

水庫底泥與高山未擾動土壤腐植質組成特性差異之意義

陳敬遠¹ 王敏昭² 章日行³

國科會計畫編號：NSC91-2211-E-324-015

摘要

本研究為採集澄清湖之水庫底泥以及合歡山山區之高山土壤，根據國際腐植質學會（International Humic Substances Society；IHSS）所建議的方法萃取及純化其腐植酸（Humic Acid；HA），然後探討該腐植酸的物理及化學特性，再配合底泥來源及土壤生成因子來說明不同來源土壤腐植酸性狀異同之原因，並與先前一些學者所研究的農耕地土壤腐植酸進行各項特性的比較。土樣採樣深度為0至30公分，特性分析是利用元素分析儀（Elemental Analyzer；EA）、傅立葉轉換紅外線光譜儀（Fourier Transform Infrared Spectrometer；FTIR）、固態¹³C橫偏極化魔角自旋核磁共振光譜儀（Solid State¹³C Cross Polarization Magic Angle Spinning Nuclear Magnetic Resonance Spectrometer；CPMAS¹³C NMR）、電子順磁共振光譜儀（Electron Paramagnetic Resonance Spectrometer；EPR）、碳14定年分析（Carbon-14 Dating System）等。研究的結果指出，不同的環境條件會直接的影響HA的組成特性。澄清湖水庫底泥HA之有機碳的平均滯存時間高達2980年，且其HA為高度脂肪性。合歡山山區土壤HA之芳香族性是高於澄清湖水庫底泥HA者。而高山未經擾動之天然演化HA顯示其芳香族性及脂肪族性與一般農地之HA確有差異，而這可歸因於不同的環境條件如氣溫、植被、有機質來源等均會導致HA之物化及組成特性改變。但是比較兩種土樣之C/N值發現，並不同於過去學者所研究之C/N值高其轉化率低之理論，此結果可能是由於水庫底泥之厭氧環境所導致其轉化率及分解率降低。

關鍵字：腐植酸（Humic acid）、底泥（Sediment）、土壤（Soil）、碳14定年分析（Carbon-14 dating system）

一、前言

一般有機物在土壤中會因分解與變化等作用而形成腐植物質（Humic substances），而HA又為其中含量較高且重要的部分【1】，也因其結構龐雜，且環境中的各項因子皆與其生成有密切之關係，例如：

- 1.具有強大的土壤pH值緩衝能力、
- 2.能緩慢釋出植物所需的營養元素、
- 3.鉗合微量元素並增加其有效性、
- 4.供養眾多的微生物有利於生物控制、
- 5.影響農藥及毒性物質的毒性及使土壤保水性增加等等。故

其各項特性均值得研究。另一方面，腐植物質中的腐植酸含有許多反應性之活性基，故有必要探討了解這些活性基在土體中的反應性。目前國內對腐植質之研究大多是針對一般的農耕地土壤，並未對自然環境中未受人為干擾的土壤腐植酸進行探討和比較，所以本研究選擇高雄縣澄清湖之水庫底泥（CS）與南投縣合歡山山區之高山土壤（HS）為實驗土樣。其中澄清湖水庫底泥距今約有60年未曾進行清淤，而且是長期處於浸水的厭氧環境中，故其腐植酸的各項化學特性、組成構造及轉化速率均值得進一步的研究探討。合歡山山區則是屬於高海拔之溫帶氣候土壤，而且是未經人為翻土擾動的天然演

¹朝陽科技大學環境工程與管理系碩士班研究生

²朝陽科技大學環境工程與管理研究所教授

³朝陽科技大學環境工程與管理研究所助理教授

化狀態，因此這兩種土壤較能表現出土壤有機物質的轉化情形，並可和以往學者所研究的農地土壤腐植酸特性做一些化學特性及組成結構上的比較。

一般所謂的土壤有機質，若單純的以化學觀點來看，其實都是由有機化合物所組成，但是其組成是非常複雜的。按Stevenson【2】的定義：SOM一般是指土壤中的有機成分，但不包含未分解之動植物組織或是其部分分解的產物，以及土壤生物質量（soil biomass）。一般在土壤學界又將土壤有機質細分為兩大部分：非腐植質物質和腐植化物質。非腐植質是包括微生物和動、植物的產物，其特性為分子量低，很容易被微生物分解，在土壤中轉化時間很短，故所佔比例亦很低，例如：醣類、蛋白質、脂肪、蠟質、色素及其他小分子化合物。而腐植化物質乃指土壤中生化上無法確認之有機混合物組成成份；Aiken 等人【3】描述土壤腐植質是由動植物殘體蛻變而成之自然物質，為異質性

