

國立臺灣大學生命科學院生態學與演化生物學研究所

碩士論文

Department of Ecology and Evolutionary Biology

College of Life Science

National Taiwan University

Master Thesis

鴛鴦湖湖水溶解性有機碳之來源探討

Sources of dissolved organic carbon in



Ming-Hsuan Chou

指導教授：吳俊宗 博士

Advisor: Jiunn-Tzong Wu, Ph.D.

中華民國一〇〇年六月

June, 2011

## 誌 謝

轉眼一過已近三年。在本論文研究期間，首要感謝吳俊宗老師的悉心指導，讓我除了學習如何獨立思考、做研究外，也從老師那裡學到很多做人處事的道理。我也將銘記老師傳授給學長的一句話：「頂好的研究方式是：找個湖畔，坐下來靜靜思考」。感謝口試委員邱志郁老師、王立志老師、張世杰老師、王巧萍老師詳細地審閱我的論文並給予許多寶貴的意見，使本論文能更為完善。

感謝藻類實驗室的各位成員：傅鈴姐、麗珠姐、文亞姐、秋月姐、永昇學長、彥斌學長、文正學長、敬舒學長、詔中學長、以及巴布夫婦長期以來的照顧與關懷。感謝你們帶著我做實驗、出野外、討論實驗等，無論在實驗或生活上都幫助我良多，在此一併致上我的謝意！

感謝台大地質系劉聰桂教授實驗室提供腐植物質分析的相關研究資訊及器材，也感謝周宏農教授、吳先琪教授、楊天南等老師在儀器、數據分析上的建議及討論。感謝台大(尤其是生演所)的學長姊、同學、以及學弟妹們的幫助及鼓勵。能相互加油、分享的感覺真的很棒！也感謝研究進行期間，行政院退輔會森林保育處、100 線林道守衛站工作人員的關照，讓本研究能順利在鴛鴦湖進行採樣。

感謝被我採集的植物、土、水和藻類，以及我所使用的儀器。沒有你們我的研究不可能完成！感謝生養萬物的大地之母，提供如此富饒多姿的環境——鴛鴦湖，讓我能一親這雲霧裡的芳澤。往後希望能盡自己的棉薄之力，好好的與大家一起守護這我們唯一的家——地球！

最重要的，要感謝我的家人。身為人子而不能略盡孝意，吾深感愧咎。感謝你們的包容、體諒與支持，讓我在無後顧之憂下專心完成學業。一路上，要感謝的人、事、物，不勝枚舉。謹引用此句：「無論什麼事，得之於人者太多，出之於己者太少。因為需要感謝的人太多了，就感謝天罷。」，謹以此篇論文，獻給所有曾在我生命中出現的每個人事物，並向你們致以十二萬分的謝意，感恩！

# 目 錄

圖目錄.....	IV
表目錄.....	VII
縮寫表.....	VII
中文摘要.....	1
英文摘要.....	2
一、 前言.....	3
1.1. 溶解性有機物、腐植物質與水質的關係.....	3
1.2. 研究地點.....	5
1.3. 研究動機與探討目標.....	6
二、 材料與方法.....	9
2.1 樣本採集.....	9
2.1.1 採集植物凋落物.....	9
2.1.2 採集表土.....	9
2.1.3 採集湖水.....	9
2.2 樣本處理.....	9
2.2.1 淋洗實驗.....	10
2.2.1.1 淋洗裝置之設計(圖 2-2).....	10
2.2.1.2 淋洗瓶中之植體量(乾重).....	11
2.2.1.3 淋洗設置數量及收集之時距.....	11
2.2.1.4 接收淋洗之方式.....	11
2.2.1.5 蘚之短期淋洗.....	11
2.2.2 各水樣之處理.....	11
2.2.2.1 過濾.....	11
2.2.2.2 萃取腐植物質(humic substance, HS) .....	11
2.2.3 表土之處理.....	13
2.2.3.1 過篩.....	13
2.2.3.2 萃取 HS .....	13
2.3 DOC 分析 .....	14
2.3.1 DOC 性質量化.....	14
2.3.1.1 酸鹼度( pH 值).....	14
2.3.1.2 吸光值.....	14
2.3.1.3 DOC 濃度 .....	15
2.3.2 DOC 性質探討 .....	15
2.3.2.1 高效液相層析(high performance liquid chromatography, HPLC)：分析分子量 .....	15
2.3.2.2 螢光激發—發射矩陣光譜(excitation-emission matrices,	

EEMs)：分析螢光發色團 .....	16
2.4 DOC 對藻類生長之影響 .....	17
2.4.1 分離純化藻類 .....	17
2.4.2 不同 DOC 濃度之培養液 .....	17
2.4.3 藻類培養條件 .....	19
2.4.4 葉綠素 <i>a</i> 濃度測定法(江，2002；US EPA, 1992) .....	20
2.4.5 生長速率之計算 .....	20
2.4.6 培養中之藻液之 DOC 性質變化 .....	20
2.4.6.1 高效液相層析(HPLC) .....	20
2.4.6.2 螢光激發—發射矩陣光譜(EEMs) .....	20
2.5 統計分析 .....	20
三、 結果 .....	22
3.1 pH 值變化 .....	22
3.1.1 淋洗液 .....	22
3.1.2 湖水 .....	24
3.2 吸光值變化 .....	25
3.2.1 水色( $A_{440}$ ) .....	25
3.2.1.1 淋洗液 .....	25
3.2.1.2 湖水 .....	26
3.2.2 苯環化程度( $SUVA_{254}$ ) .....	28
3.2.2.1 淋洗液 .....	28
3.2.2.2 湖水 .....	29
3.3 DOC 變化 .....	30
3.3.1 植物凋落物的 DOC 淋出量 .....	30
3.3.2 湖水的 DOC 濃度變化 .....	33
3.3.3 DOC 與 HS 的關係 .....	33
3.4 DOC 濃度、pH 值與水色( $A_{440}$ )的關係 .....	35
3.4.1 DOC 濃度與 pH 值的關係 .....	35
3.4.2 DOC 濃度與水色( $A_{440}$ )的關係 .....	37
3.5 DOC 結構的 EEMs 圖譜分析 .....	39
3.5.1 淋洗液 .....	40
3.5.2 表土之 HS 萃取液與 HA 對照品 .....	45
3.5.3 湖水 .....	49
3.5.4 培養之藻液 .....	51
3.6 DOC 分子量的分析 .....	58
3.6.1 各水樣及萃取液之分子量 .....	58
3.6.2 培養藻液之分子量 .....	60
3.7 不同 DOC 濃度對藻類生長的影響 .....	62

四、	討論.....	65
4.1	淋洗液與湖水.....	65
4.1.1	pH 值變化.....	65
4.1.2	吸光值變化.....	66
4.1.2.1	水色( $A_{440}$ ).....	66
4.1.2.2	苯環化程度( $SUVA_{254}$ ) .....	67
4.1.3	凋落物的 DOC 淋洗狀況 .....	68
4.2	DOC 的螢光激發－發射矩陣光譜(EEMs)與分子量的關係 .....	70
4.2.1	淋洗液.....	71
4.2.2	表土之 HS 萃取液 .....	72
4.2.3	湖水.....	72
4.2.4	培養之藻液.....	73
4.2.5	萃取液與原水.....	74
4.3	DOC 濃度與藻類生長的關係 .....	75
五、	結論.....	78
六、	參考文獻.....	80



## 圖 目 錄

圖 1-1 腐植物質的可能結構圖(Libes, 1992) .....	5
圖 2-1 鴛鴦湖湖水等深線以及本研究之湖水與表土採樣點 .....	9
圖 2-2 野外及室內組的淋洗裝置 .....	10
圖 2-3 分離自鴛鴦湖的藻種 .....	18
圖 3-1 在 2010/4~9(淋洗第 1~6 個月)期間, 每月採集之野外淋洗液的 pH 值變化 .....	22
圖 3-2 在 2010/4~2011/3(淋洗第 1~12 個月)期間, 每月採集之室內淋洗液的 pH 值變化 .....	23
圖 3-3 在 2010/4~2011/3(淋洗第 1~12 個月)期間, 每克乾燥植體所淋洗出的水色( $A_{440}$ )變化 .....	26
圖 3-4 在 2009/7/19~2010/9/23 期間, 鴛鴦湖水樣的水色變化( $A_{440}$ )與採集前一週雨量之對照圖 .....	27
圖 3-5 在 2009/7/19~2010/9/23 期間, 鴛鴦湖湖心表水的水色變化( $A_{440}$ )與採集前一週雨量之關係圖 .....	27
圖 3-6 在 2010/4~2011/3(淋洗第 1~12 個月)期間, 野外與室內淋洗液的 $SUVA_{254}$ 變化 .....	29
圖 3-7 在 2010/5/20~9/23 期間, 鴛鴦湖水樣的 $SUVA_{254}$ 值變化圖 .....	30
圖 3-8 在 2010/4~2011/3(淋洗第 1~12 個月)期間, 每月每克乾燥植體的 DOC 淋出量 .....	31
圖 3-9 在 2010/4~2011/3(淋洗第 1~12 個月)期間, 每克乾燥植體的 DOC 淋出量累計圖 .....	32
圖 3-10 在 2010/5/20~9/23 期間, 湖水的 DOC 濃度及採集前一週的雨量變化 .....	33
圖 3-11 第 1~3 個月的野外及室內淋洗液與其所含 HS 的 DOC 濃度之關係圖 .....	34
圖 3-12 三種植物淋洗液原水樣與其所含 HS 的 DOC 濃度比較圖 .....	34
圖 3-13 在 2010/4~2011/3(淋洗第 1~12 個月)期間, 室內淋洗液的 DOC 濃度與 pH 值之關係圖 .....	35
圖 3-14 在 2010/5/20~9/23 期間, 所有湖水水樣的 DOC 濃度與 pH 值之關係圖 .....	36
圖 3-15 在 2010/5/20~9/23 期間, 湖心及出水口表水 DOC 濃度與 pH 值之關係圖 .....	36
圖 3-16 在 2010/4~9(淋洗第 1~6 個月)期間, 野外淋洗液 DOC 濃度與水色( $A_{440}$ )的關係圖 .....	37
圖 3-17 室內淋洗液(第 2~12 個月)的 DOC 濃度與吸光值( $A_{440}$ )之關係圖 .....	38
圖 3-18 在 2010/5/20~9/23 期間, 所有湖水水樣的 DOC 濃度與吸光值( $A_{440}$ )的關係圖 .....	38
圖 3-19 室內淋洗液(第 1 個月)的 DOC 濃度與吸光值( $A_{440}$ )之關係圖 .....	39

圖 3-20 鴛鴦湖湖心表水的螢光激發—發射矩陣光譜(EEM) .....	40
圖 3-21 杜鵑淋洗液(淋洗設置第 28 天)的 EEM 圖譜 .....	40
圖 3-22 扁柏淋洗液(淋洗設置第 28 天)的 EEM 圖譜 .....	41
圖 3-23 薜淋洗液(淋洗設置第 28 天)的 EEM 圖譜 .....	41
圖 3-24 薜之短時間淋洗實驗的 EEM 圖譜 .....	42
圖 3-25 扁柏淋洗液(淋洗設置第 63 天)的 EEM 圖譜 .....	43
圖 3-26 杜鵑淋洗液(淋洗設置第 286 天)的 EEM 圖譜 .....	44
圖 3-27 扁柏淋洗液(淋洗設置第 286 天)的 EEM 圖譜 .....	44
圖 3-28 薜淋洗液(淋洗設置第 286 天)的 EEM 圖譜 .....	45
圖 3-29 表層土壤之 FA 萃液(未稀釋)的 EEM 圖譜 .....	46
圖 3-30 表層土壤之 FA 萃液(稀釋 20 倍)的 EEM 圖譜 .....	46
圖 3-31 表層土壤之 HA 萃液(未稀釋)的 EEM 圖譜 .....	47
圖 3-32 表層土壤之 HA 萃液(稀釋 20 倍)的 EEM 圖譜 .....	47
圖 3-33 10000 ppm 的 HA (No. 53680, Sigma)的 EEM 圖譜 .....	48
圖 3-34 10 ppm 的 HA (No. 53680, Sigma)的 EEM 圖譜 .....	48
圖 3-35 10 ppm 的 HA 鈉鹽 (No. H16752, Sigma)的 EEM 圖譜 .....	49
圖 3-36 鴛鴦湖第 3 號入水口表水(2010/1/25)的 EEM 圖譜 .....	50
圖 3-37 鴛鴦湖第 5 號入水口表水(2010/5/20)的 EEM 圖譜 .....	50
圖 3-38 鴛鴦湖湖心表水(2010/5/20)的 EEM 圖譜 .....	51
圖 3-39 三種 DOC 濃度培養液之 EEM 圖譜比較 .....	54
圖 3-40 <i>O. limnetica</i> 在三種 DOC 濃度培養液中, 第 0 天與第 3 天藻液之 EEM 圖譜比較。#0D 組第 3 天藻液稀釋 5 倍; *10D 組第 3 天藻液稀釋 10 倍 .....	55
圖 3-41 <i>C. vulgaris</i> 在三種 DOC 濃度培養液中, 第 0 天與第 3 天藻液之 EEM 圖譜比較。 *10 D 組第 3 天藻液稀釋 10 倍 .....	56
圖 3-42 <i>T. wisconsinensis</i> 在三種 DOC 濃度培養液中, 第 0 天與第 3 天藻液之 EEM 圖譜比較。 *10 D 組第 3 天藻液稀釋 10 倍 .....	57
圖 3-43 分子量標準品(77000 Da)之高效液相層析圖 .....	58
圖 3-44 三種藻在不同初始 DOC 濃度下培養三天, 起始與結束培養時之藻液分子量(單位: Da)。(a) <i>O. limnetica</i> ; (b) <i>C. vulgaris</i> ; (c) <i>T. wisconsinensis</i> .....	61
圖 3-45 三種分離自鴛鴦湖之浮游藻在不同 DOC 濃度培養條件下, 連續培養三天之(a)葉綠素 a 濃度及(b)生長速率變化 .....	63

## 表 目 錄

表 2-1 DOC 於 EEMs 圖譜中出現發射峰值( $Em_{max}$ )時之 $Ex$ 與 $Em$ 的位置(nm).....	16
表 2-2 NC 無機培養液.....	18
表 3-1 在 2009/7/19~2010/9/23 期間，鴛鴦湖水樣的 pH 值與雨水 pH 值、雨量之對照表.....	24
表 3-2 在 2009/7/19~2010/9/23 期間，鴛鴦湖水樣之水色變化( $A_{440}$ )與採集前一週雨量之對照表.....	28
表 3-3 三種藻在三種濃度之 DOC 培養液中，連續培養三天，每日藻液之 EEMs 圖譜的螢光發射峰值變化。.....	53
表 3-4 各水樣及萃取液之分子量(單位：Dalton (Da)) .....	59



## 縮寫表

A<sub>440</sub>：波長 440 nm 處的吸光係數(absorption coefficient at 440 nm)

DOC：溶解性有機碳 (dissolved organic carbon)

DOM：溶解性有機物 (dissolved organic matter)

EEMs：螢光激發—發射矩陣光譜 (excitation-emission matrices)

FA：黃腐酸 (fulvic acid)

HA：腐植酸 (humic acid)

HPLC：高效液相層析 (high performance liquid chromatography)

HS：腐植物質 (humic substance)

SUVA<sub>254</sub>：波長 254 nm 處的比吸光值(specific ultraviolet absorbance at 254 nm)



## 中文摘要

鴛鴦湖為位於台灣北部之中高海拔湖泊，其湖色呈現深褐色且偏酸性，被認為可能由溶解性有機碳(DOC)所造成。為進一步了解 DOC 在此湖泊生態系所扮演的角色，本研究乃探討湖水中 DOC 的來源以及其對藻類生長的影響。實驗採集湖區陸域的杜鵑、扁柏之凋落物及附生苔蘚進行淋洗、萃取湖周之表土和分離純化湖水中的藻類，以分析淋洗液、土壤、湖水及藻液的 DOC。結果顯示，高比例的 DOC 為深褐色、不易被分解的腐植物質。湖水 DOC 的苯環化程度(SUVA<sub>254</sub>)相當高。在偏酸性雨水的淋洗下，苔蘚產生更酸的淋洗液。降雨量為影響湖水 DOC 濃度、pH 值、水色(A<sub>440</sub>)的重要因子，且這些變量間有高度的相關性。由螢光光譜儀所做之激發—發射矩陣光譜(EEMs)及用高效液相層析(HPLC)儀所做之分子量檢測顯示，湖水的 DOC 以外源性的腐植物質為主，其性質與杜鵑和蘚的淋洗液較為接近。以鴛鴦湖湖水之 DOC 對分離自此湖的藻類做培養試驗，結果顯示 DOC 濃度愈高，則藻類生長愈多。對照藻液的 EEMs 圖譜，顯示藻類生長時會產生小分子的有機物及大分子的腐植物質，但因其在水中的濃度很低，僅在湖水量較少時較能看出其對湖水 DOC 性質的貢獻。綜言之，在扁柏為優勢植被的鴛鴦湖集水區中，林下的灌木及苔蘚等附生植物的淋洗液以及表土有機質層中的腐植物質可能為鴛鴦湖湖水 DOC 之重要來源，也是使土壤及湖水酸化的主要原因。

**關鍵字：**鴛鴦湖、溶解性有機碳、腐植物質、SUVA<sub>254</sub>、A<sub>440</sub>、HPLC、EEMs

## 英文摘要

Yuan-yang Lake is a subalpine lake situated in northern Taiwan. The lake water is characterized by brown color with low pH. In order to know more about the role of dissolved organic carbon (DOC) in the lake ecosystem, this study is attempted to elucidate the sources of DOC and its effect on algae in this lake. Litters from dominant plants, rhododendron and cypress, and epiphytic liverworts were collected and used for leaching experiments. In addition, surface soil of forest was collected and extracted for comparison with lake water. The results showed that DOC in lake water was contributed mainly by the refractory, humic substances (HS). High values of SUVA<sub>254</sub> in lake water suggested that it is in high degree of aromaticity. The acidity of leachates from epiphytic liverworts was higher than rain water. The amount of precipitates was an important factor that affected the DOC concentration, pH, and color (A<sub>440</sub>) in lake water. The results of excitation-emission matrices (EEMs) and high performance liquid chromatographic (HPLC) analysis showed that a high similarity existed between the fluorescence plots and molecular weight spectra between lake water and the leachates of rhododendron and epiphytes, suggesting that DOC in lake water should be mainly allochthonous in origin. In experiments of cultivating the algae isolated from lake with DOC, it is revealed that algae grew faster in higher concentrations of DOC. The plots of EEMs showed that algal cells produced low molecular weight molecules and high molecular weight HS. However, owing to low algal density in lake water, the role played by the algal-derived DOC in lake water was minor and could be negligible. The source of DOC and its effects on algae in this lake were discussed. This study provides data showing that the DOC in YYL is contributed mainly by the leachates from forest under-layers and epiphytes.

