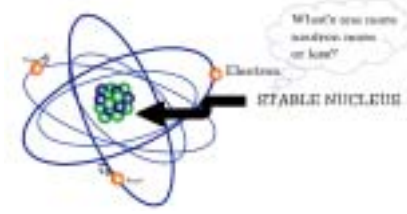
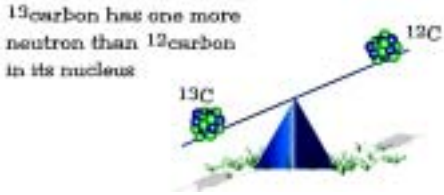


穩定性同位素指紋圖譜在台灣咖啡產區判別之研究

王裕文¹ 許明晃² 楊志維² 黃盟元² 黃文達¹ 葉學文³ 楊棋明^{*2}

¹台灣大學農藝學系 ²中央研究院生物多樣性中心 ³前中央研究院地科所

*聯絡人 e-mail : cmyang@gate.sinica.edu.tw 電話 : 02-27899590 ext613



摘要

本研究之目的在探討利用穩定性同位素指紋圖譜技術在台灣咖啡產區判別之可行性評估。台灣加入世界貿易組織(WTO)之後，貿易市場開放，衝擊國內農產品之產銷，為免投機商人以國外低價之農產品混充國內高價販售，近年來已建立以科學方式輔助鑑定品種或產區之多種判別技術。鑑定程序首先由專家以外觀、氣味等可用感官特性作為初步判別，再以DNA指紋圖譜辨識品種。若為相同品種時，則進一步以礦物元素含量分析圖譜來鑑別。遇疑似人為添加元素時，則採用穩定性同位素指紋圖譜來輔助判別。

本次研究材料採集自阿里山、瑞里、奮起湖、東山、古坑與鹿谷等咖啡產區，分別取2005年與2006年生之咖啡生豆進行Zn, Fe, Mn, Ca, Cu, Mg, K, Na等礦物元素含量與穩定性同位素 ¹³C 及 ¹⁵N分析。研究結果顯示，利用8種礦物元素含量與 ¹³C及 ¹⁵N之指紋圖譜，可呈現產區特性。而高海拔產區的 ¹³C_{PDB}(‰)值較大，約-24，低海拔產區的 ¹³C_{PDB}(‰)值較小，約-28。顯示穩定性同位素指紋圖譜在咖啡產區輔助判別上具有實用的潛力。

穩定性同位素追蹤

1、穩定性同位素

穩定性同位素 (stable isotope) 與放射性同位素 (radioactive isotope) 不同。放射性同位素會隨著時間變化而衰變，其含量會慢慢減少；相對於放射性同位素，穩定性同位素具有極長的半衰期，故隨著時間推移其含量變化幾乎察覺不出來。

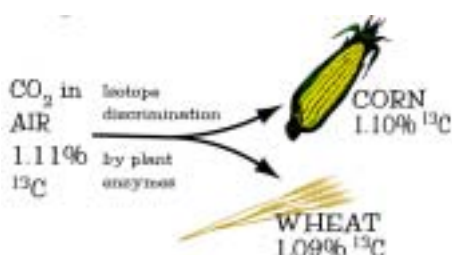


2、同位素分離

同位素在質量上有微小之差異，導致其熱力學性質之不同，故進行反應時造成同位素分離 (isotope fractionation)。而同位素分離主要分為平衡效應 (equilibrium effects) 及動力效應 (kinetics effects)。平衡效應造成的同位素分離，與不同分子間同位素的交換與同一分子於不同相間同位素平衡效應有關。這些反應中，移出系統與留在系統中的同位素之間維持熱力學上之平衡。雖然同位素在質量上之差異極其微小，但仍導致振動狀態 (vibration states) 之不同，繼而導致重的同位素比輕的同位素易於趨向穩定，終而造成同位素分離。



陸生植物光合作用運用光能，促使固定大氣中的CO₂，其δ¹³C_{air}極為一致都是-7.5‰。陸生植物碳同位素分離主要由光合作用所引起。而植物又因葉片結構之不同而有C₃、C₄及CAM之分，這些植物之光合作用之固碳過程與效率不同，最後導致其植體內δ¹³C之含量明顯不同。例如，C₃植物有較低的值介於-32與-20‰之間，平均值為-27‰；而C₄植物則介於-17‰和-9‰之間，平均值為-13‰。CAM植物則介於C₃及C₄植物之間。當植物殘體落入土壤裡，其δ¹³C值與健康植體差異不大。



穩定性同位素樣品前處理

將咖啡生豆以60℃烘乾後，以高速樣品研磨機(Wig-L-Bug)磨碎，待進一步真空處理以檢測穩定性同位素C、N。穩定性碳同位素¹³C追蹤主要是透過測定重同位素豐度()，其表示方式通常以相對於國際標準PDB之千分比：

$$^{13}\text{C}(\text{‰}) = [(R_{\text{sample}} - R_{\text{standard}}) / R_{\text{standard}}] \times 10^3 \quad [1]$$

R代表樣品或標準氣體之質量比45/44 (¹³CO₂ / ¹²CO₂) (Liang *et al.*, 2002)。

總碳包含無機碳(CaCO₃)、元素碳(Elemental Carbon, EC)與有機碳(Organic Carbon, OC)。碳同位素分析。可分為總碳與非碳酸鈣碳二類。皆以燃燒分析其中之¹³C與¹²C組成比例。以δ¹³C為其表示方式。儀器將使用Thermo CHN元素分析儀搭配Finnigan Delta Advantage 連續流動氣相同位素質譜儀。

