素組成應與所食用植物相似，但草食性動物會排出含 ^{14}N 較多之排泄物，故草食性動物體內會較所食用植物體含較多的 ^{15}N ，依此，越高階之動物所含之 ^{15}N 也會較多 (Ashkenas *et al.* 2004; Peterson 1999)。

是故，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組成差異，進而幫助我們探討及了解大氣圈、水圈、岩石圈、土壤圈及生物圈等環境的變遷訊息。

穩定同位素分析

上述氫、氧、碳、氮和硫等元素屬質量較輕的元素，此等元素之不同同位素間含量的變化就比質量數較重的元素容易偵測，因此，穩定同位素方面的研究主要是利用氫、碳、氮、氧和硫等元素之同位素，而測定這些元素的同位素組成是利用所謂的「氣相同位素比值型質譜儀」(gas isotope ratio mass spectrometer, 簡稱 GAS-IRMS)，主要包含兩大部分，一為待測氣體萃取純化之前處理，另一為質譜儀之質荷比分析 (圖 1)。

樣品氣體萃取純化

所謂氣相，就是待測之樣品均須先轉換成氣體再進入質譜儀，目前H、O、C、N、S同位素測定所需轉換之氣體綜合如表 1，如欲做氮同位素分析，則先須把含氮樣品處理且純化出 N_2 ；欲做碳同位素分析，也須先把含碳樣品處理且純化出 CO_2 ，而各元素轉換成氣體之實驗，可參考相關同位素文獻。

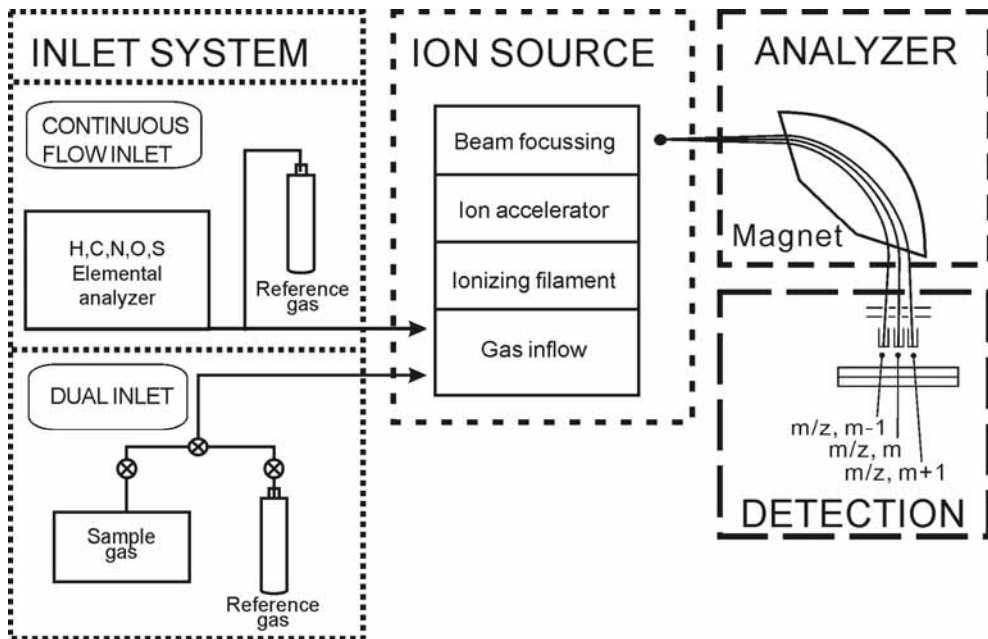


圖 1. 氣相同位素比值質譜儀之構造示意圖。

Fig. 1. Schematic of a gas isotope ratio mass spectrometer.

商業型氣相同位素比值型質譜儀首現於 1970 年代，由於儀器設備的精進，1980 年代中葉以後，

部分同位素之轉換成氣體的實驗，已可由早期較為費時的人工離線 (off-line) 處理，進步到以儀器取代並與質譜儀直接連線 (on-line) 分析，使得樣品分析比過去更為省時、快速，且使人為操作因素所產生之誤差降低，也使各領域應用同位素作為研究工具機會增多 (Barrie & Prosser 1996)。例如有機質之氮、碳同位素組成測定之前處理，現已可由元素分析儀 (element analyzer) 及經類似氣相層析之分離純化過程，萃取純化出 N_2 與 CO_2 氣體；而有機質之氫、氧同位素組成測定之前處理，可由熱裂解 (pyrolysis) 元素分析儀及經類似氣相層析之分離純化過程，萃取純化出 H_2 與 CO 氣體，這些相關待測氣體再直接連線導入質譜儀，進行相關同位素之質荷比分析。所有連線將樣品轉化成氣體之前處理，均為依照早期人工離線前處理之原理設計，並且處理過程並不能產生同位素分化作用 (Barrie & Prosser 1996)。