**Keywords :** Yuan-Yang Lake, dissolved organic carbon (DOC), humic substance (HS), SUVA<sub>254</sub>, A<sub>440</sub>, HPLC, EEMs

# 一、前言

## 1.1. 溶解性有機物、腐植物質與水質的關係

水中的溶解性有機物(dissolved organic matter, DOM)廣泛存在於土壤圈及水圈中，其在生態系的碳循環中占有重要的角色，對於水質也有重要的影響。DOM 大部分由 DOC (dissolved organic carbon，定義為能通過  $0.45\text{ }\mu\text{m}$  孔徑濾膜之有機碳化合物)所組成；DOC 大部分(約 50~80 %)由腐植物質(humic substances, HS)所組成(Thurman, 1985)。腐植物質(HS)外觀呈黃至深褐色，普遍存在於土壤、河、湖沼、海洋及地下水中，對水色或土色影響大，主要來源為植物的殘骸。HS 依據在酸鹼中的溶解性而分成三大類(Steinberg, 2003)：

1. 黃腐酸(Fulvic acid, FA)，酸鹼中皆可溶；
2. 腐植酸(humic acid, HA)，可溶於鹼中，強酸時沉澱析出；
3. 腐植質(humin)，酸鹼中皆不溶。

此三者皆為混合物，由多種有機碳化合物所組成，各有一定的分子量範圍，分子量由小到大依序為：FA、HA、humin，其中 FA 與 HA 之間、HA 與 humin 之間分子量範圍各有部分之重疊。但由於 humin 的分子大小範圍超過直徑  $0.45\text{ }\mu\text{m}$ ，故 DOC 所含之 HS 只討論 FA 及 HA 此兩類有機酸。在植物殘骸腐化分解的過程中，一方面產生易分解的物質，一方面產生微生物難以分解的物質(如苯酚類化合物等木質素的衍生物)即為 HS，其繼續經氧化降解(degradation)後可再分解為較小分子的 HA 及 FA；同時小分子的 HA 及 FA 也可經聚合作用(condensation)變成較大分子的腐植物質(Steinberg, 2003)。

HS 難被微生物分解，但又可與其他化合物產生反應；它有許多官能基，能形成海綿狀的結構，因此可吸附或螯合(chelating)金屬、金屬氧化物、鹽類、黏土礦物、放射性核種及其他非金屬元素等，性質複雜(圖 1-1)。HS 可在水中降解或在陸地降解後經淋洗作用而進入水域環境，然而其在水域生態環境中的角色仍

待釐清。其對生物之影響程度為何？以何種機制去直接或間接影響生物？前人之研究如下：

1. 在 Prakash and Rashid (1968)的研究中指出：在特定濃度範圍內的 HA 可促進兩種海水浮游性甲藻的生長，且以分子量較小的 HA 來培養的藻長得較多。FA 的直徑大小約為  $10^{-9}$  m，與生物細胞膜的通道大小相似，可能可被吸收而進入生物體內。例如 Steinberg et al. (2003)的研究發現：以  $^{14}\text{C}$  標定類似 FA 的咖啡酸氧化物會被水生生物所吸收並在食物鏈中累積，顯示 HS 可能被細胞當成是「營養」而吸收。
2. 許多研究報告指出，HS 會阻礙植物體行光合作用，其機制可能為：阻斷葉綠素中的光合系統 PS II 之電子傳遞、增加細胞中的氧化壓力、影響水色而可能有遮光效應等。其中 Steinberg (2003)、Kamara (unpubl. data)的研究分別使用一種柵藻、金魚藻培養在含不同 HS 之培養液一段時間後，發現測其光合作用所產生之氧氣都顯著低於對照組(HS-free medium)，顯示 HS 可能阻斷 PS II 之電子傳遞鏈。
3. 在貧養至中養之湖泊中，其水色主要由 HS 等外源性(allochthonous)的 DOC 所貢獻(Houser, 2006)，而水色可能會影響到水的溫度、溫躍層的深度、光的穿透度等，再進一步則會影響湖泊的初級生產力、食物網結構、甚至整個湖泊生態系統的代謝作用(Cole et al., 2000)。

關於 HS 對水域環境的各種可能的影響，實有待進一步的研究。在不同的地理、地質環境，其 HS 成分也不盡相同，DOC 的性質也不同。因此目前對 DOC 的研究，除了測量總有機碳量(TOC)、總無機碳量(TIC)外，應也需要對 DOC 的「性質」(如 HS 的組成成份)加以探討。

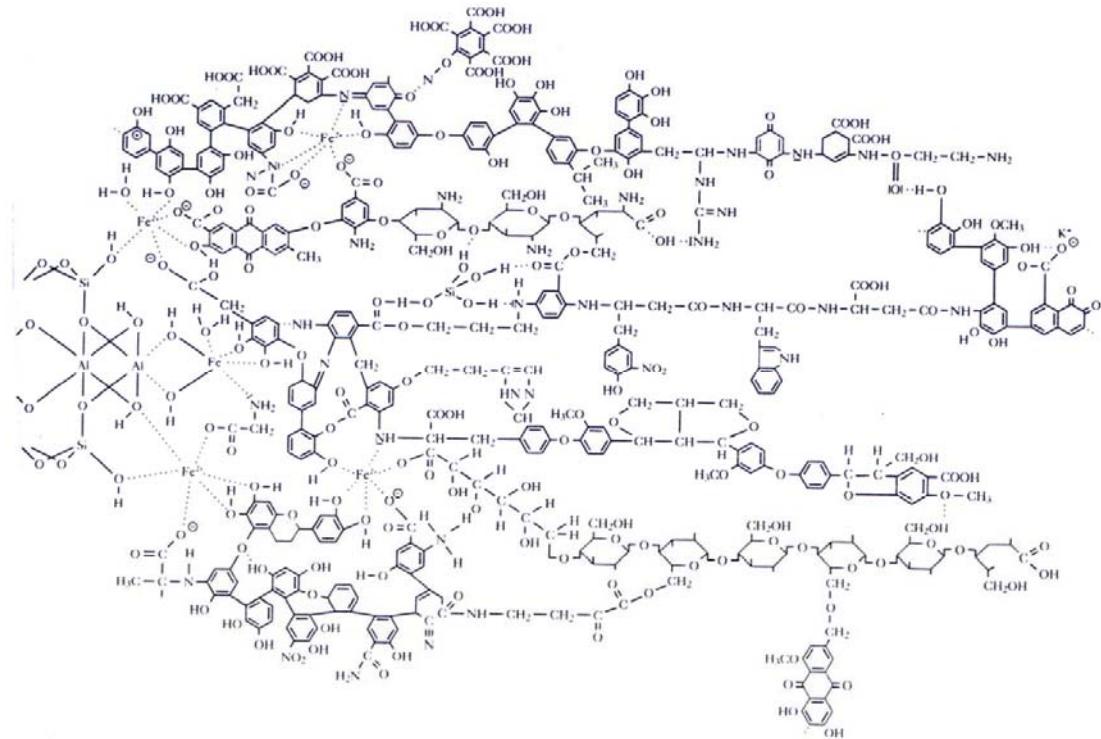


圖 1-1 腐植物質的可能結構圖(Libes, 1992)

## 1.2. 研究地點

鴛鴦湖位於新竹、桃園、宜蘭縣之交界處的鴛鴦湖自然保留區內，湖面的海拔高度為 1670 公尺，為臺灣北部山區中高海拔的湖泊之一。其湖水呈現深褐色且偏酸性，被認為可能為高濃度的溶解性有機碳(DOC)所造成(Wu et al., 2001)。湖區的年雨量約 3000~4000 mm，年均溫 12.7 °C，月均溫最高 18.1 °C (7 月)，最低 5.9 °C (2 月) (Lai et al., 2006)；氣候類型屬於溫帶冷涼多濕氣候，低溫、低日照、高濕度的中海拔霧林帶地區。該湖泊為東西向，狹長呈匙狀，入水口 6 處，出水口 1 處。湖泊集水區面積約 374 公頃，湖泊面積為 3.6 公頃，西半部較深，最深達 4.5 公尺；東半部水淺，在 1 公尺以內(Tsai et al., 2008)。湖水之唯一出水口位於西南端，向西流下成為塔克金溪，後匯入大漢溪。湖水總磷為 3.5~6.7 ppb，總氮為 0.2~0.4 ppm，總有機碳 2~10 ppm，葉綠素 a 含量 < 5 ppb (Tsai et al., 2008)。湖水之 pH 值長年在 4.0~6.5 之間，為一典型的酸性貧養湖泊。湖中浮游藻類密度不高，但種類豐度很高，以嗜酸性藻類為主(周等, 1998)。

鴛鴦湖湖區陸域的優勢植被為天然檜木林，由於潮溼多雨，附生植物覆滿在紅檜、扁柏及林下灌木之樹上，形成一奇特的景觀及生態系。在過去的研究中，收集扁柏、杜鵑以及林下植物等之雨水、穿落水及幹流水，結果皆偏酸性且營養鹽貧乏(周等，1998)。

鴛鴦湖森林表土之有機碳含量高達 34%，呈現強酸性，表土之 pH 值低至 3.4。在潮溼、多雨的湖區陸域森林及沼澤，土壤經常飽含水分而缺乏氧氣，阻礙了有機物分解，易使其堆積形成深厚的有機質層，厚度可達 30 cm (Chen and Chiu, 2000)。就能量的利用屬性而言，此湖屬於異營性的湖泊。雨水不斷地淋洗湖區陸域森林的有機質層，將未分解完全的有機物碎屑和水溶性有機物帶入湖泊水體；颱風等天然擾動會使其水中的外源性有機碳大幅增加、水色變深，加劇此湖之代謝作用(Tsai et al., 2008)。

### 1.3. 研究動機與探討目標

鴛鴦湖位於保育區內，甚少受人為干擾，為一典型之天然中高海拔湖泊。在此環境條件下的湖水酸鹼度常年偏低，在過去的研究顯示酸雨雖造成湖域酸性之增加，但由四周森林之附生苔蘚淋洗出的腐植物質等有機酸，可能才是造成湖泊酸化的主因(Wu et al., 2001)。若有機酸等 DOC 造成湖泊酸化，則陸域上之植物、土壤、水中之微生物等何者貢獻較大？各種植物所淋洗出的 DOC 是否有別？前述 DOC 可能促進或抑制水中生物的生長，則鴛鴦湖湖水的 DOC 對扮演湖中生產者的藻類生長有何影響？為進一步探究湖水 DOC 的來源及對生物的影響，本研究希望由分析植物淋洗液、土壤、湖水及藻液 DOC 的性質、予以量化，以及探討其對藻類生長可能造成的影響，以期能更了解不同的 DOC 在湖泊生態系中的角色。實驗設計上，分為以下幾個方向：

1. 對扁柏、林下灌木的凋落物及附生植物做現地以及室內的淋洗測試，對淋洗液的 pH 值、水色、DOC 濃度等進行逐月定量研究。

2. 比較植物淋洗液、土壤有機質層以及湖水此三者之 DOC 性質並加以量化，探討 pH 值、水色、DOC 濃度等變量間的相關性以及湖水 DOC 可能的主要來源。
3. 以鴛鴦湖湖水的 DOC 來對藻類做培養試驗，檢視其影響各藻種生長的程度，並探討藻液的 DOC 的定性及定量。

淋洗實驗設計與水色( $A_{440}$ 值)的量測部分，主要參考 Qiu et al. (2005)的研究。其在澳洲西南部對四種植物凋落物進行淋洗約 200 天，探討淋洗液隨時間的水色及 pH 值變化，以及推算在該地之雨季時，各凋落物所淋洗出的 gilvin (與 HS 同義：黃褐色的有機碳混合物)量。 $A_{440}$ 值定義為：水樣在波長 440 nm 處之吸光係數，為測量水樣色度常用的量化指標。此值愈高，代表水體愈能吸收可見光而呈現較深褐色之水色。關於淋洗所設置的優勢植物，前人的研究指出，鴛鴦湖湖周森林殘落量主要由臺灣扁柏及臺灣杜鵑所構成，約占年度總收集量的 80 %以上；其中大多數為葉部凋落物，約占總凋落量的 85 % (周等，1998)。本研究即依此選擇湖周森林的臺灣杜鵑、臺灣扁柏之凋落物以及附生性苔蘚進行淋洗實驗。

緊鄰鴛鴦湖，相距只有 13.4 km 的翠峰湖，也是一個由檜木林所環繞的高山湖泊，兩者的海拔高度和氣候條件都十分相似。因此，本研究也採集翠峰湖的湖心表水，比較其與鴛鴦湖的湖心表水在 DOC 性質上之異同。

在定性方面，本研究主要參考 Alberts et al. (2002)對湖水 DOC 之分子量的研究，以及 Aoki et al. (2008)對湖水與湖中微囊藻釋出的 DOC 之螢光光譜的研究，來探討湖水 DOC 可能的主要來源，以及植物淋洗液、土壤、湖水、藻液之 DOC 性質的比較。Alberts et al. (2002)以聚苯乙烯磺酸鈉鹽(polystyrene sulfonic sodium salt)作為分子量之標準品，使用高效液相層析(HPLC)儀來分析在地理及氣候環境差異大的兩座湖，其表層水 DOC 的分子量大小。Aoki et al. (2008)研究日本 Biwa 湖與湖中造成藻華汙染的微囊藻在培養與降解時所釋出的 DOC，結果發現此微囊藻所釋出的 DOC 對湖水中的 HS 有可觀的貢獻；且其 DOC 的螢光激發-發射矩陣光譜(excitation-emission matrices, EEMs)也與湖周土壤的 FA 類似但較偏親水

性。EEMs 圖譜可由不同的激發/發射波長位置的峰值，來判斷 DOC 的來源、分子量大小、疏水程度等，為常用以判定 DOC 性質的方式之一。

在定量方面，本研究對植物淋洗液(野外及室內)及湖水進行 DOC 濃度、水色( $A_{440}$  值)、pH 值、苯環化程度(SUVA<sub>254</sub> 值)逐月的測定。DOC 濃度以濕式氧化法 TOC 分析儀來進行測定。水樣之苯環化程度(SUVA<sub>254</sub> 值)主要參考 Sachse et al. (2001)的研究。SUVA<sub>254</sub> 值定義為：水樣的 DOC 中，苯環化合物所占的比例。苯環化合物在波長 254 nm 處有最大之吸光值，故此波長通常作為其含量的指標。本研究以此作為定量水樣 DOC 的方法之一，並與 EEMs 圖譜作對照比較。

DOC 對藻之生長影響方面，主要參考 Körner and Nicklisch (2002) 以及 Steinberg et al. (2006) 的研究。前者以不同濃度的水生植物所產生的次級代謝物對各藻種做培養試驗，測量各藻種的葉綠素 *a* 濃度(常用以計算藻類生物量的方式之一)變化，以及其光合第二系統 PS II 受抑制的程度，結果發現不同藻種受抑制的程度有所不同，顯示其對水生植物 DOC 的敏感度不一。後者為回顧性文獻，列舉許多以 DOC、HS 對藻類等生物進行培養試驗的研究，證明 DOC 或其中的 HS 可能促進或抑制藻類的生長，甚至同屬不同種的藻種，其對同一種 DOC 的敏感度也不同。本研究參考此二篇論文的藻類培養條件，以鴛鴦湖湖水之 DOC 對純化自鴛鴦湖中的藻類於實驗室做培養試驗，檢視在不同 DOC 濃度的培養下，各藻種之生長速率所受到的影響程度。

## 二、材料與方法

### 2.1 樣本採集

#### 2.1.1 採集植物凋落物

選定鴛鴦湖湖區步道周圍 2 種優勢植物之凋落物(落葉與少許小枝條)：臺灣杜鵑(*Rhododendron formosanum* Hemsl.，以下稱「杜鵑」)、臺灣扁柏(*Chamaecyparis obtusa* var. *formosana*，以下稱「扁柏」)，以及 1 種附生性植物：厚角鞭蘚(*Bazzania fauriana* (Steph.) Hatt.，以下稱「蘚」)的枯黃植體。

#### 2.1.2 採集表土

採集湖區地名「天打雷劈」處，土表覆滿水苔之深褐色表土。以圓鍬挖取表土有機質層(O layer，約 30 cm 深)，採集 200 g，帶回實驗室於陰暗處攤開使其自然乾燥。

#### 2.1.3 採集湖水

在 2009/7 ~ 2010/9 期間，每月採集一次鴛鴦湖湖區之 6 個入水口、1 個出水口以及湖心共 8 個水樣點的表層水樣(圖 2-1)。本研究以湖心表水代表湖水的整體性質。

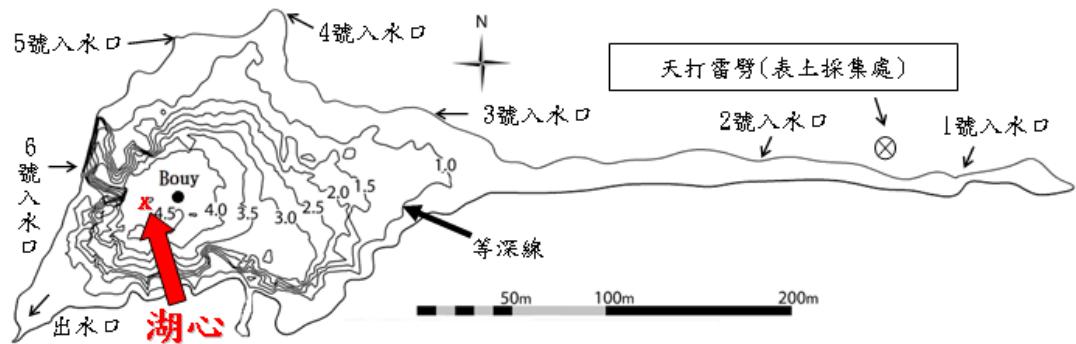


圖 2-1 鴛鴦湖湖水等深線以及本研究之湖水與表土採樣點

### 2.2 樣本處理

## 2.2.1 淋洗實驗

在鴛鴦湖現地與實驗室內對杜鵑、扁柏、蘚的凋落物進行淋洗實驗，每月(約30天)收集一次淋洗液，在2010/3~9期間連續收集6次。由湖區步道旁所採集之植物凋落物，帶回實驗室置於70°C烘箱烘數天使其乾燥後，將各植物凋落物分別混合均勻、秤重，分裝入淋洗瓶中。將淋洗裝置分別設置在野外(100線林道15K、鴛鴦湖工作站後方之平坦空曠、無遮蔽處，以下稱「野外組」)及實驗室內(15~20°C、相對濕度85%之生長箱，以下稱「室內組」)進行淋洗實驗，分別收集其受雨水(野外組)及去離子水(室內組)淋洗下來的水溶液做分析。室內組生長箱每日光照14小時，全暗10小時；溫度調控：日照12小時為20°C，全暗8小時為15°C，日照與全暗之間各以2小時的梯度在20°C與15°C之間做轉換。