主成分分析

咖啡生豆礦物元素含量及穩定性同位素碳氮豐度經主成分分析，第一至第五主成分即可解釋84%的變異，其中各因子與主成分之相關係數達顯著水準 的有Cu, Ca, K, Na, Mg, Mn, ¹³C及 ¹⁵N，因此可以藉此建立各產區的指紋圖譜。

表. 咖啡生豆礦物元素含量及穩定性同位素碳氮豐度之主成分分析。

	特徵值	百分比	累積特徵值	佔總變異的累積百分比
第一主成分	4.067	31.29	4.067	31.29
第二主成分	2.605	20.04	6.672	51.32
第三主成分	1.775	13.66	8.447	64.98
第四主成分	1.462	11.25	9.909	76.23
第五主成分	1.054	8.11	10.964	84.33
第六主成分	0.835	6.43	11.799	90.76
第七主成分	0.578	4.45	12.377	95.21
第八主成分	0.308	2.37	12.685	97.58
第九主成分	0.220	1.70	12.906	99.28
第十主成分	0.046	0.36	12.952	99.63
第十一主成分	0.038	0.29	12.991	99.93
第十二主成分	0.009	0.07	13.000	100.00
第十三主成分	0.000	0.00	13.000	100.00

表. 五個主成分與咖啡生豆礦物元素含量及穩定性同位素碳氮豐度之相關係數。

	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5
Cu-ppm	0.629**	0.377	0.389	-0.082	-0.208
Ca-ppm	0.751**	0.141	-0.052	-0.231	0.085
K-%	-0.114	-0.749**	0.501*	-0.220	-0.037
Na-ppm	-0.095	0.763**	-0.379	-0.217	0.291
Mg-%	-0.416	-0.300	0.694**	-0.283	0.300
Zn-ppm	0.680**	0.410	0.488	0.240	0.094
Mn-ppm	-0.250	0.681**	0.129	0.071	-0.276
Fe-ppm	0.598*	-0.021	0.056	0.424	0.607*
δ ¹⁵ N	-0.615*	-0.254	-0.434	0.095	-0.128
δ ¹³ C	-0.694**	-0.042	-0.071	0.437	0.480
N%	-0.756**	0.455	0.399	0.169	-0.068
C%	0.098	-0.169	0.149	0.865**	-0.346
C/N	0.767**	-0.525*	-0.337	0.089	-0.055

** 分別為0.05及0.01顯著水準。

利用前兩個主成分所繪製的分佈圖

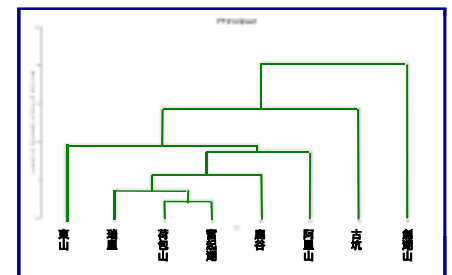
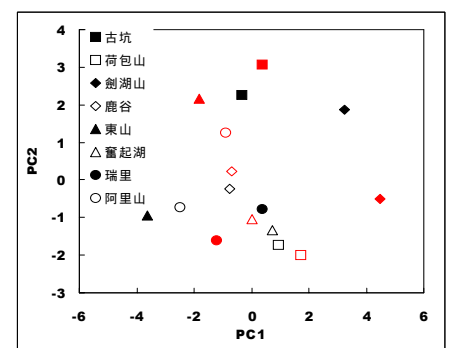
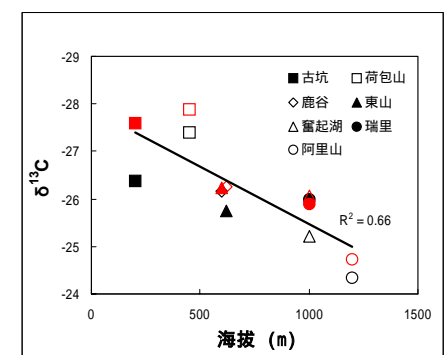


圖 利用前兩個主成分所繪製的分佈圖。紅色圖示 2006年 黑色圖示 2005年

研究團隊相關研究成果



研究團隊相關研究成果

紅樹林不同生育地水筆仔的生育與崩解過程其葉片 ¹³C 及 ¹⁵N之變化，發現不論何種生育地(即不同地理起源)，此二同位素都出現相似的規律性變化，且不同地理起源的水筆仔，其葉片 ¹³C及 ¹⁵N都有非常顯著的差異。

水稻產地證明或產地判別：運用穩定性同位素 ¹³C及 ¹⁵N指紋圖譜，可有效判別不同品種水稻，也可明顯區分相同品種及其突變種。也可明顯區分相同水稻在不同產地之差異。亦即，可建構水稻穩定性同位素指紋圖譜。

Chlorophyllide a 及 b、pheophytin a 及 b、pheophorbide a 及 b都是chlorophyll a 及 b崩解過程的代謝物質，其穩定性同位素 ¹³C及 ¹⁵N指紋圖譜顯示有規律性變化，完全符合其化學結構的變化。

透過穩定性同位素 ¹³C、²H、¹⁸O、¹⁵N及 ³⁴S分析技術可協助建構新的指紋圖譜，並進而建構各種物種的標準指紋圖譜資料庫，有利於更深入探討植物不同組織生化組成的差異與變化狀況。