（heterogeneity）、具高分子量與不易分解性之黃至黑色，且不是如聚醣類、蛋白質等已確認之有機物質，其在許多土壤機質中約佔有1/3 1/4之的量。而依其溶解度，可分成三類：1. 黃酸（fulvic acid；FA），分子量最低，在酸和鹼的溶液中都具有溶解性；2. 腐植酸（Humic Acid；HA），分子量中等，溶於鹼液而不溶於酸液；3. 腐植素（humins），具有最大的分子量，在酸和鹼的溶液中都不具有溶解性【4】。其中腐植酸是佔土壤腐植質之大部分，其構造被認為是由酚類或芳香族聚合物與胜

（peptides）、胺基酸和脂肪酸之結合體【1】，而更進一步分析組成之元素顯示，腐植酸的碳及氫含量比黃酸高，且在溫帶及熱帶地區土壤腐植酸含氮量約為黃酸的兩倍，但黃酸的「全酸度」（total acidity）約為腐植酸的兩倍。而這是因為羧基和酚性羥基含量不同所導致的，而這些特性也被認為是支配陽離子交換和錯合反應的活度，所以黃酸的陽離子交換能量及螯合活度均超過腐植酸【5】。

腐植酸之生成有相當多的研究與理論【6-8】，但以1. 木質素形成理論；2. 聚酚類理論及3. 微生物合成理論等三種較廣泛被接受，腐植酸生成除生物性的腐植化作用外，尚有非生物的腐植化作用，Wang和Li【9】指出土壤中的黏土礦物具有異質觸媒（heterocatalyst）能力，可使土壤中酚類化合物氧化聚合形成腐植物質【10-11】。

二、實驗材料及方法

本研究之實驗土壤採集自 1.高雄縣烏松鄉澄清湖水庫底泥，屬於河川沖積土；2.南投縣仁愛鄉合歡山山區土壤，屬於淋澱土。兩種土樣之採樣深度均為 0~30 公分的表土層，並以不透光之黑色 PE 袋保存運送。土壤樣品經風乾、磨碎後以 2 mm 及 0.149 mm 之篩網過篩後供測定基本性質（表一）及萃取腐植酸使用。腐植酸的萃取方法則是依照國際腐植質學會（IHSS）所建議的方法進行萃取。而各項物化特性及結構組成是利用 FTIR 來鑑定其官能基種類、EPR 測定其自由基濃度及特性、CPMAS ¹³C NMR測定其官能基含量及以 EA 分析腐植酸之組成元素成份，另外也將土壤樣品中的有機碳進行 ¹⁴C 定年，而此項分析可對土壤中有機物之轉化特性得到更詳細之資訊。

三、結果與討論

3.1 基本性質分析

試驗土壤之基本性質列於表一，CS 的有機碳含量偏低，推測應是水庫管理處為達水質標準與降低淨水成本而大量曝氣造成底泥中的有機物氧化。CS 底泥中含有少量的 S 可能是由於大氣沉降或上游河川流域所沖刷而來。HS 會有頗高的有機碳含量推測應是由於高山地區植被茂密且未經人為翻土擾動和氣溫較低微生物活度受到限制等因素而造成有機碳高度累積。HS 的 pH 值較 CS 低可能是因為 HS 之土壤特性（較多之金屬氧化物）所導致，而

其電導度值較低，應是淋洗作用造成表土層鹽基性離子流失之結果。

表一、土樣基本性質

	合歡山區土壤 (HS)	澄清湖水庫底泥 (CS)
pH ^a	6.65	7.47
電導度 ^b	795	1980
C ^c	6.40	0.94
N ^c	0.44	0.33
H ^c	2.06	2.07
O ^c	17.45	17.65
S ^c	0.00	0.26