### 2.2.1.1 淋洗裝置之設計(圖2-2)

(1)



(2)

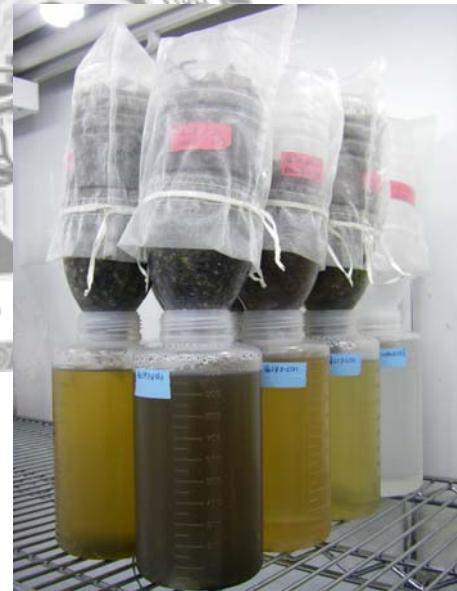


圖 2-2 野外及室內組的淋洗裝置

(1)野外組；(2)室內組

**野外組：**將1L之不透明聚丙烯(PP)瓶從底部割開一直徑為6.3cm之水平圓形開口，當作接受淋洗之固定面積；去除瓶蓋，以紗網及海綿塞塞之。以6L之聚乙二醇對苯二甲酸酯(PET)瓶當作收集瓶，也去除其瓶蓋後，將淋洗瓶倒置於其上(瓶蓋口相對)，再以膠帶固定淋洗瓶與收集桶。

**室內組：**淋洗瓶之做法同野外組，收集瓶換成1L之塑膠廣口瓶，直接將淋洗瓶

倒置於收集瓶上。

### 2.2.1.2 淋洗瓶中之植體量(乾重)

考量各植物之採集量及淋洗瓶的大小，設定杜鵑、扁柏組為每瓶 100 g，蘚組為每瓶 70 g。

### 2.2.1.3 淋洗設置數量及收集之時距

杜鵑、扁柏、蘚各設 2 瓶，加上對照組(空白淋洗)2 瓶，共 8 瓶為一大組；共設二大組，分別設置在野外及實驗室同時進行淋洗。約每 30 天收集一次(將原收集瓶帶回，再換上新的收集瓶續收淋洗液)，在 2010/3~9 期間連續收集 6 次淋洗液。

### 2.2.1.4 接收淋洗之方式

野外組：雨水直接沖淋。以鴛鴦湖 15 K 工作站旁之雨量筒記錄之雨量資料來比對每次接收之淋洗量。

室內組：使用去離子水，以洗滌瓶由淋洗裝置之頂部圓形開口處均勻噴灑，每隔一天淋洗 70 mL，每月淋洗 1050 mL，換算截面積為每月淋洗 337 mm 的水量。

### 2.2.1.5 蘚之短期淋洗

欲檢視蘚在淋洗初期所產生的 DOC 性質的短期室內淋洗實驗。在室內生長箱設置蘚之淋洗瓶 2 瓶(每瓶裝 100 g 乾燥之蘚)及對照組 1 瓶(空白淋洗)，每隔一天以去離子水淋洗 70 mL，每 6 天收集一次，連續收集 6 次，共淋洗 36 天。

## 2.2.2 各水樣之處理

### 2.2.2.1 過濾

各淋洗液及湖水水樣帶回實驗室後，隨即使用真空抽氣過濾裝置，以孔徑 0.45  $\mu\text{m}$  之醋酸纖維濾片濾除懸浮物質。過濾後之水樣於 24 小時內測量 pH 值以及在紫外光—可見光範圍之吸光值。

### 2.2.2.2 萃取腐植物質(humic substance, HS)

用國際腐植物質協會(International Humic Substance Society, IHSS)所建議的

樹脂萃取法(Thurman and Malcolm, 1981)：調整使水樣之 pH = 2、通過 XAD-8 樹脂後，以酸鹼法萃取分離 HS 為黃腐酸(FA)及腐植酸(HA)，並且分別去除其鹽類及使其之氫離子飽合。詳細步驟如下：

1) 以  $0.45 \mu\text{m}$  孔徑大小的濾紙濾除水樣懸浮物質。

2) 樣品加入適量的 HCl 酸化至 pH = 2。

3) 腐植物質的吸附：

將水樣倒入裝填有體積約 500 mL 之 Supelite<sup>TM</sup> DAX-8 樹脂的玻璃管柱，並定此樹脂裝填的體積為 1 BV (bed volume)，以利衡量後續洗提液的體積及水樣流速。水樣流經管柱的速度約控制在 15 BV/hr。若流出管柱的水樣仍帶有明顯的黃色，則再將水樣導入管柱，再次吸附其中的腐植物質。

4) 收集由管柱中流出的水樣，取 500 mL 避光保存於 4°C，此部分樣品僅剩親水性有機物 (非腐植物質之溶解性有機物)。

5) 鹼沖提：

以蠕動幫浦將 2 BV 之 0.1 M NaOH 以反向 1.5 BV/ hr 的流速將樹脂中的腐植物質沖提出來。腐植物質較多時，則延長萃取時間和沖提次數。腐植物質收集後避光保存於 4°C。

6) 清洗樹脂：

將管柱內之樹脂倒入 1 L 燒杯，先以甲醇溶液浸泡 24 小時後，以去離子水洗淨；接著以 0.1 M NaOH 浸泡 24 小時，以去離子水洗淨後再重新裝填於玻璃管柱。在下一個樣品使用前，管柱的樹脂需再經過 3 次 0.1 M NaOH (2 BV) → 去離子水(2 BV) → 0.1 M HCl (2 BV) 的沖洗，以確保樹脂中多餘有機碳被沖洗乾淨，且樹脂達到合適的 pH 值(酸性)，可再度進行吸附工作。

7) FA 與 HA 的分離：

腐植物質溶液加入濃 HCl 酸化至 pH = 1，於 4°C 下避光靜置 24 小時令其沉澱，隨後以轉速 17860 g 離心 15 分鐘，倒出上清液並收集；再次加入去離子水後離心，再收集上清液；重複加入去離子水及離心的步驟，即可分離 FA 及 HA：前

者為上清液中溶解之有機物，後者則為沉澱物的部分。

8) 腐植物質的去鹽：

將 FA 溶液及 HA 沉澱物分別以 NaOH 調整使  $\text{pH} = 2$  (後者會再次溶解)，再將水樣分別倒入裝填有體積約 300 mL 及 100 mL 之 DAX-8 樹脂的玻璃管柱再次進行吸附後，導入去離子水 (2 BV)，將多餘的 NaCl 沖洗出來。接著加入 2 BV 之 0.1 M NaOH，以反向沖洗出腐植物質，並分別收集之。

9) 氢離子飽合：

將去鹽後的 FA 及 HA 溶液分別倒入、通過裝填有體積約 200 mL 之陽離子交換樹脂(Amberlite 252 Na)，使 FA 及 HA 所帶的鈉離子與樹脂上的氫離子交換，讓此二種酸達氫離子飽合。

10) 濃縮、乾燥及保存：

分別收集通過陽離子交換樹脂的 FA 及 HA 溶液。以真空旋轉濃縮器分別濃縮至剩下約 10 mL 後，再將濃縮液冷凍乾燥成粉末，收集並避光保存於 4°C。



## 2.2.3 表土之處理

### 2.2.3.1 過篩

採回的表土有機質層於室內陰乾後，去除殘留之植體並以 2.0 mm 之篩子篩土，保存能過篩之小顆粒細土。

### 2.2.3.2 萃取 HS

用 IHSS 建議的土壤 HS 萃取法：先加酸使土壤行脫鈣作用後，加入鹼萃取出腐植物質。再酸化使 FA 及 HA 分離，並且去除鹽類及使酸之氫離子飽合。詳細步驟如下：

1) 土之脫鈣：

取 10 g 之過篩細土，加到 100 mL 0.1 M HCl 之中，以磁攪拌子攪拌一小時後，以轉速 17860 g 離心 10 分鐘。離心後之上清液保留，標記為 FA (a)；沉澱物則先以 NaOH 調整使  $\text{pH} = 7$ 。

## 2) 鹼萃取腐植物質：

加 100 mL 0.1 M NaOH 到沉澱物中，以磁攪拌子攪拌四小時後，靜置過夜。以轉速 17860 g 離心 10 分鐘後，保留萃取出含腐植物質的上清液，捨棄沉澱物。

3) 步驟同 2.2.2. 之 7)~10)。 7)所得之上清液標記為 FA (b)，與 1)之 FA (a)一起做步驟 8)~10)。

## 2.3 DOC 分析

### 2.3.1 DOC 性質量化

#### 2.3.1.1 酸鹼度 (pH 值)

以 pH 量測計 (Aqua Lytic pH 18, Germany) 測定每個月所採之各淋洗液及湖水水樣原水之酸鹼度。在進行測量前先以標準液 pH = 7.0, 4.0 此 2 點做校正。

#### 2.3.1.2 吸光值

以分光光度計 DU-800 (Beckman, Palo Alto, USA) 測量每個月所採之水樣在波長 254 nm 及 440 nm 處之吸光值 ( $E_{254}$  及  $E_{440}$ )。水樣裝在光徑為 1 cm 之石英分光管中，先以去離子水作為空白溶液做歸零校正，再量測經 0.45  $\mu\text{m}$  孔徑大小之濾膜過濾後，各淋洗液及湖水水樣在此 2 個波長之吸光值。

各水樣的水色以  $A_{440}$  值 ( $\text{m}^{-1}$ ) 表示 (Cuthbert and Giorgio, 1992)。其定義為：水樣在波長 440 nm 處之吸光係數 (absorption coefficient)。計算方式：

$$A_{440} = 2.303 * D / r$$

其中  $D$  為水樣在波長 440 nm 處的吸光值 ( $E_{440}$ )； $r$  為分光管之光徑 ( $\text{m}$ )。

各水樣的苯環化程度以 SUVA<sub>254</sub> 值 (specific ultraviolet absorbance at 254 nm,  $\text{m}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{L}$ ) 表示 (Sachse et al., 2001)。其定義為：水樣的 DOC 中，苯環化合物所占的比例。計算方式：

$$\text{SUVA}_{254} = \text{SAC}_{254} / \text{DOC}$$

其中  $\text{SAC}_{254}$  (specific absorption coefficient at 254 nm,  $\text{m}^{-1}$ ) 為水樣在波長 254 nm 處

之吸光系數；DOC 為水樣的 DOC 濃度( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )。

### 2.3.1.3 DOC 濃度

溶解性總有機碳的檢測以濕式氧化法 TOC 分析儀(Total carbon analyzer, O · I · Analytical Model 1010)來進行測定。水樣導入可加熱至 95~100°C 的消化反應器中，加入濃度為 100 g/L 的過硫酸鈉( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$ )水溶液為氧化劑，以及 5 %的磷酸( $\text{H}_3\text{PO}_4$ )為酸化劑，並搭配非擴散性紅外線(NDIR)偵測器測定水樣在酸化及氧化過程中無機碳(IC)及有機碳(OC)分別產生的  $\text{CO}_2$  濃度，以反推 TIC 及 TOC 的個別濃度。以磷苯二甲酸氫鉀 (potassium bipthalate, KHP)為 TOC 標準品，配製檢量線，用以換算得到水樣中溶解性有機碳的濃度(NIEA W532.51C, 2000)。

### 2.3.2 DOC 性質探討

本研究比較植物淋洗液、表土、湖水(含翠峰湖之湖心表水)、培養的藻液之 DOC、HA 對照品之性質。實驗使用的 HA 對照品： HA、HA 之鈉鹽(humic acid (HA), No. 53680; humic acid sodium salt (HA sodium salt), No. H16752, Sigma Aldrich, USA)，以比較其 EEMs 光譜圖中螢光發射峰之位置、峰值強度與本研究所萃取的 HA 之異同。此 HA 對照品的來源為富含植物腐化分解物之礦土(如煤礦、泥炭、腐植土等)，其分子量約在 2000~500000 Da 之間，主要含有多醣類、蛋白質、小分子之酚化物、被螯合的金屬離子等化合物。其只用去離子水來進行沖洗純化。

#### 2.3.2.1 高效液相層析(high performance liquid chromatography, HPLC)：分析分子量

分析型高效液相層析儀由高壓幫浦(L-7100, Hitachi)及 UV-VIS 偵測器 (VUV-24, JMST Systems, USA)各一台，以及管柱 GF-250 (Zorbax, Agilent, USA)， $4 \mu\text{m}$ ,  $4.6 * 250 \text{ mm}$  所組成。流洗液為 90 %的 0.05 M 磷酸緩衝鹽( $\text{pH} = 8.0$ )加上 10 %的乙腈(acetonitrile, ACN)，以等梯度(isocratic)流洗。偵測器偵測 254 nm 處的吸光值。以聚苯乙烯磺酸鈉鹽 (polystyrene sulfonic sodium salt)作為分子量之

標準品(Alberts et al., 2002)，施打分子量：4300、6800、17000、32000、77000、150000、280000 Da 等共 7 個標準品做分子量標準曲線，作為計算各待測物分子量之參照。

淋洗液、湖水原水以及經萃取的 FA、HA (粉末都先溶於去離子水中)都先經孔徑 0.45  $\mu\text{m}$  之濾膜過濾後才做進樣分析。

### 2.3.2.2 螢光激發—發射矩陣光譜(excitation-emission matrices, EEMs)：分析螢光發色團

本研究之淋洗液、湖水原水以及萃取的 FA、HA (粉末都先溶於去離子水中) 經 0.45  $\mu\text{m}$  孔徑大小之濾紙過濾後，取濾液以螢光光譜分析儀(FP-6500 Fluorescence spectrophotometer, Jasco)測量水樣 DOC 的螢光激發—發射矩陣光譜 (excitation-emission matrices, EEMs)。由 EEMs 可得到樣品中所含螢光發色團的螢光發射強度表現，並由最高峰的位置推估 DOC 的主要發色團，不同位置之螢光發射峰可代表不同性質的 DOC。根據 Coble (1996)可將最高峰位置分成五大類型，再根據 Sierra et al. (2005)、Yamashita and Tanoue (2003)的研究補充 FA、HA、phenylalanine 之 EEMs 峰值參考位置，如表 2-1。實驗設定掃描速度為 1500 nm/min，測量激發光波長 220–500 nm、發射波長 250–600 nm 之間的螢光發射

表 2-1 DOC 於 EEMs 圖譜中出現發射峰值( $\text{Em}_{\text{max}}$ )時之 Ex 與 Em 的位置(nm)

Peak	Ex (nm)	Em (nm)	Classification	References
B	275	310	tyrosine-like	Coble (1996)
T	275	340	tryptophan-like	Coble (1996)
A	260	380-460	humic-like	Coble (1996)
M	312	380-420	marine(or microbial) humic-like	Coble (1996)
C	350	420-480	humic-like	Coble (1996)
FA-like	260	460	fulvic acid-like	Sierra et al. (2005)
FA-like	310	440	fulvic acid-like	Sierra et al. (2005)
HA-like	265	525	humic acid-like	Sierra et al. (2005)
HA-like	360	520	humic acid-like	Sierra et al. (2005)
Phenyl-alanine	255-265	284-285		Yamashita and Tanoue (2003)

強度(Aoki, 2008)。

EEMs 之圖譜為 3D 的影像，軟體用 2 維的等高線圖來呈現。X 軸為螢光發射(emission，記為 Em)之波長，Y 軸為螢光激發(excitation，記為 Ex)之波長，圖譜記錄各螢光激發及發射波長位置(Ex/Em)時所測得之螢光發射強度，以等高線的方式連接並疊加，不同顏色的線段表示不同的螢光發射強度。由圖譜中螢光發射值最高的線段位置來判斷 DOC 的主要螢光發色團。圖譜上的兩條螢光發射帶為水之拉曼光譜，僅對 B 峰的螢光值有些許影響，以去離子水(Milli-Q water)當作空白校正液，校正水的拉曼光譜背景值(Maie et al., 2005)，計算時圖譜各位置扣除水之螢光發射值即為溶質之螢光發射值。DOC 的 EEMs 圖譜分析僅討論此二螢光發射帶之間的螢光發射峰。



## 2.4 DOC 對藻類生長之影響

### 2.4.1 分離純化藻類

以  $10 \mu\text{m}$  網目的浮游網撈取鴛鴦湖浮游藻，收集於採樣瓶後，帶回實驗室進行藻株純化與培養。共分離出一種藍綠藻：*Oscillatoria limnetica* Lemmermann、一種綠藻：*Tetradesmus wisconsinensis* G.M. Smith，以本實驗室自行研發的 NC 培養液(表 2-2)持續培養、保存。鴛鴦湖湖水 pH 值長期在 5~6 之間，故設定培養液 pH 值為 5.5。本論文亦使用本實驗室先前從鴛鴦湖中純化之綠藻藻株 *Chlorella vulgaris* Beji.(品系# 3001)，一起進行培養及測試比較(圖 2-3)。

### 2.4.2 不同 DOC 濃度之培養液

本研究用來對藻類做生長測試之 DOC，係來自鴛鴦湖之湖心表水。由於每月採集之湖水，其 DOC 之性質與量可能不盡相同，故採用 2010 年 1 月所大量採集之同一批湖心表水並予以混勻、均質化，以確保培養液中 DOC 的性質相同。