質譜儀之質荷比分析

質譜儀構造可分成四個主要單元 (Clark & Fritz 2000)，如圖 1 所示，而優異的真空系統是質譜儀分析最重要的基礎，整個質譜儀系統中，須符合要求的真空度才能獲得精確的質譜分析。

導入系統 (Inlet system)：待測樣品直接導入至游離室，游離室在樣品送入前需抽至足夠之真空度 (約 5×10^{-4} torr)。穩定同位素研究之待測樣品為氣體，以現今之機型有雙進樣 (dual inlet) 及連續進樣 (continuous flow) 二類，雙進樣系統的分析樣品所需的樣品量較少，且精確度較高，而連續進樣系統的特色在於它較雙進樣系統能更快處理大量樣品。

游離區 (Ion source)：在樣品氣流行進之垂直方向處置一游離源之燈絲 (filament)，通電產生高熱之燈絲會射出電子，而待測之氣體樣品經電子轟擊後即發生游離形成陽離子。

質荷比分析區 (Analyzer)：在游離室所形成的陽離子，經電壓加速後進入質荷比分析區。在分析區磁場將離子依不同的質量電荷比而分成不同的離子束；在特定的情況下，可被收集的離子種類以下述之方程式區別：

$$\frac{m}{e} = \frac{B^2 r^2}{2V} \dots\dots\dots(1)$$

m/e 為質譜儀所要測定離子之質量 (m) 與電荷 (e) 的比值；不同同位素因 m/e 比值不同而被電磁場分離； V 為加速電壓， B 為磁場強度。

因此要獲得質譜，只需依一恆定速率改變加速電壓或磁場強度即可，通常是在固定磁場中改變電壓，而使每一 m/e 離子束由輕至重連續地帶至檢測器上。電磁裝置必須具有電流的安定性，甚至於要較靜電部分的電壓還要安定。

離子收集器 (Detection)：由質荷比分析室分離出的離子束 (ion current beam) 通過縫隙，聚集在所謂的法拉第杯 (Faraday cup) 的收集器上。法拉第杯為一高歐姆值 (high ohmic value) 電阻，將離子束強度轉換成電壓，再經一放大器放大訊號而記錄之。

同位素比值質譜儀 (Isotope Ratio Mass, IRMS)

質譜儀因應用領域之不同而有不同之設計，穩定同位素方面的研究主要是利用同位素比值型質譜儀。所謂同位素比值就是質譜儀分析所得之結果以同位素間的含量比與一標準品之差值表示。為何要用同位素比值的原因是因為直接量測元素中不同同位素絕對含量並不容易，因同位素

絕對含量測定是屬原子級的物理分析，只能由一些精密複雜的質譜設備才能勝任，而這會阻礙廣泛利用質譜儀從事相關研究的機會；因此，如果只比較穩定同位素含量的比值，而不是絕對含量，這就容易多了。

但如只量測樣品的同位素比值，即使使用相同之質譜儀，但不同實驗室或不同時間所測定出來的比值與真值間因操作之差異（或儀器誤差）會有所差異。然而，如果在相同時間、相同儀器上使用一參數標準，我們就可消除儀器誤差進而比較樣品與標準品間之差值，因此，同位素測定慣以 δ 表之，其定義為：

$$\delta = \left(\frac{R_{Sample}}{R_{Reference}} - 1 \right) \times 1000 \quad \dots\dots\dots(2)$$

因為同位素分化作用（fractionation）造成同位素含量之變化是微量的，因此一般以千分比（‰）為單位。上式中 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， $R_{Reference}$ 為參考標準的同位素比值。

同位素分析之參考標準

式 (2) 中，為使全世界不同實驗室的測定值能互相比較，因此，穩定同位素分析都必須使用相同的參考比較標準，相關同位素分析所使用的參考標準及其之同位素比值如表 1 所示 (Clark & Fritz 2000)。例如氫、氧同位素的測定，樣品間的共同比較標準為 VSMOW (Vienna Standard Mean Ocean Water)；碳同位素組成的測定是使用 VPDB (Vienna Pee Dee Belemnite)，硫同位素組成的測定是使用 CDT (Cañon Diablo meteorite troilite)，而氮同位素組成的測定是使用空氣中的氮氣作為樣品間的共同比較標準。