^a採用 NIEA S410.60T 方法

^b取 20 克 soil + 20ml DI water 攪拌 30 分鐘靜置後測其上澄清液，單位為 $\mu\text{S}/\text{cm}$

^c土壤樣品添加 0.1M HCl 後加熱風乾，利用 Elemental Analyzer 分析樣品的各成分組成，單位為%

3.2 ¹⁴C定年分析

由表二可看出 CS 有機碳的平均滯存時間 (Mean residence time; MRT) 約可達到 2980yr，而 HS 有機碳的之 MRT 則與 Wang 等人【12】所提出的一般農地有機碳 MRT 無明顯差異 (73±53 yr)。HS 與 CS 的顯著差異可能歸因於不同的環境條件(例如：氣候、溫度、溼度、微生物種類等)會產生不同種類之有機物，而這些有機物也會具有不同的轉化速率。CS 是長期處於厭氧浸水的環境下，此環境下的生物分解速率與形成腐質化物質的速率都較好氧環境低，所以 CS 的有機碳的 MRT 才會高達約 2980 年。由兩種土樣的 ¹³C 值可判斷其腐植化物質之來源是有差異的。

表二、兩種土壤之¹⁴C定年

	合歡山區土壤 (HS)	澄清湖水庫底泥 (CS)
¹³ C	-21.7±0.1 ‰	-27.5±0.1 ‰
Radiocarbon age ^a	Modern(近 50 年)	2980±40BP
¹⁴ C	26.7±4.2 ‰	-314.5±3.3‰
Per cent modern ^b	103.3±0.4 %	69.1±0.3 %

^aReported age is the conventional radiocarbon age before present (BP)

^bPer cent modern means absolute per cent modern relative to the NBS I oxalic acid standard, corrected for decay since 1950.

3.3 腐植酸元素成份分析

腐植酸之元素組成是一項重要的化學性質，可以用來推測腐植酸的性狀、來源及轉化速率【14】。David 等人【15】提出一般 H/C、N/C 值較高者其脂肪族碳的數量也會較高。而 C/N 值是 HA 轉化速率的重要指標，有學者提出 C/N 值高則其轉化率低【14】。但兩種土樣其之 C/N 值並不符合先前 ¹⁴C 定年之結果 (CS 之 C/N 較低但其 MRT 卻較高)，所以先前對 CS 因長期處於厭氧環境下故轉化分解效率皆較低之推測也再次獲得證實。

表三、兩種土壤腐植酸之元素分析組成

	合歡山區土壤 (HS)	澄清湖水庫底泥 (CS)
N ^a	5.27	6.23
C ^a	47.50	49.12
H ^a	5.82	6.87
C/N	9.02	7.88
AN/AC ^b	0.10	0.11
AH/AC ^b	1.47	1.68

^a %

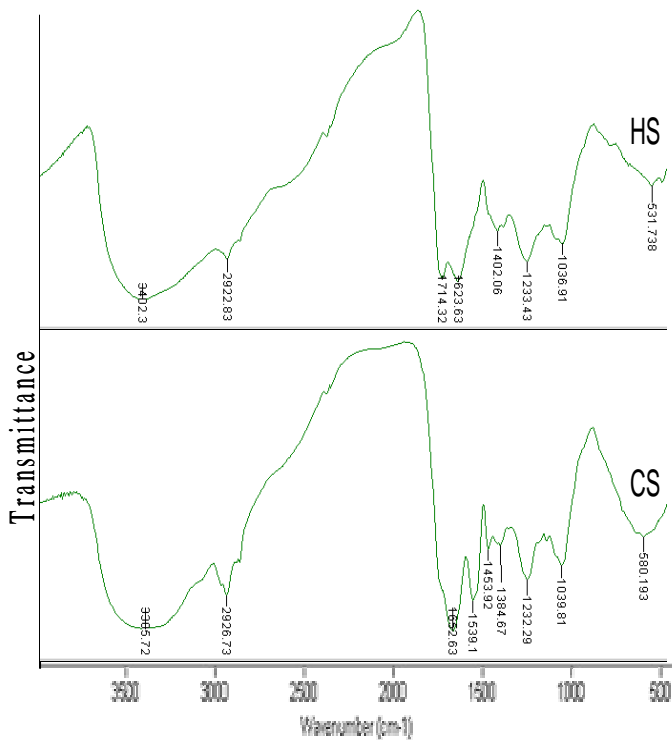
^b atomic ratios

3.4 傅立葉轉換紅外線光譜分析

HS 及 CS 之腐植酸(humic acid; HA)的紅外線光譜列於圖一，其幾個主要吸收峰之鑑識列於表四。兩種 HA 的 FTIR 光譜有明顯的差異是在波數 1652~1714 cm^{-1} 到 1036~1039 cm^{-1} 之間，其中 HS