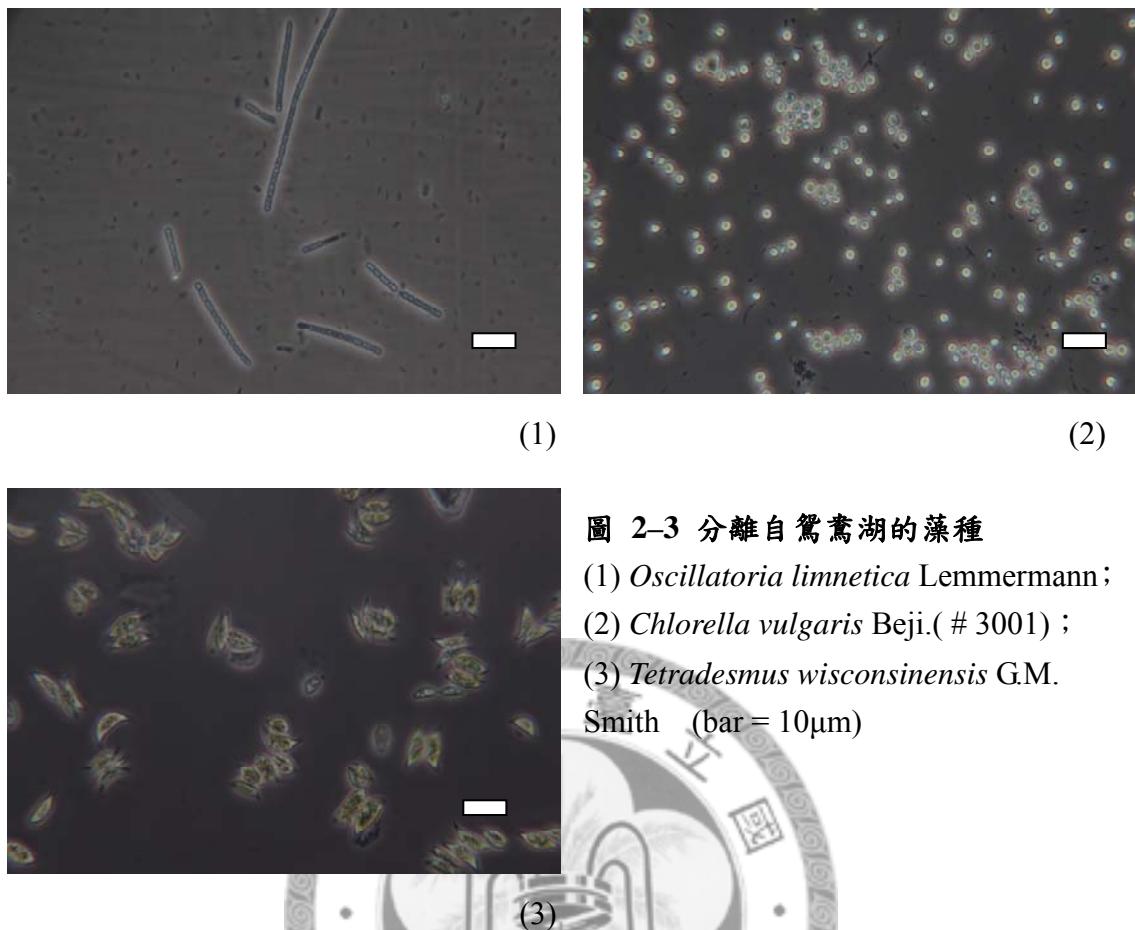


圖 2-3 分離自鴛鴦湖的藻種

- (1) *Oscillatoria limnetica* Lemmermann;  
 (2) *Chlorella vulgaris* Beji. (# 3001);  
 (3) *Tetradesmus wisconsinensis* G.M. Smith (bar = 10μm)

表 2-2 NC 無機培養液

藥品	濃度 (M)
$\text{KNO}_3$	$1.0 \times 10^{-2}$
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	$8.0 \times 10^{-4}$
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	$2.0 \times 10^{-5}$
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	$1.0 \times 10^{-4}$
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	$1.0 \times 10^{-4}$
微量元素：	
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	$1.0 \times 10^{-6}$
$\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	$1.0 \times 10^{-6}$
$\text{H}_3\text{BO}_4$	$1.0 \times 10^{-6}$
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	$1.0 \times 10^{-6}$
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	$1.0 \times 10^{-7}$
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	$1.0 \times 10^{-8}$
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O-C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_8 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Fe-EDTA)	$1.3 \times 10^{-5}$

將上述全部藥品配妥混合(Fe-EDTA 除外)，調整 pH 值至 5.5。滅菌後，於使用前

再添加已滅菌的 Fe-EDTA。

由長期調查之鴛鴦湖湖水資料，顯示其湖心表水的 DOC 濃度，除了少數之極端值外，皆在 2~10 ppm 之間。本研究以三種不同 DOC 濃度來測試其對藻類生長速率之影響：

1) **控制組(0 ppm，簡記為 0 D 組)**：無 DOC 組，使用本實驗室自行研發的 NC 培養液(表 2-2)。

2) **4 DOC 組(4 ppm，簡記為 4 D 組)**：以 2010 年 1 月所採之鴛鴦湖湖心表水，用 0.45  $\mu\text{m}$  孔徑之濾膜過濾後(測得其 DOC 濃度為 4 ppm)，加入與控制組相同配方的培養液。加入之營養鹽溶液相對於湖心表水之水量而言很少(< 3 %)，對其 DOC 濃度之影響可略。

3) **10 DOC 組(10 ppm，簡記為 10 D 組)**：取同 4 D 組之湖心表水(過濾至 0.45  $\mu\text{m}$ )，以真空旋轉濃縮器濃縮後(測得濃縮液之 DOC 濃度為 10 ppm)，再加入與控制組相同配方的培養液。加入之營養鹽溶液相對於湖心表水之水量而言很少，對其 DOC 濃度之影響可略。

3 組含不同濃度 DOC 的培養液皆調整使其  $\text{pH} = 5.5$ ，配製完再以含 0.22  $\mu\text{m}$  孔徑無菌濾膜之過濾設備，在無菌操作台做過濾。

#### 2.4.3 藻類培養條件

以可通氣之玻璃培養管，加入稀釋後之藻液及含不同濃度之DOC培養液共 100 mL，開始照光、通氣培養。光照強度及週期：光強度為  $100 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ，測試期間採全光照。培養溫度： $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 。通氣量：300 mL air/min。測試培養時間：開始培養的當天起算為第 0 天，每 24 小時測一次葉綠素 *a* 濃度，連續培養至第 3 天(第 72 小時)，共測量 4 次葉綠素 *a* 濃度。初始藻液濃度：以葉綠素 *a* 為測量依據，各藻種測試時的初始濃度皆調整到約 20 ppb。每種藻在每種初始 DOC 濃度之培養液均做三管重複，即一次同一種藻有  $3 * 3 = 9$  支培養管、3 種藻有 27 支培養管為一次試驗，進行三次試驗重複。

#### 2.4.4 葉綠素 a 濃度測定法(江, 2002; US EPA, 1992)

- 1) 將藻液吸取至 10mL 體積的玻璃離心管，在室溫下以轉速 2000 g 離心 10 分鐘後，倒去上清液。
- 2) 加入甲醇並以彈珠覆蓋於離心管之上，加熱、避光萃取葉綠素(60°C, 30 min)。
- 3) 將試管插入碎冰中稍加冷卻後，同樣在室溫下再離心一次(2000 g × 5 min)。
- 4) 取出上清液，使用實驗室之螢光光度計 10-AU (Turner Designs, Sunnyvale, USA) 量測萃取液之葉綠素 a 濃度。

#### 2.4.5 生長速率之計算

各測試藻種的族群生長速率(rate of population growth,  $\mu$ )依下列公式計算：

$$\mu = \ln (N_t \cdot N_0^{-1}) \cdot t^{-1}$$

生長速率的單位為  $d^{-1}$  (培養天數的倒數)。其中  $t$  為培養時間。 $N_0$  為培養初始時的藻細胞數量(本實驗以葉綠素 a 為指標)； $N_t$  為培養  $t$  時間後的藻細胞數量(本實驗以葉綠素 a 為指標)。

#### 2.4.6 培養中之藻液之 DOC 性質變化

##### 2.4.6.1 高效液相層析(HPLC)

方法同 2.3.2.1，測量每日所採之藻液之分子量變化。藻液也先經 0.45  $\mu\text{m}$  孔徑之濾膜過濾後才做進樣分析。

##### 2.4.6.2 螢光激發—發射矩陣光譜(EEMs)

方法同 2.3.2.2，測量每日所採之藻液，其 DOC 螢光發色團之激發/發射(Excitation /Emission)波長位置及強度之變化。藻液也先經 0.45  $\mu\text{m}$  孔徑之濾膜過濾後才做進樣分析。

### 2.5 統計分析

- 1) 變量的相關性：本研究檢測樣本變量間的  $R^2$  值來檢視其相關程度。

2) 樣本的差異性：本研究使用 t-test 及 ANOVA 來檢測在同一變量下，不同的樣本間是否有顯著差異。研究取 95 %的信賴區間，當樣本分析其落在信賴區間內的機率  $p < 0.05$  時，否定虛無假說(null hypothesis,  $H_0$ )，亦即樣本之間有顯著差異；反之，若樣本分析其落在信賴區間內的機率  $p \geq 0.05$  時，接受虛無假說，亦即樣本之間沒有顯著差異。



### 三、 結果

#### 3.1 pH 值變化

##### 3.1.1 淋洗液

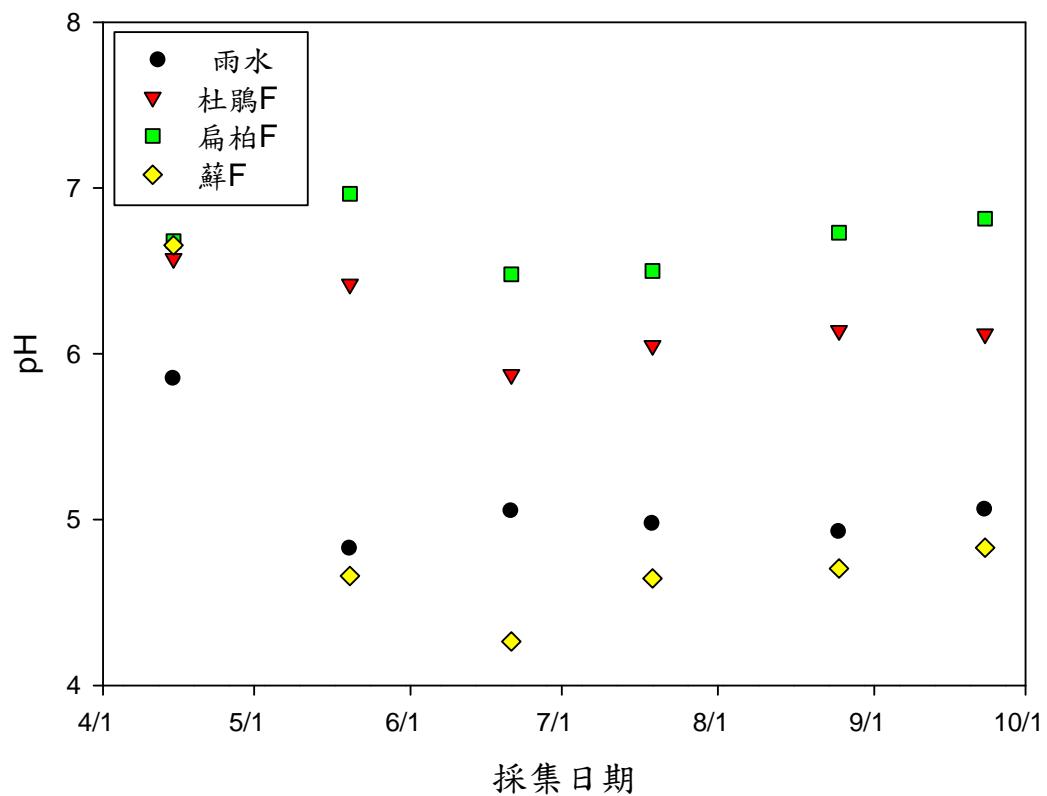


圖 3-1 在 2010/4~9(淋洗第 1~6 個月)期間，每月採集之野外淋洗液的 pH 值變化  
F：鴛鴦湖現地，雨水淋洗。雨水為對照組。

在 2010/4~9 期間，野外組淋洗液之 pH 值的變化範圍分別為：雨水(4.83~5.85)、杜鵑(5.88~6.58)、扁柏(6.48~6.97)、蘚(4.27~6.66) (圖 3-1)。除了第 1 個月，三種植物淋洗液之 pH 值都在 6.6 左右外，可明顯看出在第 2~6 月，每個月的 pH 值大小皆為：扁柏 > 杜鵑 > 雨 > 蘚。

在 2010/4~2011/3 期間，室內組淋洗液之 pH 平均值的變化範圍分別為：去離子水(5.81~6.93)、杜鵑(4.57~5.84)、扁柏(5.70~7.78)、蘚(5.10~6.14) (圖 3-2)。除了第 1 個月，三種植物淋洗液之 pH 值都在 6.0 左右外，去離子水及扁柏淋洗

液之 pH 值顯著高於杜鵑及蘚，且在第 1~6 個月時，去離子水與扁柏、杜鵑與蘚之 pH 值兩兩相近。在第 7~12 個月時，pH 值大小：扁柏 ≈ 去離子水 > 蘚 > 杜鵑。

比較淋洗第 1~6 個月的野外與室內之淋洗液(圖 3-1、3-2)：對照組之 pH 值，雨水顯著低於去離子水，平均各為 5.1 及 6.3 (t-test,  $p < 0.001$ )；扁柏淋洗液之 pH 值，野外組顯著高於室內組(t-test,  $p = 0.002$ )，平均各為 6.7 及 6.1，且在野外及室內淋洗組中皆為最高；杜鵑淋洗液之 pH 值，野外組顯著高於室內組(t-test,  $p < 0.001$ )，平均各為 6.2 及 5.4；蘚淋洗液之 pH 值，野外組略低於室內組(t-test 無顯著差異)，平均各為 5.6 及 5.0。三種植物淋洗液中，只有蘚淋洗液之 pH 值為野外組低於室內組。

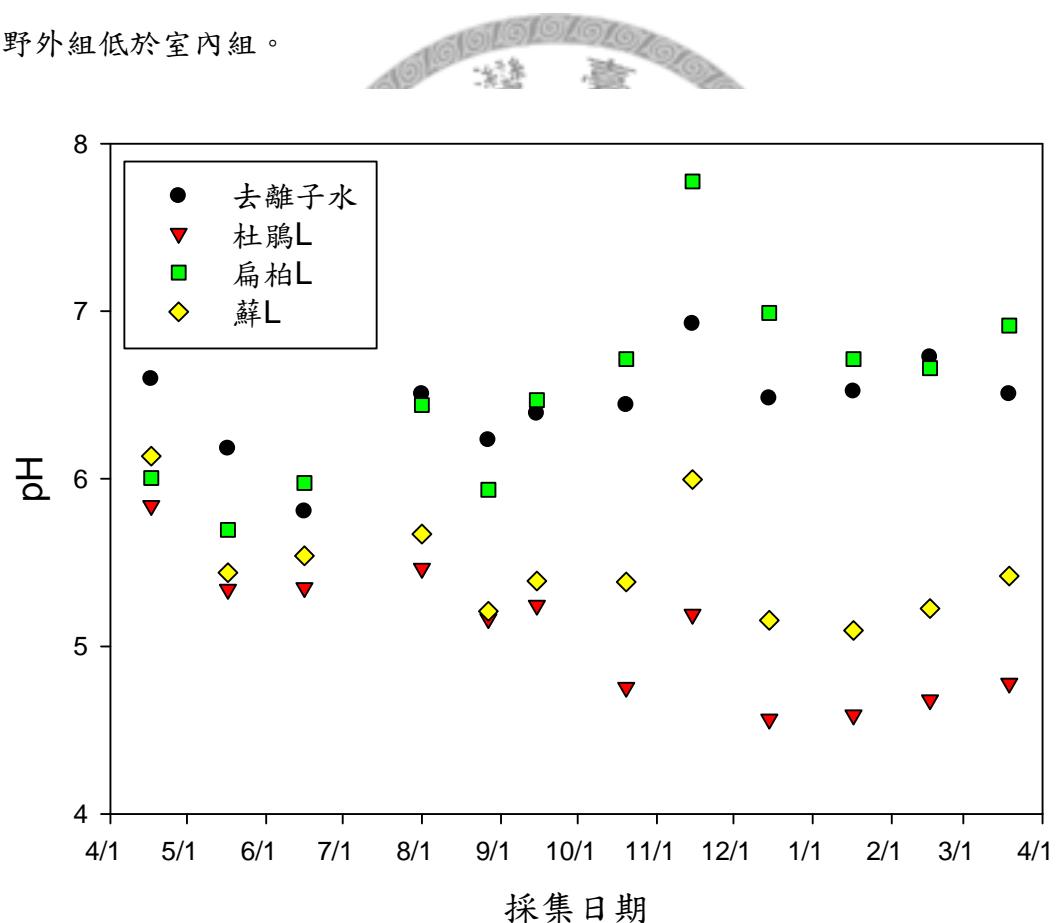


圖 3-2 在 2010/4~2011/3(淋洗第 1~12 個月)期間，每月採集之室內淋洗液的 pH 值變化

L：實驗室內，以去離子水淋洗。去離子水為對照組。

### 3.1.2 湖水

採集期間累積雨量的資料，係以 100 線林道 17 km 湖區步道入口旁之自動量測雨量計、15 k 工工作站之雨量計的資料相互比對。第 1、3 號入水口在雨量較少時經常乾涸而採不到水，故多次未有 pH 之測值記錄(表 3-1)。

本研究以湖心表水代表鴛鴦湖湖水之整體性質。在 2009/7/19~2010/9/23 期間，所有湖水水樣的 pH 值在 5~6.5 之間；雨水的 pH ≈ 5.7，為弱酸性。1 號及 5 號入水口的 pH 值較低，pH 值常低於 5，但湖心表水仍大多維持在 pH = 6.1 左右，只有在 2009/10/20 測得 pH = 4.64、2010/5/20 測得 pH = 7.20。在 2009/7~2010/9 期間，雨量與湖心表水的 pH 值呈現中高度負相關( $R^2 = 0.716$ )。當湖區降雨量較多時，湖水 pH 值較低。

表 3-1 在 2009/7/19~2010/9/23 期間，鴛鴦湖水樣的 pH 值與雨水 pH 值、雨量之對照表

水樣點/ 採樣日期	1 入	2 入	3 入	4 入	5 入	6 入	湖心 表水	出水口	雨水 pH 值	期間累積 雨量(mm)
2009/7/19	-	6.54	-	5.22	4.64	6.19	6.32	6.40	-	142.5
2009/8/20	4.74	5.94	5.62	6.09	5.15	6.1	6.18	6.20	-	555.5
2009/9/23	5.24	5.82	5.41	6.02	5.87	6.00	6.49	6.27	-	72.5
2009/10/20	5.10	5.61	5.45	5.75	5.24	5.76	<b>4.64</b>	5.77	-	<b>1114.5</b>
2009/12/2	5.31	6.38	6.15	6.18	5.66	6.82	5.95	6.08	-	321.0
2010/1/25	4.55	5.64	6.50	5.56	4.57	6.16	5.70	5.49	-	280.5
2010/3/18	-	6.04	-	5.31	4.29	6.54	6.33	6.31	5.42	248.0
2010/5/20	-	6.79	-	6.49	5.35	6.97	<b>7.20</b>	6.97	5.13	<b>84.5</b>
2010/6/21	-	6.60	-	6.23	5.13	6.82	6.52	6.55	5.40	262.5
2010/7/19	5.08	6.28	6.45	6.17	4.95	6.78	6.26	6.24	6.33	226.0
2010/8/25	5.27	6.36	6.60	6.44	4.97	6.80	6.48	5.67	5.54	301.0
2010/9/23	5.04	5.65	5.22	6.06	4.91	6.68	5.64	5.34	6.23	407.0
pH 值平均	5.04	6.14	5.93	5.96	5.06	6.47	6.14	6.11	5.68	