VSMOW 是國際原子能總署 (IAEA, International Atomic Energy Agency) 在太平洋赤道地區採集的海水，以其 $^2\text{H}/^1\text{H}$ 或 $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ 比值作為比較基準 (表 1)。PDB 是碳酸鈣，產自美國南加州 Pee Dee 地層中的白堊紀箭石化石 (*Belemnitella americana*)；1980 年代以後此 PDB 標準品因已用盡，IAEA 乃利用 NBS-19 (白色大理石) 作為替代，將 NBS-19 與 PDB 間的 $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 的比值差異關係建立；也就是說，雖然實際標準品由 PDB 換成 NBS-19 作為分析的參考比較標準，但樣品之同位素組成仍換算成與 PDB 間的比較關係，以 VPDB 表示，這樣 1980 年代之前與之後的測值仍可互相直接比較。CDT 是取自 Cañon Diablo 隕石中的隕硫鐵 (troilite) 礦物，而利用此隕硫鐵礦物之 $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$ 比值作為比較標準的原因是它的比值變異小，另外它的硫同位素組成大致是陸圈物質硫同位素組成的平均值。因氮氣在大氣中是均勻混合且容易獲得，同時重複分析大氣中氮氣的 $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ 比值 (3.677×10^{-3}) 差異很小，因此將它作為樣品氮同位素組成的測定的比較標準 (Clark & Fritz 2000)。

應用研究

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組成差異，進而幫助我們探討及了解大氣圈、水圈、岩石圈、土壤圈及生物圈等環境的變遷訊息，因此穩定同位素的研究被廣泛應用在環境領域中，以下摘舉幾個相關領域研究文獻做簡扼之介紹。下述之文獻因比值質譜儀之發展與穩定同位素技術的應用大致有三個時間區帶分布：1985 年以前為各種穩定同位素之基礎與初步環境之應用研究，此區帶文獻之意義在於建立各種穩定同位素應用的研究原理以及各領域背景

測值，而後續之相關研究都必須了解此應用原理及背景測值才能有進一步之研究。其後至 2000 年之文獻（此時比值質譜儀已獲改良，分析精確度提高且可大量分析標本），主要是利用一或二種穩定同位素技術在各自專業領域內探討其專業內容；而 2000 年以後至今的研究，主要是在單一課題研究上使用多種穩定同位素同時進行分析以做更深入的探討，以及同位素技術應用在跨領域的共同研究，雖難以在下述相關領域歸類，但後續發表之文獻也將著重在此。

環境污染

硝酸鹽的來源及轉化：在農作地區，肥料、土壤有機氮和廐肥為水體中硝酸鹽的主要來源，硝酸鹽在大部份土壤中為移動性的，易受淋洗和藉由表面逕流或入滲進入水體中。硝酸鹽的輸入包括大氣沈降中的 NO_3^- 及自含氮的有機或無機化合物經微生物反應所產生；而輸出的部分則有微生物脫氮作用、同化作用，植物吸收及淋洗等。為了辨別水體中的硝酸鹽（ NO_3^- ）與農業活動施用肥料的關係，可以從 NO_3^- 的穩定氮、氧同位素組成的研究來推斷。不同來源的 NO_3^- 會表現出不同的氮同位素特徵值（ $\delta^{15}\text{N}$ ），如大氣沉降的氮之 $\delta^{15}\text{N}$ 值約為 $-4\sim 5\%$ ；化學肥料氮的 $\delta^{15}\text{N}$ 值範圍為 $-5\sim 5\%$ ，土壤有機氮的 $\delta^{15}\text{N}$ 值範圍為 $3\sim 8\%$ ，人類和動物排泄物的 $\delta^{15}\text{N}$ 值範圍為 $10\sim 25\%$ (Kreitler & Jones 1975; Kreitler 1979; Girard & Hillaire-Marcel 1997)。且硝酸鹽輸入或輸出的各種反應中，不同型態的氮轉化作用受環境、生物型態、反應物來源等因素影響，會導致硝酸鹽產物中氮、氧同位素組成的差異。因此，分析水體中硝酸鹽的穩定氮、氧同位素組成，已廣泛成為提供有關地表水和地下水中硝酸鹽可能的來源和轉變的有利技術 (Wassenaar 1995; Cey *et al.* 1999; Silva *et al.* 2000; Peng *et al.* 2004)。