表四、FTIR 光譜主要吸收峰之鑑識

波數	相對應之官能基
3318~3354 cm^{-1}	OH 及 NH 伸縮振動
2928~2953 cm^{-1}	芳香環之 CH_3 及 CH_2 支鏈
1720~1729 cm^{-1}	COOH、CHO、CO 之 C=O 鍵
1650~1658 cm^{-1}	烯烴類及芳香族 C=C 之伸縮振動
1540~1545 cm^{-1}	CH_3 及 CH_2 之 C-H 彎曲振動、羧酸與鹽類結合體或脂肪族之 C-H
1402~1405 cm^{-1}	
1232~1243 cm^{-1}	芳香族之 C-OH 及醚類或酯類之 C-O-C
1044~1065 cm^{-1}	醇類及碳水化合物
531~580 cm^{-1}	metal-OH 的振動



圖一、HS 及 CS 腐植酸之紅外線光譜

相較於 CS 有明顯的羧酸基吸收峰 (波數 1714.3 cm^{-1}) 而 CS 相較於 HS 則有明顯的羧酸鹽 (波數 1384.6 cm^{-1})、芳香族碳吸收峰 (波數 1539.1 cm^{-1}) 及芳香環之 CH_3 及 CH_2 支鏈吸收峰 (波數 2926 cm^{-1})。由圖譜判斷, CS 有低羧酸基吸收峰可能是水庫水

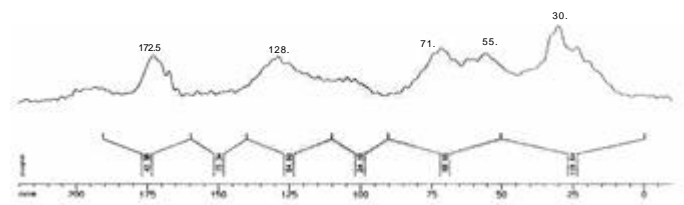
體內含有較高量的鹽基性離子, 進一步和羧酸基結合形成羧酸鹽, 這和先前基本性質分析中 CS 之電導度達 $1980 \mu\text{S}/\text{cm}$ 相吻合, 這也可解釋為何 CS 有較明顯的羧酸鹽吸收峰。CS 在波數 1539.1 cm^{-1} 的吸收峰推論應可歸因於環境條件不同而導致分化成不同特性之芳香族碳。此外, HS 相較於 CS 有較強的吸收帶 (bands) 在脂肪族 C-H 的部分 (波數 1402 cm^{-1}) 若將 HS 的 HA 光譜與旱田農地 HA 光譜【12】相比較則可發現其芳香族性、脂肪族性、醚類、酯類及酚類之吸收帶 (波數 $1402, 1233 \text{ cm}^{-1}$) 皆較強, 此可能是由於農地土壤因常翻土耕作而導致表土層之有機物較易氧化分解。故從此光譜可以證明在不同的環境條件下對 HA 之生成轉化確有影響。

3.5 固態 ^{13}C 核磁共振光譜分析

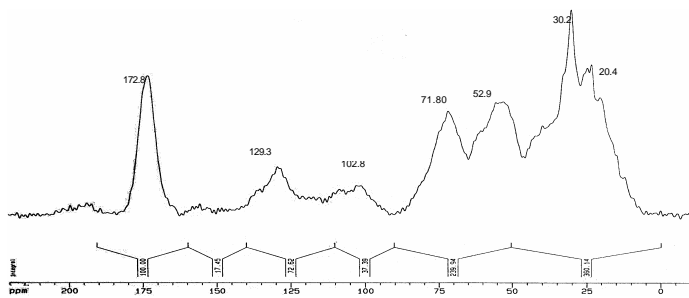
本研究是依 Perminova【13】之方法將 CPMAS ^{13}C NMR 光譜分為如表五所列, 圖譜則列於圖二及圖三。