1 入至 6 入依序分別為本研究所採集之第 1 至第 6 號入水口表水。2009/11、2010/2、4 沒有採樣。

## 3.2 吸光值變化

### 3.2.1 水色( $A_{440}$ )

#### 3.2.1.1 淋洗液

$A_{440}$  值是測量各水體之水色時所常用的量化指標：此值愈高，代表水體愈能吸收可見光而呈現較深褐色之水色。本實驗由於初始設置之三種植體乾重不同(杜鵑、扁柏為 100 g，蘚為 80 g)而可能會影響淋洗液之濃度，故換算成每種植物每克乾燥植體所淋出的  $A_{440}$  值來做比較(圖 3-3)。

比較第 1~6 個月野外與室內淋洗液的  $A_{440}$  值：三種植物皆只在第 1 個月較高，在第 2~6 個月則偏低且只有小幅度之變化。野外淋洗液中，蘚每月的  $A_{440}$  值皆為最高，第 1 個月為  $5.1 \text{ m}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ ，第 2~6 個月則明顯降低至  $0.21\text{--}0.74 \text{ m}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$  之間；室內淋洗液中，杜鵑在第 1~4 個月最高( $0.44\text{--}1.72 \text{ m}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ )，第 5、6 個月則是蘚最高( $0.41\text{--}0.44 \text{ m}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ )。然而，在第 2~6 個月時，無論是每月野外降雨量的增加或室內固定的淋洗量，都對淋洗液的  $A_{440}$  值影響不大。

室內的杜鵑及蘚淋洗液，其  $A_{440}$  值分別在第 7~11 個月及第 7~10 個月仍逐漸增加；扁柏自第 6 個月後淋洗液的  $A_{440}$  值都很低。此顯示在室內定量淋洗約 12 個月後，杜鵑及蘚之凋落物仍淋洗出水色較深( $A_{440}$  值較高)的淋洗液。

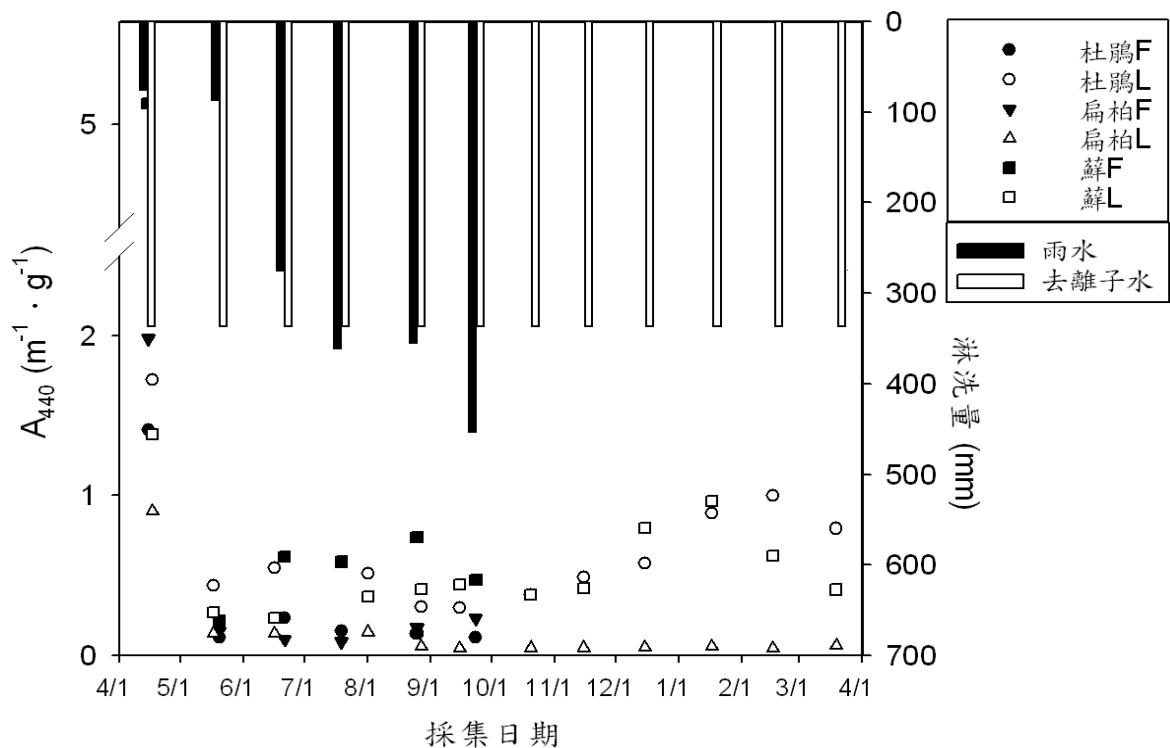


圖 3-3 在 2010/4~2011/3 (淋洗第 1~12 個月)期間，每克乾燥植體所淋洗出的水色( $A_{440}$ )變化

F 為野外組，以黑色實心記號表示、雨水為其對照組；L 為室內組，以黑框空心記號表示、去離子水為其對照組。上方長條圖為每月之雨量(野外)及去離子水淋洗量(室內)。

### 3.2.1.2 湖水

在 2009/7/19~2010/9/23 期間，湖心表水及出水口的  $A_{440}$  值都高於 6 個入水口；湖心表水之  $A_{440}$  值約在  $1.61\sim6.98\text{ m}^{-1}$  之間(圖 3-4)。湖心表水之  $A_{440}$  值與雨量呈現中低度正相關( $R^2 = 0.44$ )，但若以採集前一週之雨量與湖心表水之  $A_{440}$  值做比較(圖 3-4、表 3-2)，可發現此二變量的相關係數變高( $R^2 = 0.650$ ) (圖 3-5)。

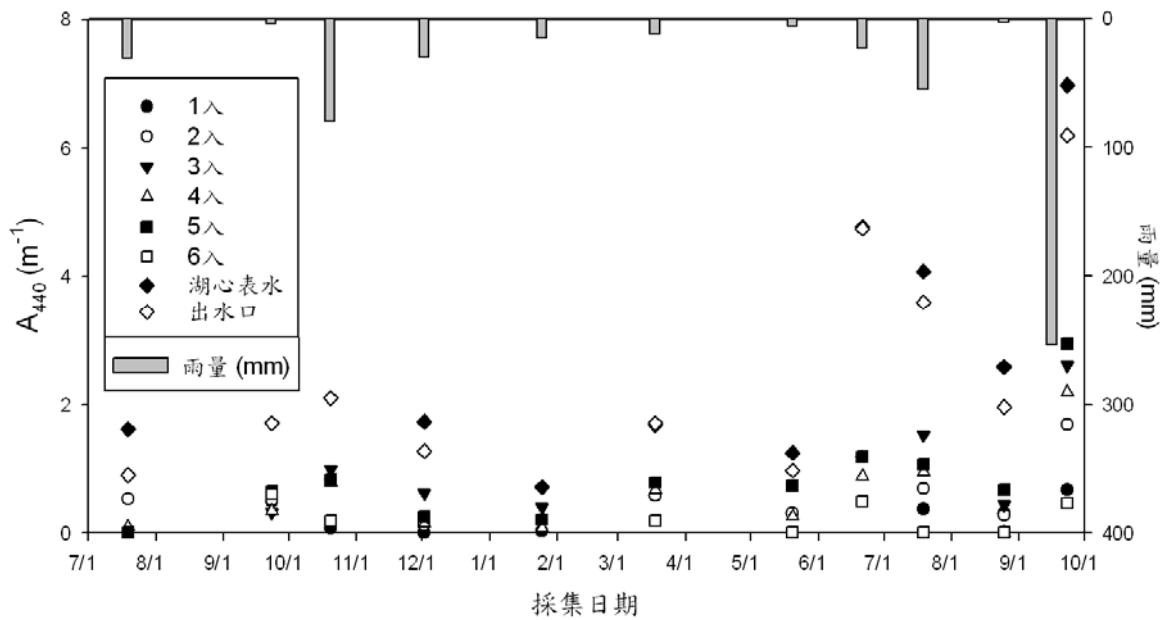


圖 3-4 在 2009/7/19~2010/9/23 期間，鴛鴦湖水樣的水色變化( $A_{440}$ )與採集前一週雨量之對照圖

上方長條圖為每月採集前一週的累積雨量。

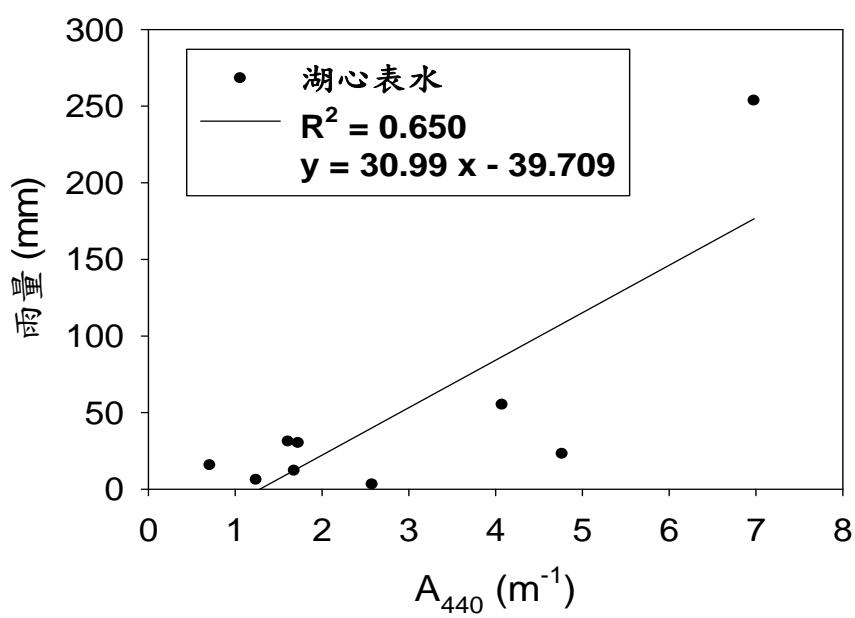


圖 3-5 在 2009/7/19~2010/9/23 期間，鴛鴦湖湖心表水的水色變化( $A_{440}$ )與採集前一週雨量之關係圖

表 3-2 在 2009/7/19~2010/9/23 期間，鴛鴦湖水樣之水色變化( $A_{440}$ )與採集前一週雨量之對照表

水樣點/ 採樣日期	1 入	2 入	3 入	4 入	5 入	6 入	湖心 表水	出水口	採前一週 雨量(mm)
2009/7/19	-	0.53	-	0.09	0.00	-	<b>1.61</b>	0.90	31.0
2009/9/23	0.48	0.51	0.32	0.35	0.64	0.60	-	1.70	4.5
2009/10/20	0.07	0.83	0.99	0.78	0.83	0.18	-	2.10	79.5
2009/12/2	0.00	0.12	0.62	0.14	0.25	-	<b>1.73</b>	1.27	30.0
2010/1/25	0.02	0.21	0.39	0.07	0.21	-	<b>0.71</b>	-	15.5
2010/3/18	-	0.58	-	0.67	0.78	0.18	<b>1.68</b>	1.70	12.0
2010/5/20	-	0.30	-	0.25	0.74	0.00	<b>1.24</b>	0.97	6.0
2010/6/21	-	1.17	-	0.88	1.17	0.48	<b>4.77</b>	4.74	23.0
2010/7/19	0.37	0.69	1.52	0.94	1.06	0.00	<b>4.08</b>	3.59	55.0
2010/8/25	0.30	0.28	0.44	0.00	0.67	0.00	<b>2.58</b>	1.96	3.0
2010/9/23	0.67	1.68	2.60	2.19	2.95	0.46	<b>6.98</b>	6.20	253.5

1 入至 6 入依序分別為本研究所採集之第 1 至第 6 號入水口表水。2009/11、2010/2、4 沒有採樣。

### 3.2.2 苯環化程度( $SUVA_{254}$ )

#### 3.2.2.1 淋洗液

每月所採集之淋洗液，其野外組與室內組所測得  $SUVA_{254}$  值如圖 3-6。與  $A_{440}$  值之變化類似， $SUVA_{254}$  值都只有在第 1 個月收的淋洗液最高，第 2~6 個月則維持在較低且較穩定、只有小幅度波動之值。在第 1~6 個月的淋洗中，除了極少數的樣本外，無論在野外或室內淋洗， $SUVA_{254}$  值都是杜鵑 > 薜 > 扁柏，顯示杜鵑淋洗液所含溶解性有機碳的苯環化程度最高、薜次之、扁柏最低。比較野外組及室內組在第 1~6 個月之淋洗液，除了第 1 個月之淋洗液(杜鵑 22~26、扁柏 8~10、薜 4~9  $L \cdot mg^{-1} \cdot m^{-1}$ )外，其他 5 個月之  $SUVA_{254}$  值較低且同植物隨時間之變化很小。在延長 6 個月之室內淋洗中變化趨勢亦同，但顯示微幅上升：杜鵑  $2.6 \rightarrow 4.0$  、扁柏  $1.1 \rightarrow 1.6$  、薜  $1.9 \rightarrow 3.4 L \cdot mg^{-1} \cdot m^{-1}$ 。

比較三種植物，野外淋洗液第 2~6 個月的  $SUVA_{254}$  值平均：杜鵑 3.00、扁柏 1.62、薜 2.74  $L \cdot mg^{-1} \cdot m^{-1}$ ，杜鵑與薜無顯著差異( $t$ -test,  $p = 0.469$ )但兩者顯著大於扁柏(ANOVA,  $p < 0.001$ )；室內淋洗液第 2~12 個月的  $SUVA_{254}$  值平均：杜鵑

3.62、扁柏 1.36、蘚 2.41  $\text{L} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{m}^{-1}$ ，且三者之間皆有顯著差異(ANOVA,  $p < 0.001$ )，杜鵑淋洗液的苯環化程度最高、蘚其次、扁柏最低。

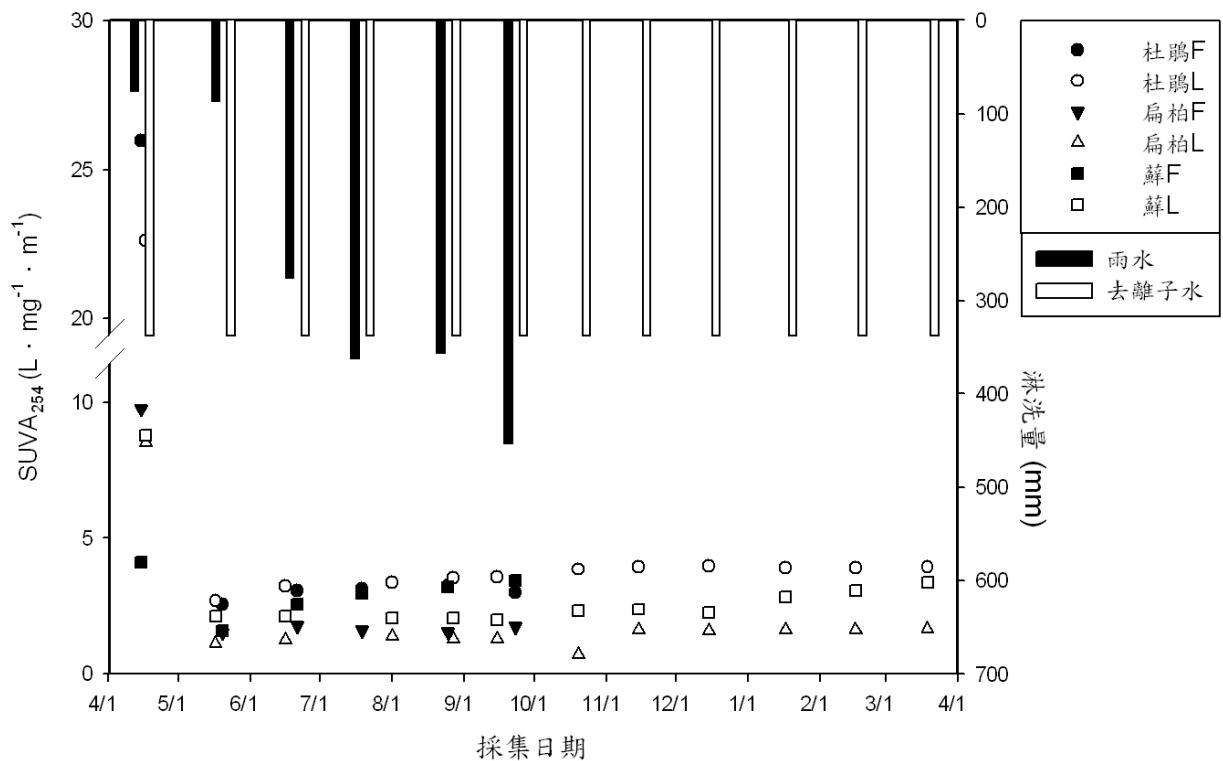


圖 3-6 在 2010/4~2011/3(淋洗第 1~12 個月)期間，野外與室內淋洗液的  $\text{SUVA}_{254}$  變化

上方長條圖為每月之雨量(野外)及去離子水淋洗量(室內)。F：鴛鴦湖現地，雨水淋洗。L：實驗室內，以去離子水淋洗。

### 3.2.2.2 湖水

在 2010/5~9 期間，鴛鴦湖水樣的  $\text{SUVA}_{254}$  值在 0.94~4.43 之間(圖 3-7)。湖心表水的  $\text{SUVA}_{254}$  值變化不大，介於 2.83~4.23  $\text{L} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{m}^{-1}$  之間。湖心表水的  $\text{SUVA}_{254}$  值與雨量僅呈中低度正相關( $R^2 = 0.40$ )。