溫室效應氣體：自 18 世紀工業革命以來，大氣中之 CO_2 含量由西元 1800 年的 280 ppmv 持續增加至今日約 330 ppmv。由極地冰層岩芯中所測得西元 1800 年大氣 CO_2 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值約為 -6.5% ，而今日大氣 CO_2 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值約為 -8.0% (Siegenthaler & Oeschger 1987)，此碳同位素組成變輕的原因主要與石化燃料有關，因石化燃料主要是陸源植物殘骸形成，陸源植物的 $\delta^{13}\text{C}$ 值為 -25% 左右，因此石化燃料燃燒後所產生的 CO_2 進入大氣後，不僅增加大氣 CO_2 的濃度，同時也降低了大氣 CO_2 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值。相關海洋學者也利用 CO_2 的 $\delta^{13}\text{C}$ 特徵值進行海氣交換、洋流移動追蹤及全球碳收支平衡的研究 (Broecker & Peng 1989)。

CH_4 也是主要的溫室效應氣體，經由直接量測大氣中 CH_4 的濃度顯示，自 1978 年以來，每年增加 1% 的濃度，現今大氣中 CH_4 的濃度為 1700 ppbv (Blake & Rowland 1988)，而增加的原因主要與反芻動物、稻米種植及生質燃燒有關。生物性的 CH_4 有兩個主要來源，一是經由醋酸發酵作用產生，另一是 CO_2 的還原作用；因作用機制的不同，此二來源 CH_4 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值亦會不同，經由醋酸發酵作用所產生 CH_4 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值約為 -40% ，而經由 CO_2 還原作用所產生 CH_4 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值較輕，約為 -65% 。藉此我們就可估算各種來源的 CH_4 對大氣的貢獻量 (Sugimoto & Wada 1993; Nakagawa *et al.* 2002)。

生態與食物網

如前所述，在陸地的生態系統中，因在 C_3 和 C_4 或CAM植物之間具明顯的同位素差異，故可用來作為動物攝食特性的追蹤；例如在 C_3 生態系中攝食的生物，其體內組織的 $\delta^{13}\text{C}$ 值就會較在 C_4 生態系中攝食的生物為輕 (Peterson & Fry 1987; Tieszen & Boutton 1988)。與陸生或淡水的生物群落常單一利用碳元素之同位素（ $\delta^{13}\text{C}$ ）作為示蹤同位素比較，海洋食物網的研究因較複雜，故需利用更多種元素相互比對印證 (Schaffner & Swart 1991; Hobson *et al.* 1997; Peterson 1999; Huiskes *et al.* 2006)，例如在河、海交界的生態環境中，就可利用 $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ 和 $\delta^{34}\text{S}$ 等同位素資訊共同判斷該生

態區營養鹽的輸入，主要是來自陸地河川的輸入，或是由海洋湧升流帶來的食物來源 (Chisholm *et al.* 1982; Krouse 1988; Hobson 1990; Mizutani *et al.* 1990; Ben-David *et al.* 1997; Hobson *et al.* 1999)；一般而言，來自陸域的營養鹽較來自海洋源的具較輕之 $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{34}\text{S}$ 及較重之 $\delta^{15}\text{N}$ 值。

同時，如前所述，由碳、氮同位素組成的比較，可以反映出一生態系的營養階層；生物體之組織的碳、氮同位素組成將隨營養階層提高而上升，而在一生態中的最低營養階層的生物，也就是該生態系的基礎營養來源 (Peterson & Howarth 1987; Monteiro *et al.* 1991; Ashkenas *et al.* 2004)。因此，藉由同位素資訊所建立的營養階層，進而了解何種生物在該生態系中是扮演主要生產者，或是消費者。

動物移棲

過去常用來追蹤動物活動的方法，常倚賴個體外在的標記和其後捕捉的鑑別，但這種方法一般不適用於大部分的小型或者非獵物的動物，而穩定同位素的分析則提供了另一種選擇。基本上棲息地食物網的相關同位素特徵可由動物組織中的穩定同位素組成反映出來。Hobson (1999) 對於利用穩定同位素追蹤野生生物的起源或遷徙的文獻有很完整的綜合整理。