表五、CPMAS ^{13}C NMR 化學位移分割

化學位移	相對應之官能基
176~168 ppm	羧酸基碳和酯類官能基
132~120 ppm	芳香族碳
108~105 ppm	縮醛類碳
79~56 ppm	醇類、酯類、醚類、碳水化合物
38~32 ppm	烷基碳



圖二、CS 之 HA 固態 ^{13}C 核磁共振光譜



圖三、CS 之 HA 固態 ^{13}C 核磁共振光譜

然後測定其各部面積所佔的百分比，而每一區之面積則代表某種官能基碳的含量。從表六可看出 CS 的組成是較多脂肪族性 (ali/aro = 7.07)，而這也和先前 EA 中所提到之 H/C、N/C 值較高者其脂肪族碳的數量也會較高相符合，而其高的羧酸基含量也是與 FTIR 之結果符合。HS 是較多芳香族性 (Aromaticity = 24.87) 的，且其直鏈烷基碳、醇、醚、酯及碳水化合物之含量皆低於 CS。CS 與 HS 之差異性應為其來源(水源性或陸源性)及生成環境(厭氧態及好氧態)不同所導致而成，而這也可從台灣水田農地 HA 所呈現之結果【12】獲得驗證(水田 HA 之芳香族性較旱田低)。比較 HS 與台灣旱田農地 HA 發現其 ali/aro 及 Aromaticity 之值差有異，推測可能是因地面植被種類(HS 為高山芒草)、地質及地域不同而導致 HA 的性質有所差異。

表六、兩種土樣腐植酸之 CPMAS ^{13}C NMR 光譜中特性碳之分配百分比

Chemical shift (ppm)	合歡山區土壤 (HS)	澄清湖水庫底泥 (CS)
0-50	32.57	43.52
50-90	27.08	28.99
90-110	6.62	4.52
110-140	17.73	8.78
140-160	4.21	2.11
160-190	11.79	12.08
Aliphatic ^a	66.27	77.03
Aromatic ^b	21.94	10.89
(ali/aro) ^c	3.02	7.07
Aromaticity ^d	24.87	12.39

^a Expressed as the sum of the percentages of functional groups in

the chemical shift ranges of 0-50,50-90,and 90-110 ppm.

^b Expressed as the sum of the percentages of functional groups in the chemical shift ranges of 110-140and 140-160ppm.

^c The ali/aro is aliphatic %/aromatic %.

^d The aromaticity is [aromatic/(aromatic +aliphatic)] \times 100%.

3.6 電子自旋共振光譜分析

電子自旋共振光譜的高解析分裂(hyperfine splitting)和光譜分裂因子(spectroscopic splitting factor; g-value)是與 HA 組成分子構造及分子中電子與原子核間的反應有關。Senesi 等人【17】認為 HA 至少有兩種以上的自由基型態，1.穩定型自由基，具有可逆的氧化還原結構故相當穩定；2.轉移型自由基，會因 pH 值增加、化學還原及輻射能量照射而增加其濃度。由實驗結果看出兩種 HA 的 EPR 光譜均成單一分裂，光譜寬度(Breadth)為 CS > HS，自由基濃度(Free radical concentration)則為明顯的 HS > CS，g-value 則為兩者相同，這樣的結果也與台灣水、旱田數據(Wang et al., 2001)相吻合。目前 EPR 仍需藉助其他的物理、化學方法才能更進一步的了解 HA 自由機的構造，所以對 HS 及 CS 等這種土體環境差異極大的 HA，仍需作進一步的探討才能充份的了解其間的關係。

表七、兩種土樣 HA 之電子自旋光譜特性參數值

	合歡山區土壤 (HS)	澄清湖水庫底泥 (CS)
g-value	2.0033	2.0032
Breadth (G)	4.1120	5.0000
Free radical concentration (spins g ⁻¹)	3.84 \times 10 ¹⁸	1.71 \times 10 ¹⁸