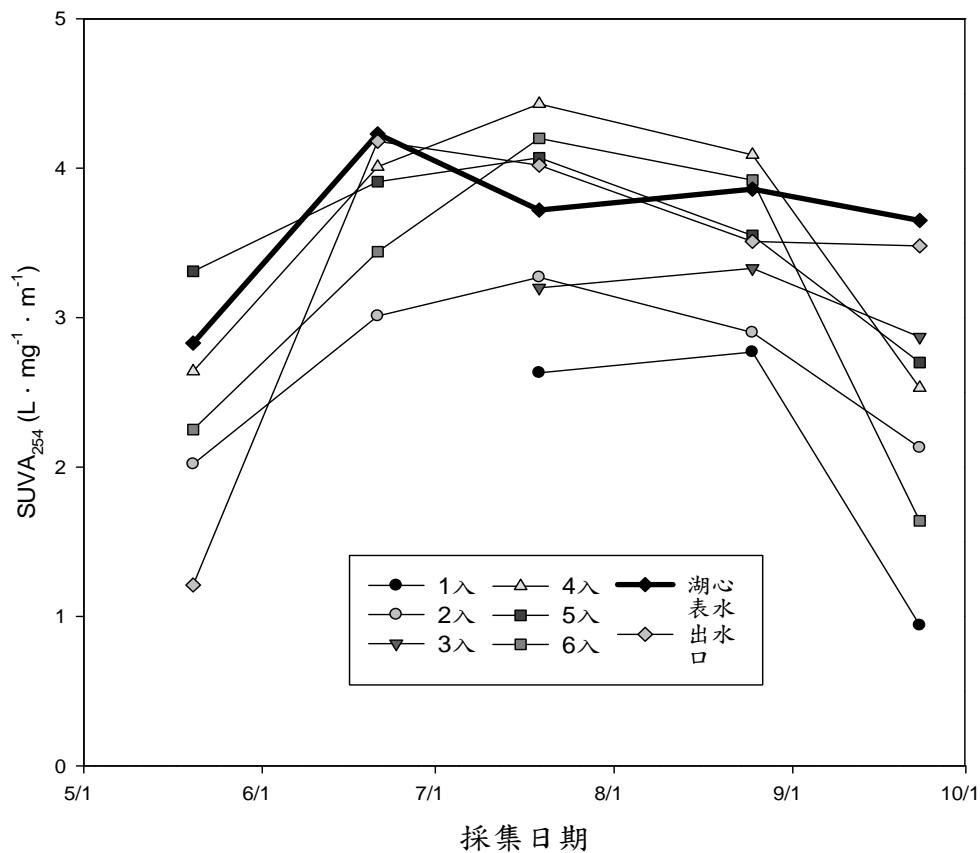


圖 3-7 在 2010/5/20~9/23 期間，鴛鴦湖水樣的  $SUVA_{254}$  值變化圖

### 3.3 DOC 變化

#### 3.3.1 植物凋落物的 DOC 淋出量

量測各植物淋洗液的水量與 DOC 濃度，相乘即為植物凋落物的 DOC 淋出量，計算時再除以設置植物的乾重，得每克乾燥植體所淋出的 DOC 重量(mg)。比較野外淋洗液之每月收集與累計收集的 DOC 淋出量顯示，除了第 6 個月，其他月份皆為蘚最高、杜鵑最低(圖 3-8、3-9)。淋洗 6 個月後，DOC 之淋出總量由高至低依序為蘚、扁柏、杜鵑，分別為  $9.60 \pm 1.20$  mg、 $5.95 \pm 1.13$  mg、 $2.24 \pm 0.003$  mg。在野外隨著每月雨量的增加，各植物每月淋出的 DOC 量也皆增加，尤以扁柏所淋出的 DOC 量與雨量之相關係數最高( $R^2 = 0.80$ )；蘚在雨量漸增的第 3~6 個月，淋出的 DOC 量反而漸減。

比較室內淋洗液之每月收集與累計收集的 DOC 淋出量(圖 3-8、3-9)，可發

現杜鵑及蘚累計淋出的 DOC 量一直很接近，直到第 11、12 個月，蘚的單月淋出量明顯變少才明顯看出差別：淋洗滿 12 個月時，每克乾燥植體的累計 DOC 淋出量由高至低依序為杜鵑、蘚、扁柏，分別為  $19.71 \pm 0.35$  mg、 $16.67 \pm 0.03$  mg、 $8.67 \pm 0.13$  mg，扁柏明顯小於杜鵑及蘚。其在第 8~12 個月每月所淋出之 DOC 量都很少、穩定，約在 0.38~0.46 mg 之間；杜鵑及蘚則尚未達一穩定值。

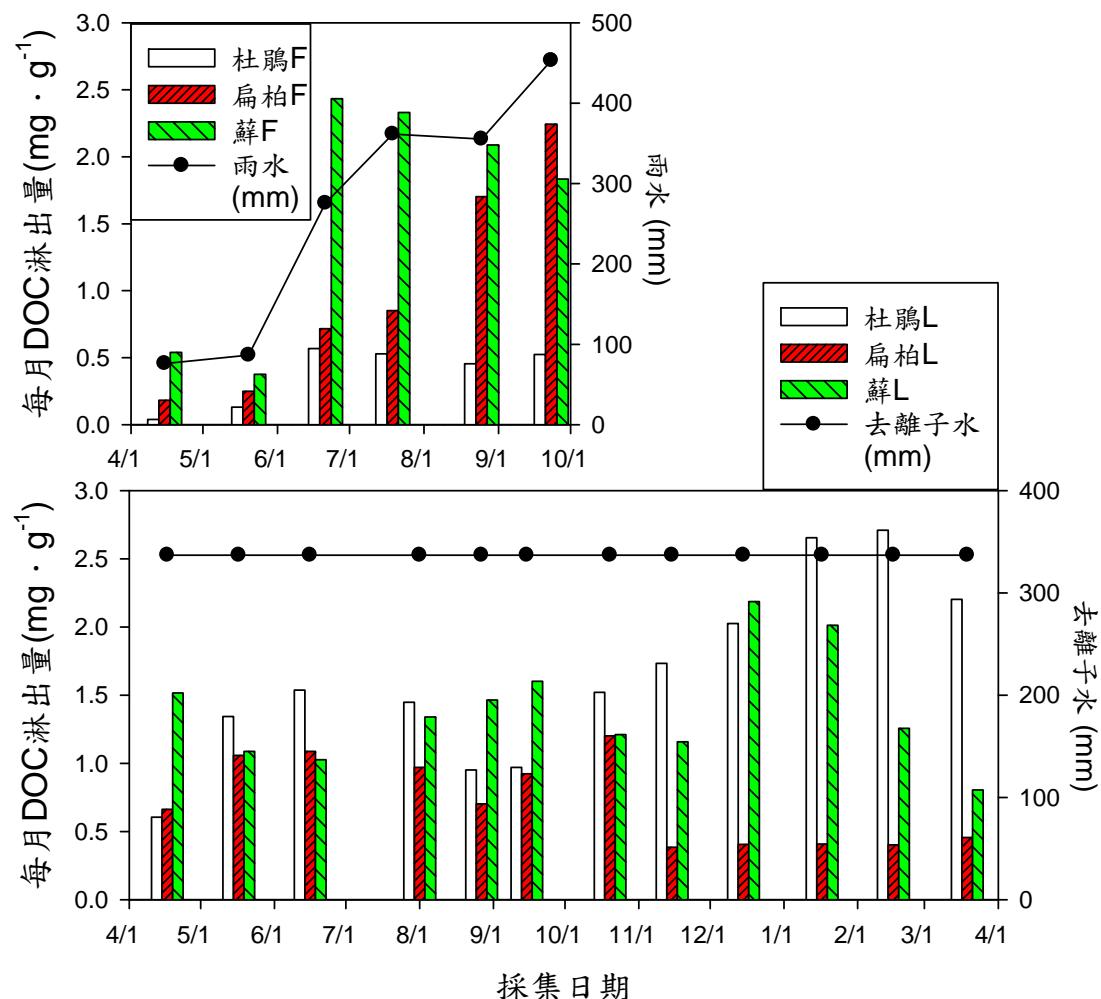


圖 3-8 在 2010/4~2011/3(淋洗第 1~12 個月)期間，每月每克乾燥植體的 DOC 淋出量

F：鶯鶯湖現地，雨水淋洗；L：實驗室室內，以去離子水淋洗。

比較第 1~6 個月野外與室內淋洗組每克乾燥植體所淋出之 DOC 累計量(圖 3-9)，皆為蘚組最高：野外總計淋出 9.60 mg、室內總計淋出 8.04 mg。扁柏組野外及室內淋出之 DOC 總量差距最小，分別為 5.95 及 5.41 mg。杜鵑組野外及室

內淋出之 DOC 總量差距最大，分別為 2.24 及 6.86 mg，且野外組明顯小於室內組。室內組之累計淋洗量每個月皆高於野外組，但除了杜鵑外，蘚及扁柏反而是野外組淋出較多 DOC。

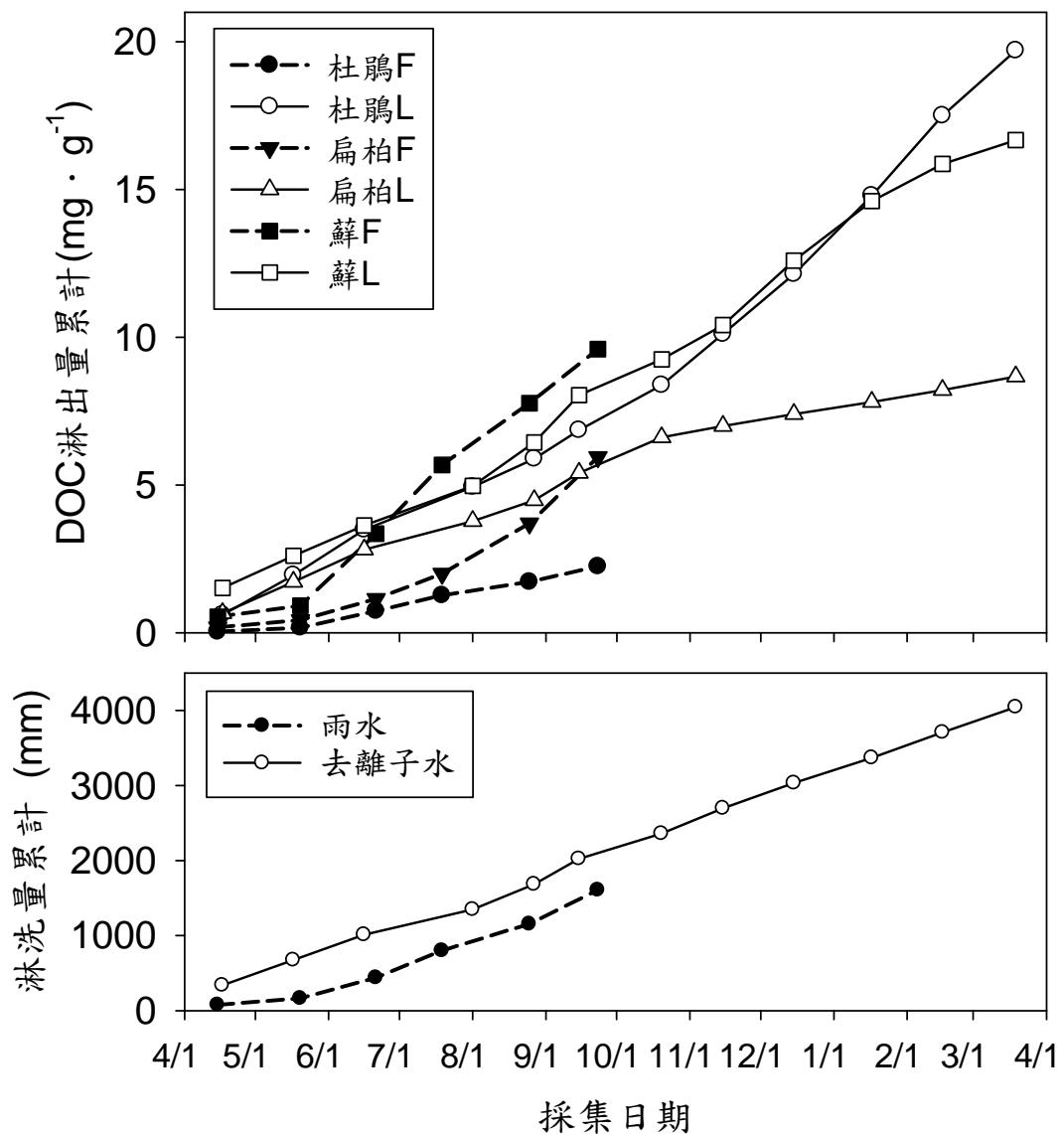


圖 3-9 在 2010/4~2011/3 (淋洗第 1~12 個月)期間，每克乾燥植體的 DOC 淋出量累計圖

F：鴛鴦湖現地，雨水淋洗；L：實驗室室內，以去離子水淋洗。

野外及室內淋洗液，單次淋出最高 DOC 量為杜鵑室內第 10 個月之淋洗液，為 2.71 mg。野外淋洗組的蘚，其淋出的 DOC 累計量明顯大於杜鵑及扁柏；野外組的累積淋洗量每個月都小於室內組，但野外組扁柏及蘚累計淋出的 DOC 量卻

高於室內組，顯示扁柏及蘚可能以 pH 值較低的雨水淋洗能淋出較多量的 DOC；杜鵑可能以 pH 值接近中性的去離子水較能淋洗出 DOC。

### 3.3.2 湖水的 DOC 濃度變化

2010/5~9 期間湖水的 DOC 濃度變化見圖 3-10。1~6 號入水口除了在 2010/9 最高至 7.4 ppm 外，其他四次採集之 DOC 濃度都很低(< 4 ppm)。代表整體湖水之湖心表水的 DOC 濃度與出水口都相當接近，約在 3~10 ppm 之間，明顯高於各入水口。每個水樣點都在採樣前下最多雨的 2010/9 時 DOC 濃度明顯增加。湖心表水 DOC 濃度與雨量呈中高度正相關( $R^2 = 0.720$ )，且採集前一週之雨量與湖心表水之 DOC 濃度的相關係數更高( $R^2 = 0.810$ )。

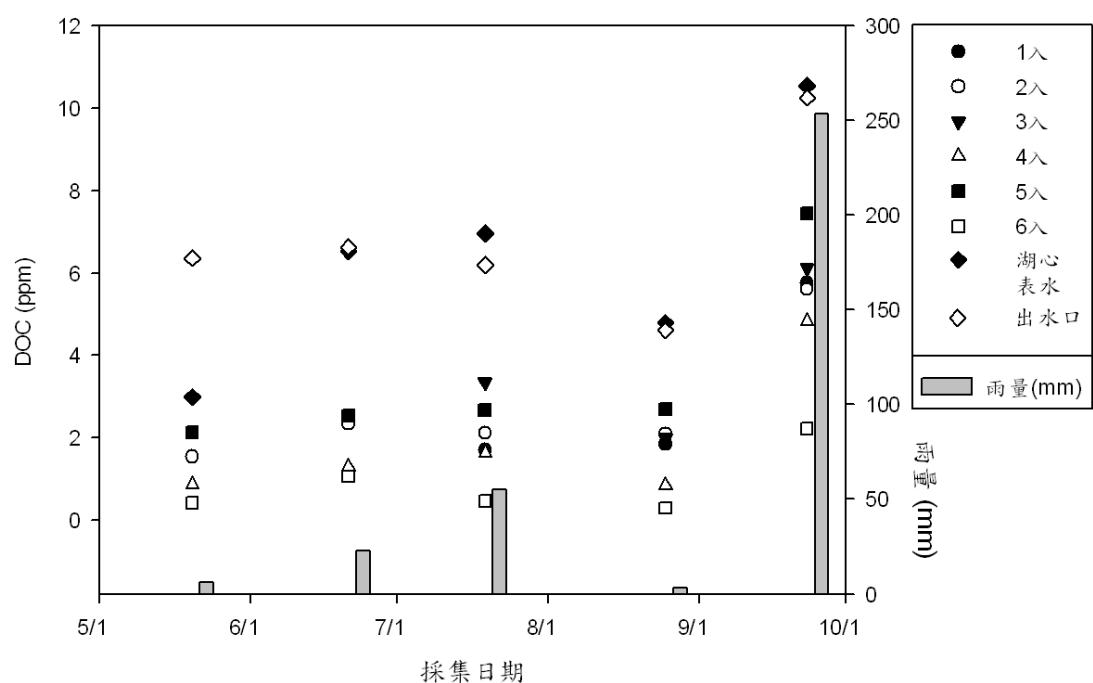


圖 3-10 在 2010/5/20~9/23 期間，湖水的 DOC 濃度及採集前一週的雨量變化

### 3.3.3 DOC 與 HS 的關係

本研究先測量水中的 DOC 濃度，再以 DAX-8 樹脂分離水中腐植物質(HS)及非腐植物質後，測量非腐植物質的 DOC 濃度，推得 HS 的 DOC 濃度。淋洗液的 DOC 濃度與 HS 的 DOC 濃度呈現高度之正相關(圖 3-11， $R^2 = 0.9363$ )，顯示

在淋洗液中，高比例的 DOC 為 HS (即黃腐酸(FA)與腐植酸(HA))。杜鵑、扁柏、蘚三種植物淋洗液中，HS 的 DOC 濃度平均值各為 77.5、91.8、126.4 ppm、各占 DOC 的 81 %、78 %、64 %，平均約占 DOC 總量的 75 % (圖 3-12)。

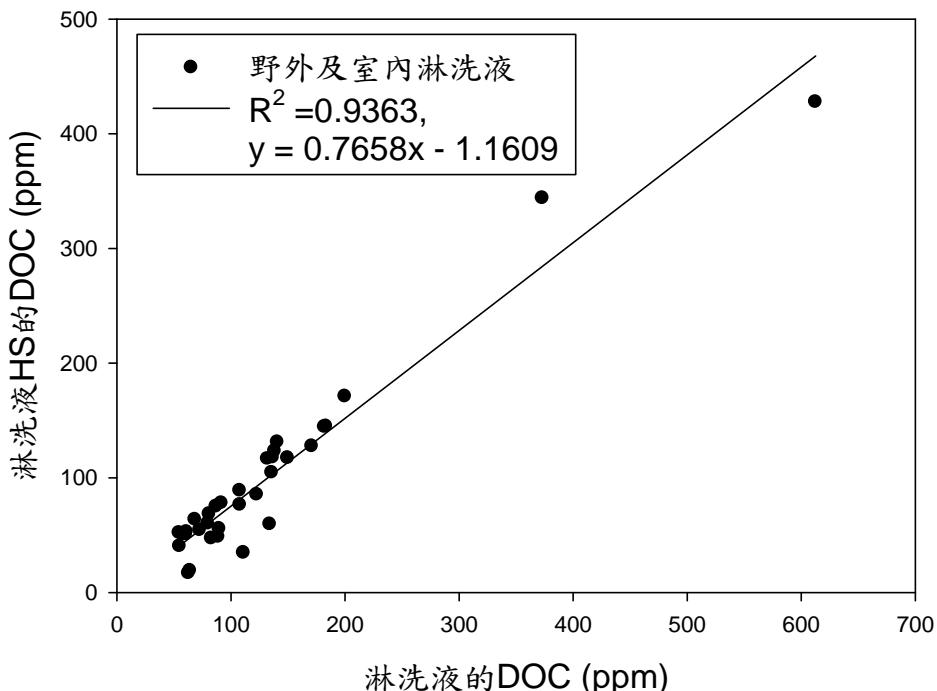


圖 3-11 第 1~3 個月的野外及室內淋洗液與其所含 HS 的 DOC 濃度之關係圖

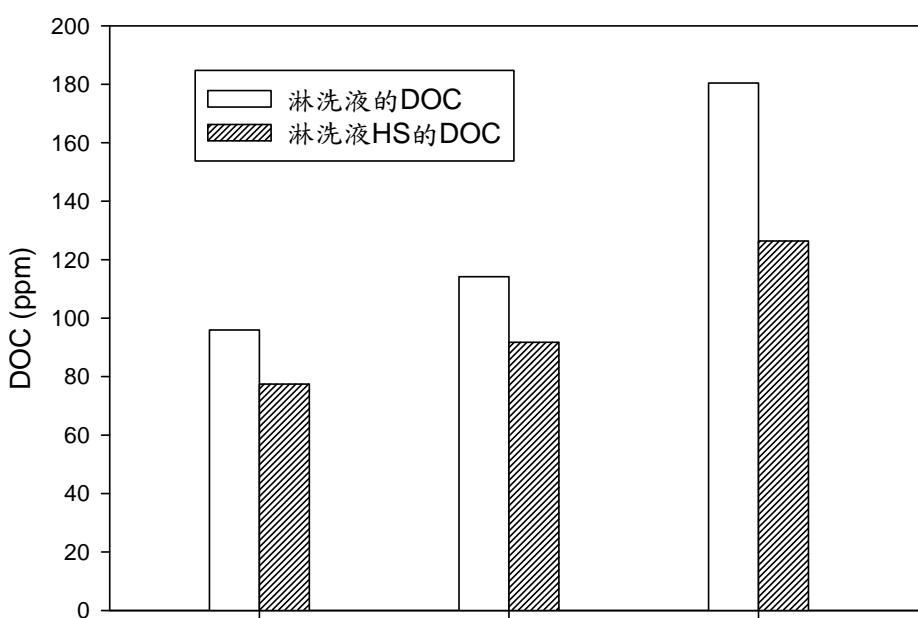


圖 3-12 三種植物淋洗液原水樣與其所含HS的DOC濃度比較圖  
HS濃度平均約占75 %的DOC。

## 3.4 DOC 濃度、pH 值與水色( $A_{440}$ )的關係

### 3.4.1 DOC 濃度與 pH 值的關係

在第 1~6 個月的野外和室內淋洗液(杜鵑、扁柏、蘚、雨水及去離子水), DOC 濃度與 pH 值的相關性皆不高, 但在淋洗第 1~12 個月之室內淋洗液, 此二變量的相關性增加( $R^2 = 0.55$ ) (圖 3-13)。在 2010/5/20~9/23 期間所採集的所有湖水水樣(圖 2-1), 此二變量的相關性很低( $R^2 = 0.07$ ) (圖 3-14); 但在較能代表整體湖水性質之湖心表水及出水口, 此二變量呈現中高度的負相關( $R^2=0.73$ ) (圖 3-15), 顯示各入水口之 pH 值可能有其他因素的影響, 但對整體湖水而言影響不大。設置較久的凋落物(約 200 天後)的淋洗液及湖水的 DOC 濃度愈高, 其 pH 值愈低。