動物移棲與食物之供應有關，因為不同食物網的同位素特徵，可能因相異的生化作用而具有地理空間變異。例如沿岸與離岸、海生與淡水、陸地水生與旱生、以及 C_3 與 C_4 各生態系彼此間就存在碳、氮同位素組成之特徵差異；而各生態食物網的同位素特徵，可經由食物網中的消費者攝食而被保留在體內組織中 (DeNiro & Epstein 1978; 1981)。因此，如果動物在同位素組成特徵有所區別的食物網間移動，體內組織就會保留先前攝食位置時期的同位素訊息 (Tieszen & Boutton 1988; Hobson & Clark 1992)；是故，藉由分析動物體內組織中的相關同位素，就可了解動物的移棲過程中可能經過的生態系。

以鳥類為例，因為不同緯度或高度的地區，其降雨會因不同的同位素分化效應而有不同的 δD 值；因此，鳥類在不同階段的移棲因攝食不同地域的水體，而此不同地域水體的氫同位素組成特徵就會保留在其羽毛組織中 (Hobson *et al.* 1994)。例如 Hobson & Wassenaar (1996) 分析新熱帶區鳴鳥 (songbird) 羽毛之氫同位素組成，配合及比較區域性雨水的氫同位素分析，因而確定鳴鳥在移棲過程中的繁殖與過冬地區。

農產品鑑定

誤貼標籤和攙雜假貨是食品工業在很多地區存在的問題，它不僅威脅誠實商人的生計，同時也影響消費者的權利。對大多數食品來說，真實的商品可由地理的來源、植物/品種來源或有無攙雜物等方式區分。

蜂蜜：植物因生理特性， C_3 植物具有較 C_4 植物具較輕的 $\delta^{13}\text{C}$ 值而有所區別。大部分蜂蜜生產區屬 C_3 植物分布區，因此蜂蜜的 ^{13}C 組成約應為-25‰，而由玉米或蔗糖為 C_4 型植物，故用其為原料所製造的糖漿之 $\delta^{13}\text{C}$ 值約為-10‰ (Doner & White 1977)。因此，如果蜂蜜中摻雜了其他如玉米或蔗糖來源的糖類，其 $\delta^{13}\text{C}$ 值會介於-25至-10‰間 (Stocker *et al.* 2006)。

酒類：酒類的釀造過程雖會造成輕微的 ^{13}C 分化作用，但仍可顯示出不同釀造原料間 $\delta^{13}\text{C}$ 值的差異，例如萊姆酒是從 C_4 植物甘蔗釀造出來的，故其 $\delta^{13}\text{C}$ 值約為-13‰，而白蘭地是由 C_3 植物之葡萄釀製而成的，故其 $\delta^{13}\text{C}$ 值約為-25‰ (Bauer-Christoph *et al.* 1997)，而工業酒精之 $\delta^{13}\text{C}$ 值約為-32‰；因此，如果市售萊姆酒之 $\delta^{13}\text{C}$ 值介於-30至-10‰間，則很有可能是摻有工業酒精 (Craig 1953; Silverman & Epstein 1958; Bauer-Christoph *et al.* 2003)。

此外，植體內的水會因葉氣孔的蒸發，而會富集較重的 ^{18}O 與 D 原子，使得 $\delta^{18}\text{O}$ 與 δD 值會較其所利用的地下水為重。因此，如果市售酒類或果汁的 $\delta^{18}\text{O}$ 與 δD 值沒有如原汁般具較重之 $\delta^{18}\text{O}$ 與 δD 值，則很有可能是摻水調製之商品 (Bricout 1982)。

稻米產地：存在稻米中碳水化合物的氧原子主要來自植物根部吸收的水，植體內的水會因葉氣孔的蒸發，而會富集較重的 ^{18}O 原子；稻米如果是生長在相對低濕度的地區，因蒸發速率較高故導致植體內的碳水化合物會具較重的 $\delta^{18}\text{O}$ 值。同時，由於水的同位素分化效應影響，較高緯度、較低溫度地區水體之 $\delta^{18}\text{O}$ 值較輕，由這些地區種植的稻米之 $\delta^{18}\text{O}$ 值亦會較輕。因為不同地區因氣候水文條件不同，因此不同地區稻米之 $\delta^{18}\text{O}$ 值就會不同。同時，存在於稻米碳水化合物中的碳原子主要源自空氣的 CO_2 ，因為植物碳水化合物的 $\delta^{13}\text{C}$ 值與大氣的 CO_2 之值不同，這是因為 CO_2 透過葉氣孔的擴散作用進入植體，再由擴散作用到固定 CO_2 的羧基化反應的部位。這些擴散反應利於植物吸收 ^{12}C 勝於 ^{13}C 原子，並且受光度、土壤含水率和相對濕度方面的變化等環境因素影響。同樣地，不同的環境因子導致不同地區稻米之 $\delta^{13}\text{C}$ 值亦會不同。因此，透過稻米碳、氧同位素組成的測定，可幫助我們鑑別稻米可能的產地 (Kelly *et al.* 2002)。