四結論

本研究之結果指出，不同的環境條件會直接的影響 HA 的物化及組成特性，這可由 EA、FTIR 及 CPMAS ^{13}C NMR 之結果獲得證實。CS 證實是屬於高度脂肪族性的構造，而其 MRT 高達約 2980 年，

可歸因於厭氧環境造成之低轉化速率。HS 之天然演化形成的 HA 相較於一般農地之 HA 確有差異 (HS 有較高之脂肪族性, 低的芳香族性), 但其是由擾動或是植被不同所導致的則無法判斷, 但根據實驗之資料顯示, 種植之作物、翻土等也會間接或直接的影響 HA, 而綜合以上的結果可了解不同環境條件對 HA 之影響是相互作用而非單一性的。

五、誌謝

本研究承蒙國科會專題研究經費之補助 (計畫編號: NSC91-2211-E-324-015), 特此致謝。

六、參考文獻

1. 王敏昭。1988。土壤環境中腐植質之分佈及性狀。土壤肥料通訊, 20:298-301
2. Stevenson, F.J. 1982. Humus Chemistry. pp. 17-54, 195-243. John Wiley & Sons, New York.
3. Aiken, G.R., D.M. McKnight, R.L. Wershaw and P. MacCarthy. 1985. An introduction to humic substances in soil, sediment, and water. pp.1-9. In: G.R. Aiken et al. (eds.) Humic Substances in Soil, Sediment, and Water: Geochemistry, Isolation and Characterization. Wiley Interscience, New York.
4. Felbeck, G.T., Jr. 1965. Structural chemistry of soil humic substances. Adv. Agron. 17:327-368.
5. 陳立夫、王敏昭。1995。台灣兩種主要農耕土壤腐植酸之光譜及其他分析特性。中國農業化學會誌, 30: 33-42。
6. Felbeck, G.T., Jr. 1971. Structural hypotheses of humic acids. Soil Sci. 111:42-48.
7. Martin, J.P. and K. Haider. 1971. Microbial activity in relation to soil humus formation. Soil Sci. 111:54-63.
8. Haider, K., J.P. Martin, and Z. Filip. 1975. Humus chemistry. p. 195-244. In: E.A. Paul and A.D. McLaren. (eds.) Soil Biochemistry. Vol. 4. Marcel Dekker, New York.
9. Wang, S.C. and S.W. Li 1977. Clay minerals as heterogeneous catalysis in preparation of model humic substance. Z. Pflanzenernähr. Bodenk. 140:669-676.
10. Wang, T.S.C., S.W. Li and Y.L. Ferg. 1978. Catalytic polymerization of phenolic compound by clay minerals. Soil Sci. 126:15-21.
11. Wang, T.S.C., M.C. Wang, Y.L. Ferg and P.M. Huang. 1983. Catalytic synthesis of humic substances by natural clays, silts, and soils. Soil Sci. 135:360-360.
12. M. C. Wang and S. H. Chang. 2001. Mean residence time and characteristic of humic substances extracted from Taiwan soil. Can. J. Soil Sci. 81:299-307
13. Perminova, I. V., N. Y., Grechishcheva, and V. S. Petrosyam. 1999. Relationships between structure and binding affinity of humic substance for polycyclic aromatic hydrocarbons: relevance of molecular descriptors. Environ. Sci. Technol. 33:3781-3787
14. Jenkinson, D. S. 1988. Soil organic matter and its dynamics. p. 608-651. In: Alan Wild (ed) Russell's Soil Conditions and Plant Growth. Longman Scientific and Technical.
15. David A. N. Ussiri and Chris E. Johnson. 2003. Characterization of organic matter in a northern hardwood forest soil by ¹³C NMR spectroscopy and chemical methods. Geoderma 111: 123-149.
16. Stearman, G. K., R. J. Lewis, L. J. Tortorelli, and D. D. Tyler. 1989. Characterization of humic acid from no-tilled and tilled soils using carbon-13 nuclear magnetic resonance. Soil Sci. Soc. Am. J. 53:744-749.
17. Senesi, N., and M. Schniter. 1977. Effects of pH, reaction time, chemical reduction and irradiation on ESR spectra of fulvic acids. Soil Sci. 123:224-234.