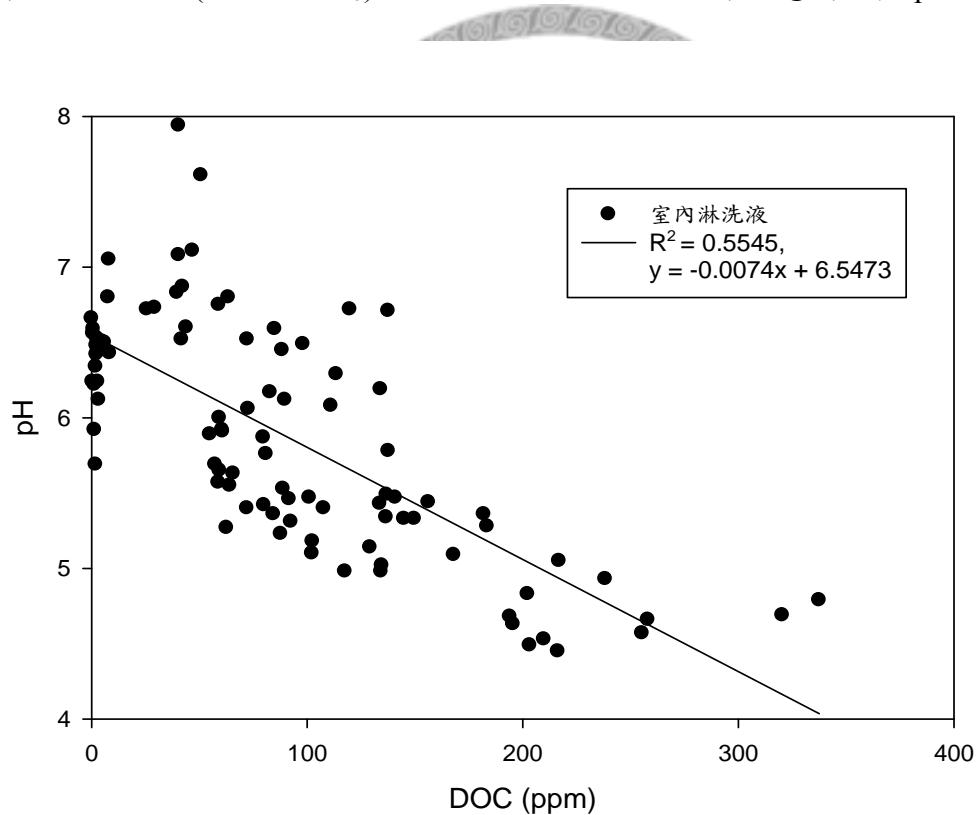


圖 3-13 在 2010/4~2011/3(淋洗第 1~12 個月)期間, 室內淋洗液的 DOC 濃度與 pH 值之關係圖

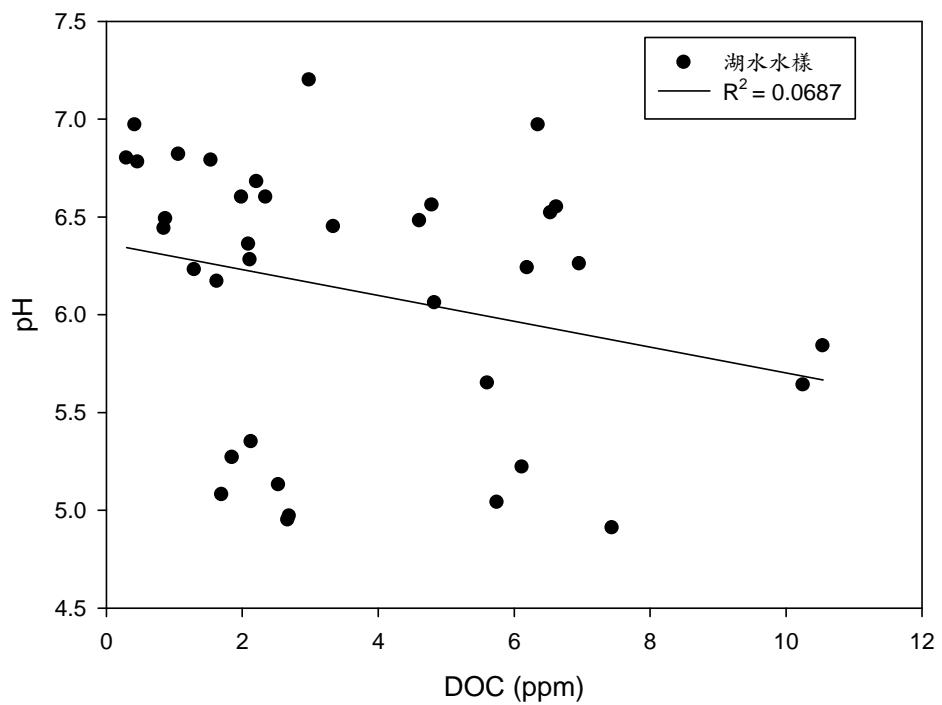


圖 3-14 在 2010/5/20~9/23 期間，所有湖水水樣的 DOC 濃度與 pH 值之關係圖

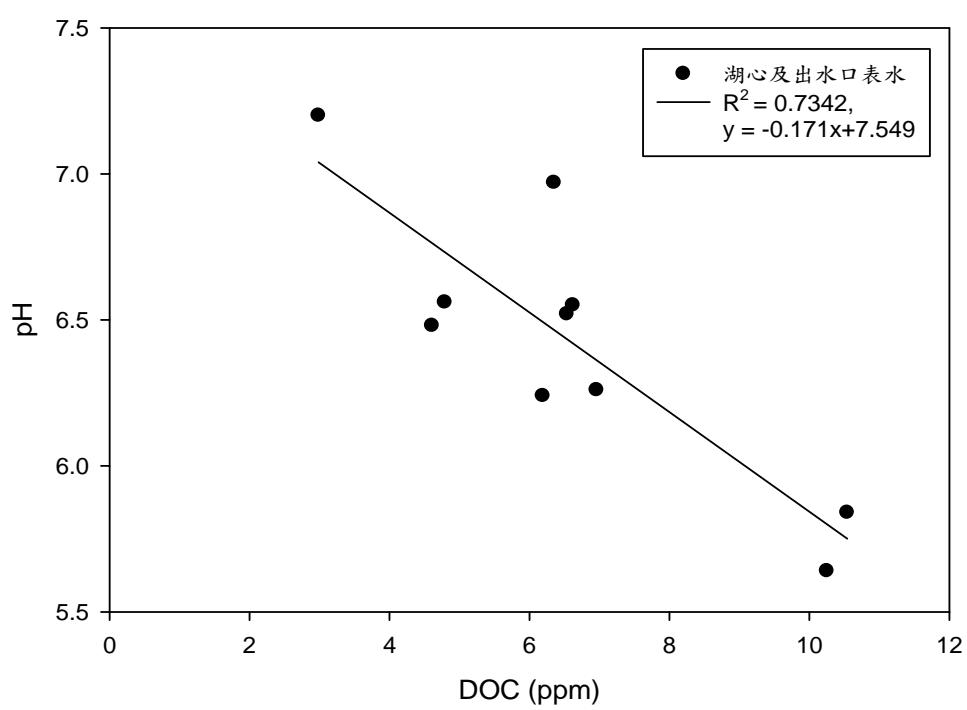


圖 3-15 在 2010/5/20~9/23 期間，湖心及出水口表水 DOC 濃度與 pH 值之關係圖

### 3.4.2 DOC 濃度與水色( $A_{440}$ )的關係

在第 1~6 個月的野外組淋洗液、第 2~12 個月的室內淋洗液，以及 2010/5~9 所採的所有湖水水樣，其 DOC 濃度與水色( $A_{440}$ )此二變量都呈現中高度的正相關 ( $R^2$  值分別為 0.65、0.83、0.82)(圖 3-16、3-17、3-18)；只有第 1 個月的室內淋洗液，其 DOC 濃度與水色此二變量的相關性較低(圖 3-19)，顯示凋落物設置較久所淋出的淋洗液或接受地表逕流的各湖水水樣，若其 DOC 濃度愈高，則水色愈深。

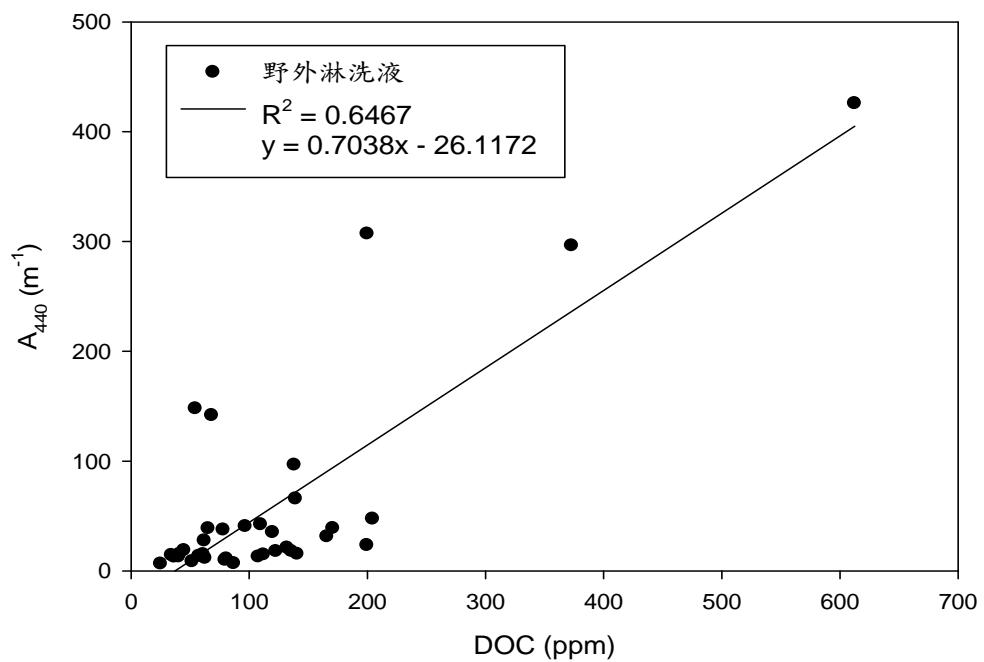


圖 3-16 在 2010/4~9 (淋洗第 1~6 個月)期間，野外淋洗液 DOC 濃度與水色( $A_{440}$ )的關係圖

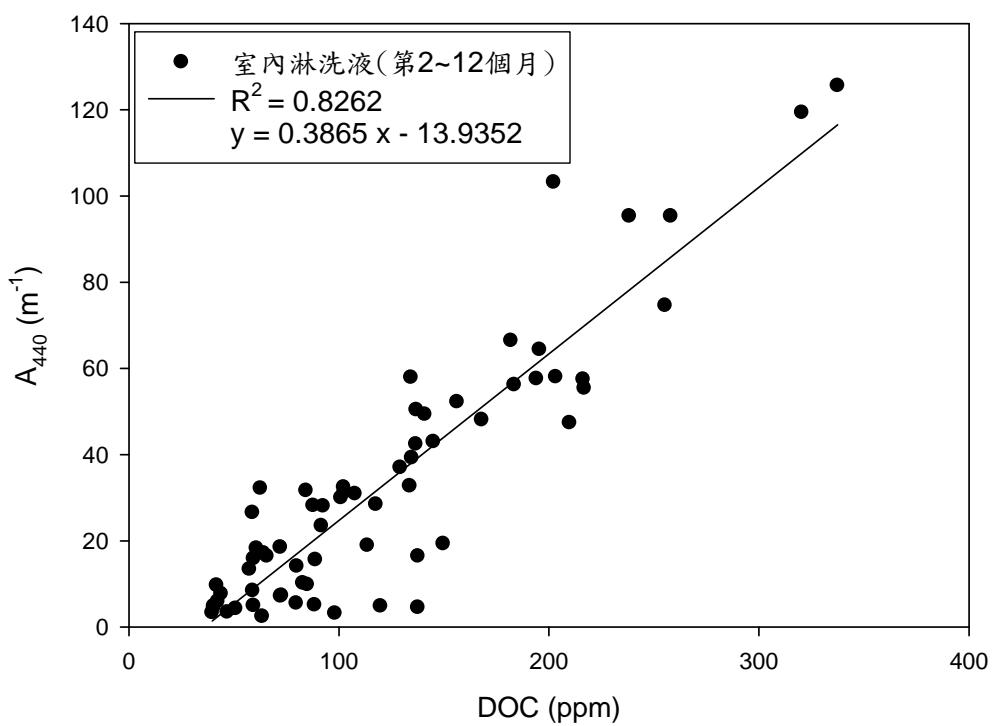


圖 3-17 室內淋洗液(第 2~12 個月)的 DOC 濃度與吸光值( $A_{440}$ )之關係圖

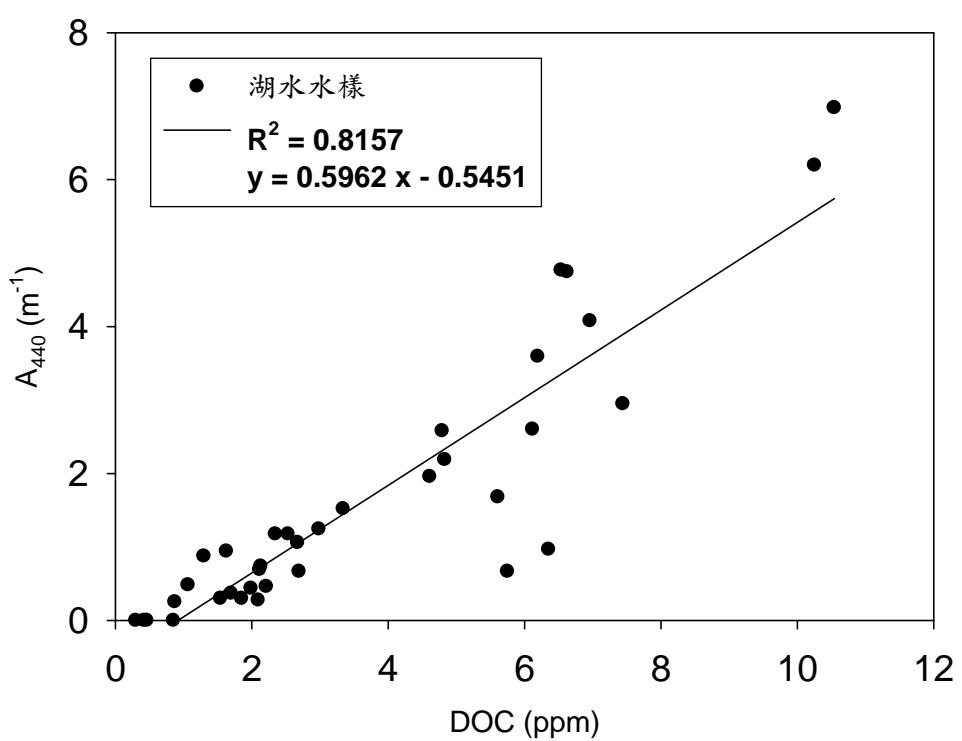


圖 3-18 在 2010/5/20~9/23 期間，所有湖水水樣的 DOC 濃度與吸光值( $A_{440}$ )的關係圖

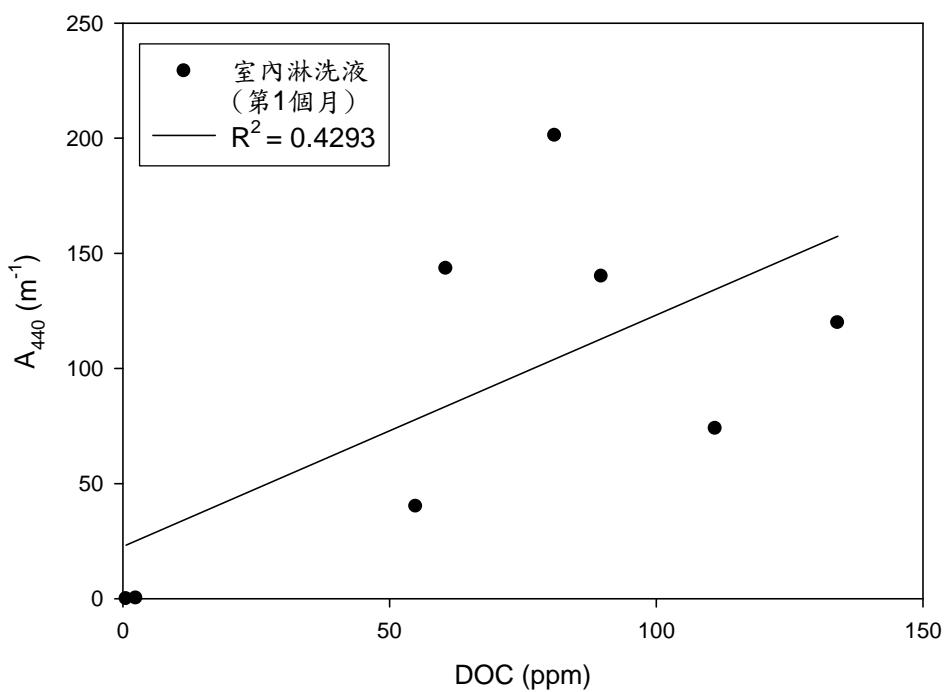


圖 3-19 室內淋洗液(第 1 個月)的 DOC 濃度與吸光值( $A_{440}$ )之關係圖

綜合以上三變量之比較，可得知鴛鴦湖之整體湖水及淋洗較久的凋落物淋洗液，其DOC濃度與pH值呈現中高度的負相關性、與水色則呈中高度的正相關性，顯示若其DOC濃度愈高，則水色愈深、pH值愈低。故可由三變量間的線性關係式可相互推估彼此之值。