土壤有機質轉化

土壤是陸地的生態系統不可或缺的部分，特別是在自然環境中賦存的碳同位素研究。利用穩定的碳、氮同位素作為天然示蹤劑，在調查土壤碳、氮循環和土壤營養關係過程中，已經證明是非常有用，對於土壤中有機質的轉化更能提供進一步之訊息，幫助我們了解土壤營養狀態。例如分析土壤中 CO_2 的 $\delta^{13}\text{C}$ ，使我們了解土壤中碳素的來源；分析土壤中碳酸鹽的 $\delta^{13}\text{C}$ ，可幫助我們了解土壤形成作用過程中的部分機制 (Standdon 2004)。新近的方法和技術發展將同位素的應用可能性擴展到陸地生態學，增進我們的土壤生態系統結構與作用的知識，並促進農業永續資源管理系統的發展。

因現今國內應用穩定同位素技術侷限在少數一、二領域及少數之研究人員，而由國外之研究顯示，它應可更廣泛應用在農業及相關生態環境研究上。因此，本文期能讓更多研究人員了解穩定同位素技術的可利用性外，並期此技術能對國內相關領域之研究深度及廣度有所助益。

引用文獻 (Literature cited)

- Ashkenas, L. R., S. L. Johnson, S. V. Gregory, J. L. Tank, and W. M. Wollhein. 2004. A stable isotope tracer study of nitrogen uptake and transformation in an old-growth forest stream. *Ecology* 85: 1725-1739.
- Barrie, A. and S. J. Prosser. 1996. Automated analysis of light-element stable isotopes by isotope ratio mass spectrometer. p.1-46. *in: Mass Spectrometry of Soils.* (Boutton, T. W. and S. I. Yamasaki, eds.) Marcel Dekker, Inc, New York.
- Bauer-Christoph, C., H. Wachter, N. Christoph, A. Roßmann, and L. Adam. 1997. Assignment of raw material and authentication of spirits by gas chromatography, hydrogen- and carbon-isotope ratio measurements. *Z. Lebensm. -Unters. Forsch.* 204: 445-452.
- Bauer-Christoph, N. Christoph, C., B. O. Aguilar-Cisneros, M. G. López, E. Richling, A. Rossmann, and P. Schreie. 2003. Authentication of tequila by gas chromatography and stable isotope ratio

- analyses. *Eur. Food Res. Technol.* 217: 438-443.
- Ben-David, M., T. A. Hanley, D. R. Klein, and D. M. Schell. 1997. Seasonal diets of coastal and riverine mink: the role of spawning Pacific salmon. *Can. J. Zool.* 75: 803-811.
- Blake, D. R. and F. S. Rowland. 1988. Continuing worldwide increase in tropospheric methane. *Science* 239: 1129-1131.
- Bricout, J. 1982. Possibilities of stable isotope analysis in the control of food products. p.483-493. *in: Stable Isotopes.* (Schmidt, H. L., H. Förstel, and K. Heinzinger, eds.) Elsevier, Amsterdam.
- Broecker, W. S. and T. H. Peng. 1989. *Tracers in the Sea.* Lamont Doherty Geological Observatory, Palisades, New York. 690 pp.
- Cey, E. E., D. L. Rudolph, R. Aravena, and G. Parkin. 1999. Role of the riparian zone in controlling the distribution and fate of agricultural nitrogen near a small stream in southern Ontario. *J. Hydrol.* 37: 45-67.
- Chisholm, B. S., D. E. Nelson, and H. P. Schwarcz. 1982. Stable-carbon isotopes as a measure of marine versus terrestrial protein in ancient diets. *Science* 216: 1131-1132.
- Clark, I. and P. Fritz. 2000. Isotope ratio mass spectrometry. p.13-16. *in: Environmental Isotopes in Hydrogeology.* (Clark, I. and P. Fritz, eds.) Lewis Publishers, Boca Raton, Florida.
- Craig, H. 1953. The geochemistry of the stable carbon isotope. *Geochim. Cosmochim. Acta* 3: 53-92.
- DeNiro, M. J. and S. Epstein. 1978. Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. *Geochim. Cosmochim. Acta* 42: 495-506.
- DeNiro, M. J. and S. Epstein. 1981. Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals. *Geochim. Cosmochim. Acta* 45: 341-351.
- Doner, L. and J. W. White. 1977. Carbon-13/carbon-12 ratio is relatively uniform among honeys. *Science* 197: 891-892.
- Girard, P. and C. Hillaire-Marcel. 1997. Determining the source of nitrate pollution in the Niger discontinuous aquifers using the natural $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ratios. *J. Hydrol.* 199: 239-251.
- Hobson, K. A. 1990. Stable isotope analysis of marbled murrelets: evidence for freshwater feeding and determination of trophic level. *Condor* 92: 896-903.
- Hobson K. A. 1999. Tracing origins and migration of wildlife using stable isotopes: a review. *Oecologia* 120: 314-326.
- Hobson, K. A. and R. W. Clark. 1992. Assessing avian diets using stable isotopes. I. Turnover of carbon-13. *Condor* 94: 181-188.
- Hobson, K. A., M. Drever, and G. Kaiser. 1999. Norway rats as predators of burrow-nesting seabirds: insights from stable isotope analysis. *J. Wildl. Manage.* 63: 14-25.
- Hobson, K. A., K. D. Hughes, and P. J. Ewins. 1997. Using stable-isotope analysis to identify endogenous and exogenous sources of nutrients in eggs of migratory birds: applications to Great Lakes contaminants research. *Auk* 114: 467-478.
- Hobson, K. A., J. F. Piatt, and J. Pitocchelli. 1994. Using stable isotopes to determine seabird trophic

- relationships. *J. Anim. Ecol.* 63: 786-798.
- Hobson, K. A. and L. I. Wassenaar. 1996. Linking breeding and wintering grounds of neotropical migrant songbirds using stable hydrogen isotopic analysis of feathers. *Oecologia* 109: 142-148.
- Huiskes, A. H. L., H. T. S. Boschker, D. Lud, and T. C. W. Moerdijk-Poortvliet. 2006. Stable isotope ratios as a tool for assessing changes in carbon and nutrient sources in Antarctic terrestrial ecosystems. *Plant Ecol.* (in press)
- Kelly, S., M. Baxter, S. Chapman, C. Rhodes, J. Dennis, and P. Brereton. 2002. The application of isotopic and elemental analysis to determine the geographical origin of premium long grain rice. *Eur. Food Res. Technol.* 214: 72-78.
- Kreitler, C. W. 1979. Nitrogen-isotope ratio studies of soils and groundwater nitrate from alluvial fan aquifers in Texas. *J. Hydrol.* 42: 147-170.
- Kreitler, C. W. and D. C. Jones. 1975. Natural Soil Nitrate: The cause of the nitrate contamination of ground water in Runnels country, Texas. *Ground Water* 13: 1-9.
- Krouse, H. R. 1988. Sulfur isotope studies of the pedosphere and biosphere. p.424-444. *in: Stable Isotopes in Ecological Research.* (Rundel, P. W., J. R. Ehleringer, and K. A. Nagy, eds.) Springer, Berlin.
- Mizutani, H., M. Fukuda, Y. Kabaya, and E. Wada. 1990. Carbon isotope ratio of feathers reveals feeding behavior of cormorants. *Auk* 107: 400-403.
- Monteiro, P. M. S., A. G. James, A. D. Sholto-Douglas, and J. G. Field. 1991. The $\delta^{13}\text{C}$ trophic position isotope spectrum as a tool to define and quantify carbon pathways in marine food webs. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 78: 33-40.
- Nakagawa, F., N. Yoshida, A. Sugimoto, E. Wada, T. Yoshioka, S. Ueda, and P. Vijarnsorn. 2002. Stable isotope and radiocarbon compositions of methane emitted from tropical rice paddies and swamps in Southern Thailand. *Biogeochemistry* 61: 1-19.
- Peng, T. R., W. J. Zhan, Y. W. Lin, and C. L. Liu. 2004. Evaluation of the origin and transformation of nitrate in river water of Nantou area using the nitrogen isotopes in NO_3^- . *Soil and Environ.* 7: 167-182. (in Chinese with English abstract)
- Peterson, B. J. 1999. Stable isotopes tracers of organic matter input and transfer in benthic food web: A review. *Acta Oecol.* 20: 479-487.
- Peterson, B. J. and B. Fry. 1987. Stable isotopes in ecosystem studies. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 18: 293-320.
- Peterson, B. J. and R. W. Howarth. 1987. Sulfur, carbon and nitrogen isotopes used to trace the organic matter flow in the salt-marsh estuaries of Sapelo Island, Georgia. *Limnol. Oceanogr.* 32: 1195-1213.
- Schaffner, F. C. and P. K. Swart. 1991. Influence of diet and environmental water on the carbon and oxygen isotopic signatures of seabird eggshell carbonate. *Bull. Mar. Sci.* 48: 23-38.
- Siegenthaler, U. and H. Oeschger. 1987. Biospheric CO_2 emissions during the past 200 years reconstructed

- by deconvolution of ice core data. *Tellus* 39B: 140-154.
- Silva, S. R., C. Kendall, D. H. Wilkison, A. C. Ziegler, C. C. Y. Chang, and R. J. Avanzino. 2000. A new method for collection of nitrate from fresh water and the analysis of nitrogen and oxygen isotope ratios. *J. Hydrol.* 228: 22-36.
- Silverman, S. R. and S. Epstein. 1958. Carbon isotopic compositions of petroleum and other sedimentary organic materials. *Bull. Am. Assoc. Pet. Geol.* 42: 998-1012.
- Standdon, P. L. 2004. Carbon isotopes in functional soil ecology. *Trends Ecol. Evol.* 19: 148-154.
- Stocker, A., A. Rossmann, A. Kettrup, and E. Bengsch. 2006. Detection of royal jelly adulteration using carbon and nitrogen stable isotope ratio analysis. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 20: 181-184.
- Sugimoto, A. and E. Wada, 1993. Carbon isotopic composition of bacterial methane in a soil incubation experiment: Contribution of acetate and CO₂/H₂. *Geochem. Cosmochim. Acta* 57: 4015.
- Tieszen, L. L. and T. W. Boutton. 1988. Stable isotopes in terrestrial ecosystem research. p.167-195. *in: Stable Isotopes in Ecological Research.* (Rundel, P. W., J. R. Ehleringer, and K. A. Nagy, eds.) Springer, Berlin.
- Wassenaar, L. I. 1995. Evaluation of the origin and fate of nitrate in the Abbotsford Aquifer using the isotopes of ¹⁵N and ¹⁸O in NO₃⁻. *Appl. Geochem.* 10: 391-405.

Application of Stable Isotopes in Agriculture and Environmental Studies¹

Tsung-Ren Peng^{2,5}, Tsang-Sen Liu³ and Hsing-Juh Lin⁴

Abstract

Peng, T. R., T. S. Liu, and H. J. Lin. 2006. Application of stable isotopes in agriculture and environmental studies. *J. Taiwan Agric. Res.* 55:xxx-xxx.

The understanding of biogeochemical cycle of hydrogen, oxygen, carbon, nitrogen, and sulfur elements in nature ecosystem have increased substantially in the past two decades owing to the improvement of gas isotope ratio mass spectrometer and the wide application of isotopic studies with these elements. Although the products have same chemical compositions, they will exhibit various isotopic ratios if they produced from different sources or by different chemical/physical processes. The stable isotopic research is established by studying the discrepancy in isotope ratio, which was caused by isotope fractionation, and the isotopic ratio difference can be determined by mass spectrometer. After understanding the reasons that cause isotopic discrepancy; then we can further interpret the information and the meaning of environmental change. To let more domestic relevant researchers understand the applicable techniques of stable isotopes, this article not only introduces the principles of isotopes measurements by gas isotope ratio mass spectrometer, but also integrates the experiences of hydrogen, oxygen, carbon, nitrogen, and sulfur isotopes in agriculture and environmental applications that were described in papers.

Key words: Stable isotope, Isotope fractionation, Gas isotope ratio mass spectrometer.

-
1. Contribution No.2254 from Agricultural Research Institute, Council of Agriculture. Accepted: April 5, 2006.
 2. Assistant Professor, Department of Soil and Environmental Sciences, National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan, ROC.
 3. Assistant Researcher, Agricultural Chemistry Division, ARI, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.
 4. Professor, Department of Life Sciences, National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan, ROC.
 5. Corresponding author, e-mail: trpeng@dragon.nchu.edu.tw; Fax: (04)22859950.