### 3.5 DOC 結構的 EEMs 圖譜分析

本研究之各水樣經  $0.45\text{ }\mu\text{m}$  孔徑大小之濾紙過濾後，取濾液進行螢光激發—發射矩陣光譜(excitation-emission matrices, EEMs)之測定，得到結果如圖 3-20，為典型的鴛鴦湖湖心表水的 EEM 圖譜。本實驗所測樣本之 EEMs 圖譜中，絕大部分的淋洗液及湖水樣點都含有典型之 A 峰及 C 峰(即分別為 Sierra et al. (2005) 所提到之  $\alpha'$ 、 $\alpha$  峰的位置) (表 2-1)，其 Ex/Em 位置分別大約在  $250/450\text{ nm}$  及  $340/450\text{ nm}$  處。

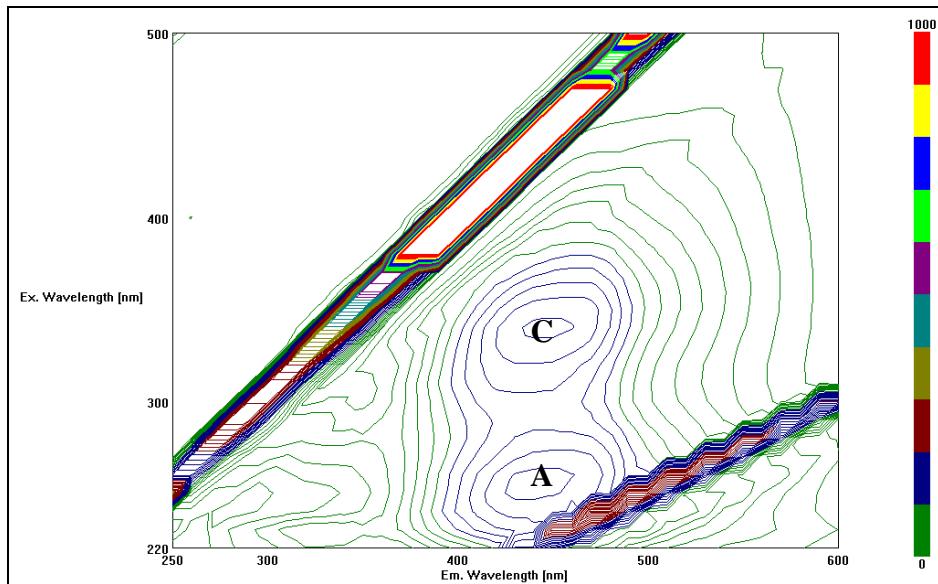


圖 3-20 鴛鴦湖湖心表水的螢光激發—發射矩陣光譜(EEM)

### 3.5.1 淋洗液

淋洗設置一個月所收之第一次淋洗液(圖 3-21~3-23)，三種植物除了都出現 A、C 峰，杜鵑、扁柏淋洗液也都出現 B、T 峰(杜鵑之 B、T 峰較 A、C 峰小得多且不明顯，而扁柏則幾乎相等)；另外，雖然蘚之第一個月之淋洗液未測到 B、

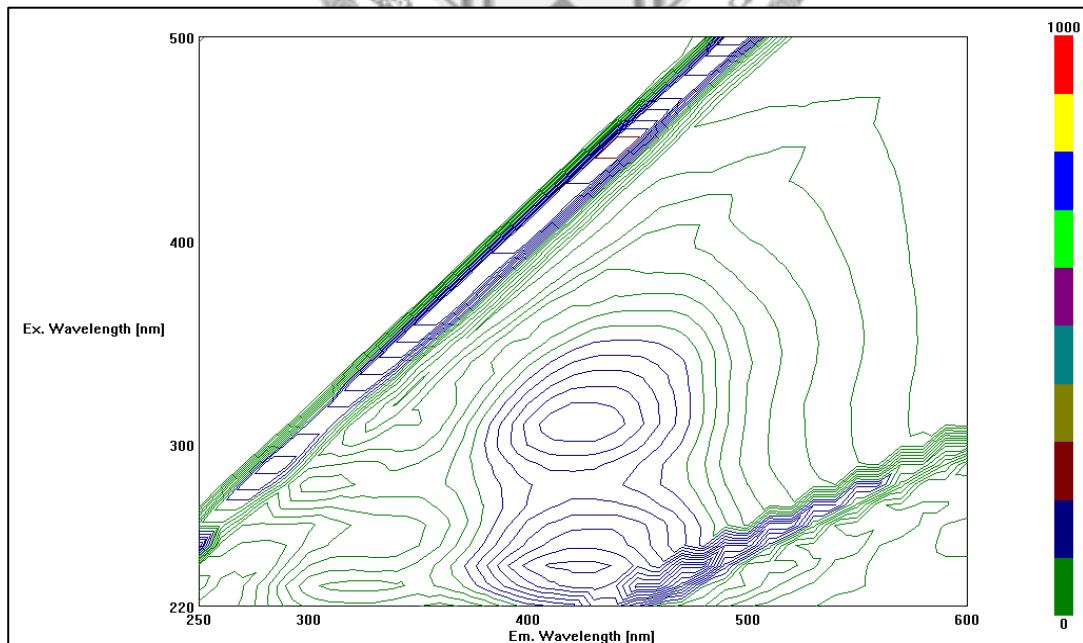


圖 3-21 杜鵑淋洗液(淋洗設置第 28 天)的 EEM 圖譜

B、T 峰之螢光強度較 A、C 峰小得多，且不明顯。

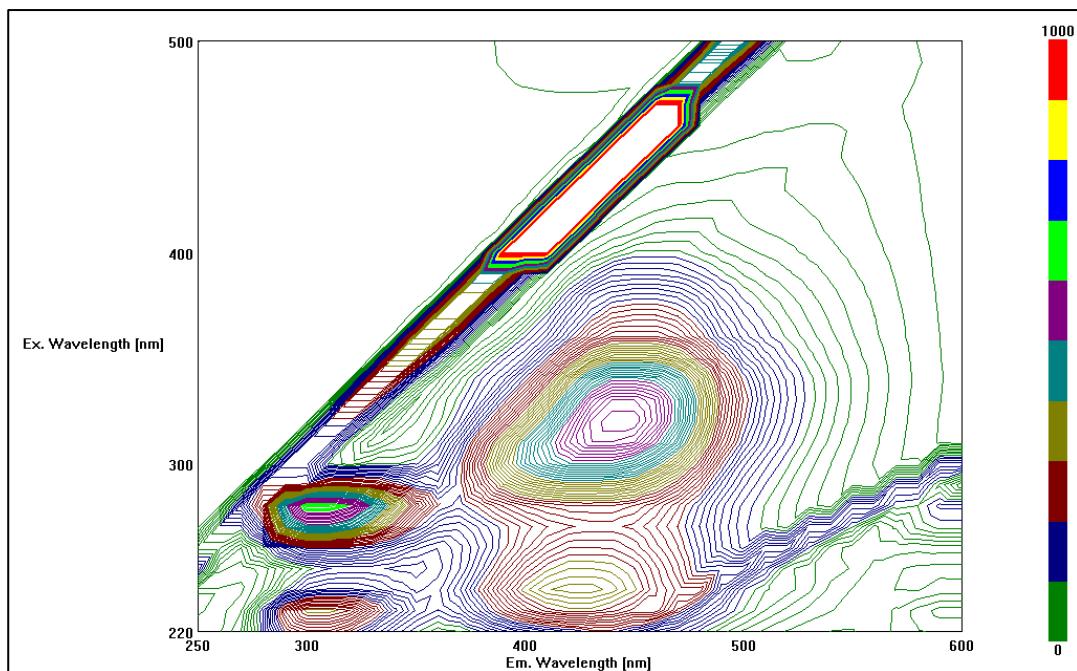


圖 3-22 扁柏淋洗液(淋洗設置第 28 天)的 EEM 圖譜

B、T 峰明顯且 B 峰之螢光強度大於 A、C 峰。

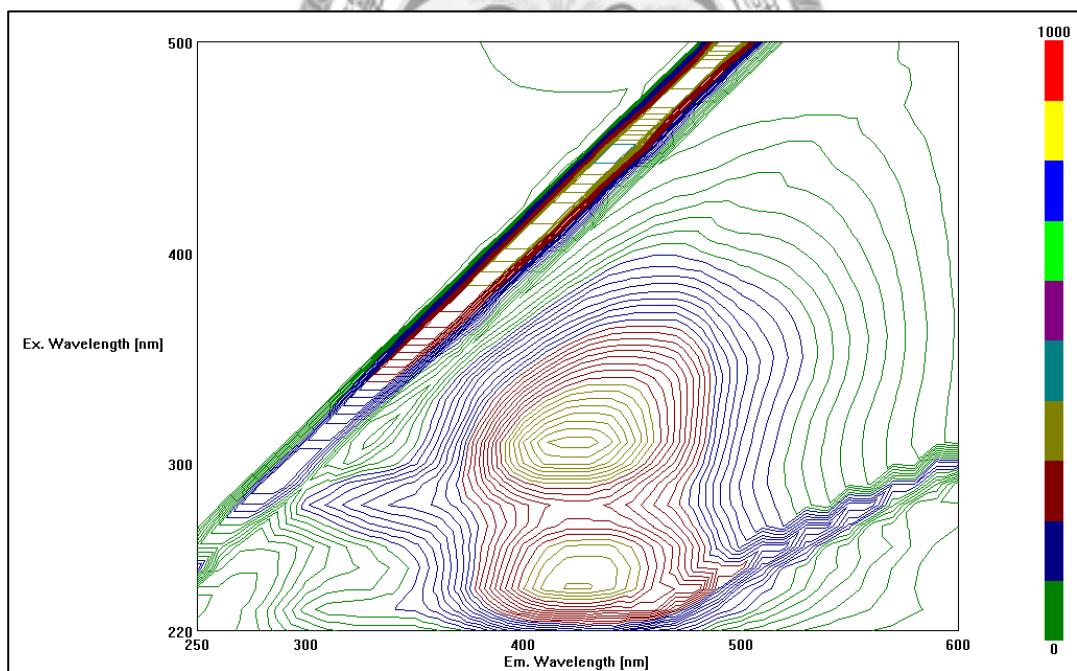


圖 3-23 蕨淋洗液(淋洗設置第 28 天)的 EEM 圖譜

無 B、T 峰。

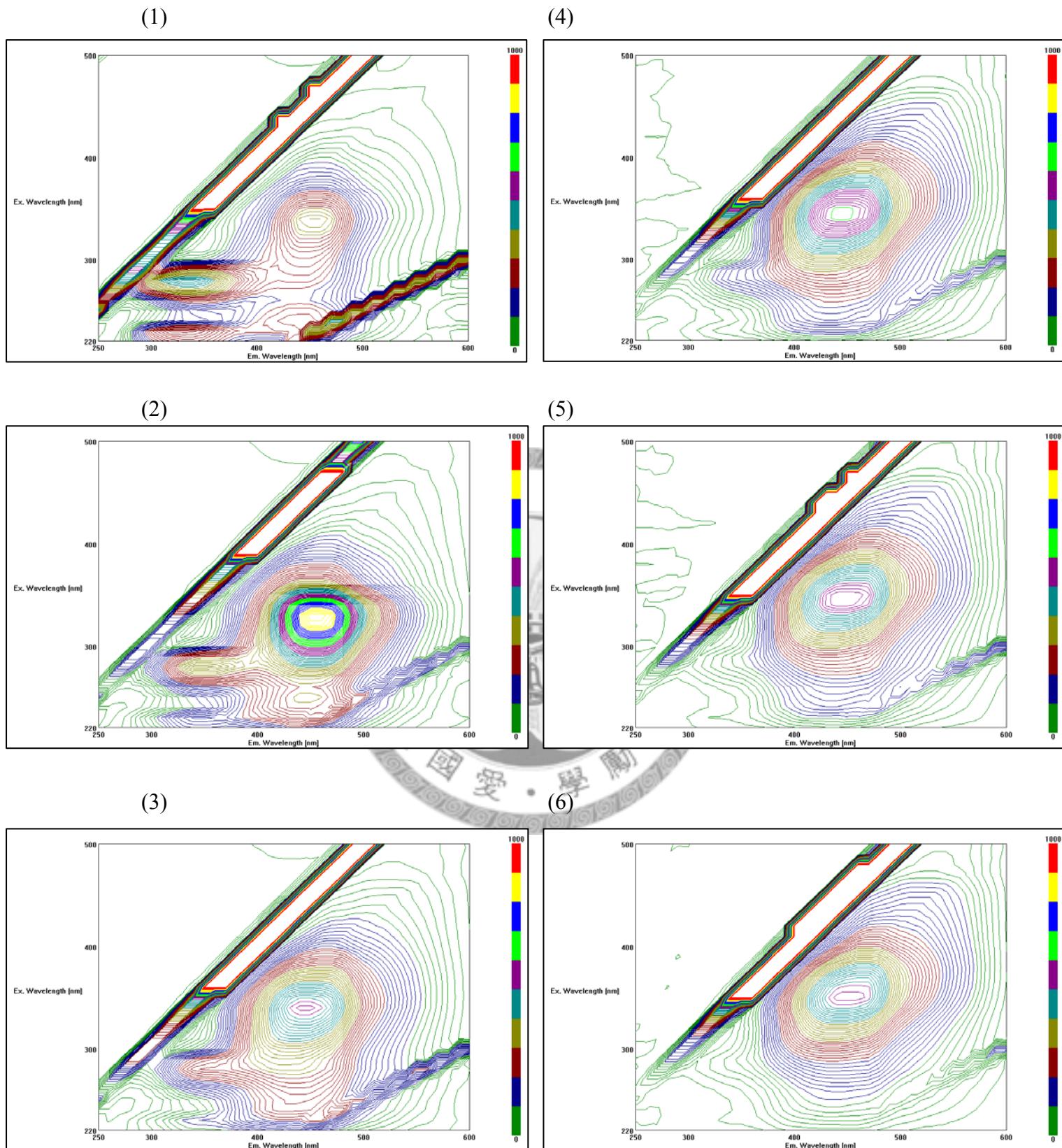


圖 3-24 蘚之短時間淋洗實驗的 EEM 圖譜

(1) ~ (6)分別為淋洗設置之第 6、12、18、24、30、36 天收集之淋洗液。只有第 6、第 12 天收集的淋洗液出現 B、T 峰。接下來的四次取樣只剩下 C 峰。

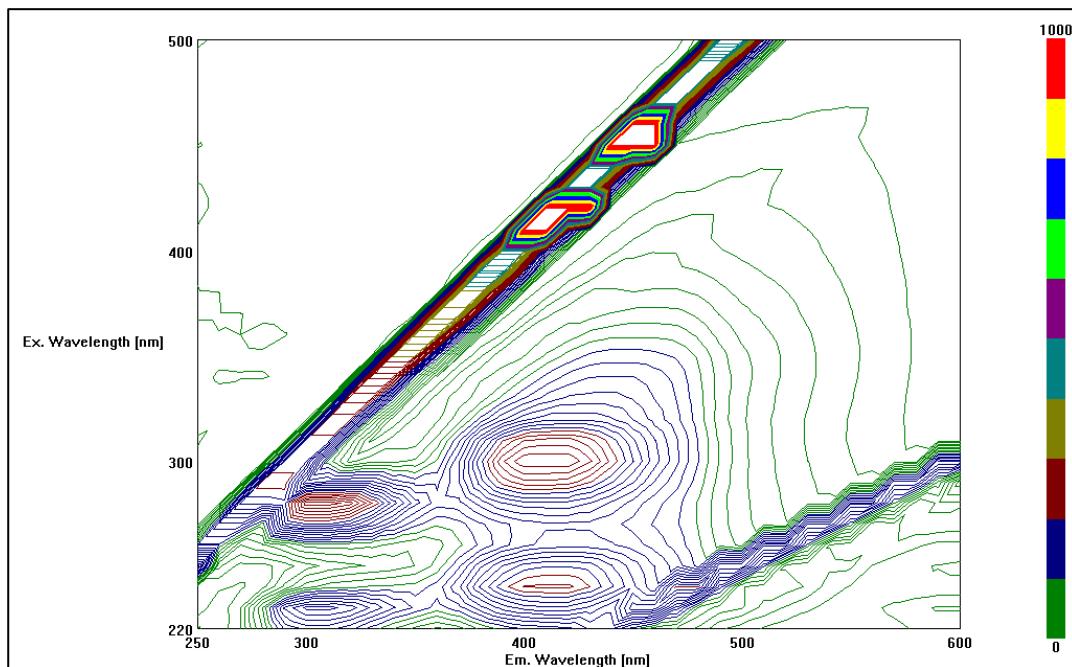


圖 3-25 扁柏淋洗液(淋洗設置第 63 天)的 EEM 圖譜  
其仍有明顯之 B、T 峰且 B 峰之螢光強度大於 A、C 峰。

T 峰，但新設置的蘚之短時間淋洗實驗(圖 3-24)，第 6、第 12 天收集的淋洗液也出現 B、T 峰。但 12 天後至第 36 天所收集之四次蘚淋洗液之 EEMs 圖譜只有 C 峰，而無 A、B、T 峰。在淋洗設置第 63 天所收集之扁柏淋洗液(圖 3-25)仍有 B、T 峰，且其螢光發射強度甚至會超過 A、C 峰。雨水及去離子水之空白對照組中也有些微之 B、T 峰。

淋洗設置較久之植物淋洗液的 DOC (圖 3-26~3-28，以三種植物在淋洗設置第 286 天所收集之淋洗液為例)，杜鵑和蘚皆偏向單一 C 峰，只有扁柏還可看到同時有峰值略小於其 C 峰之 A 峰。杜鵑和蘚淋洗液之 C 峰的 Ex/Em 位置都往較長波長處移動，接近 FA 與 HA 之發色團位置的交界；扁柏淋洗出之 DOC 則較無明顯之變化。

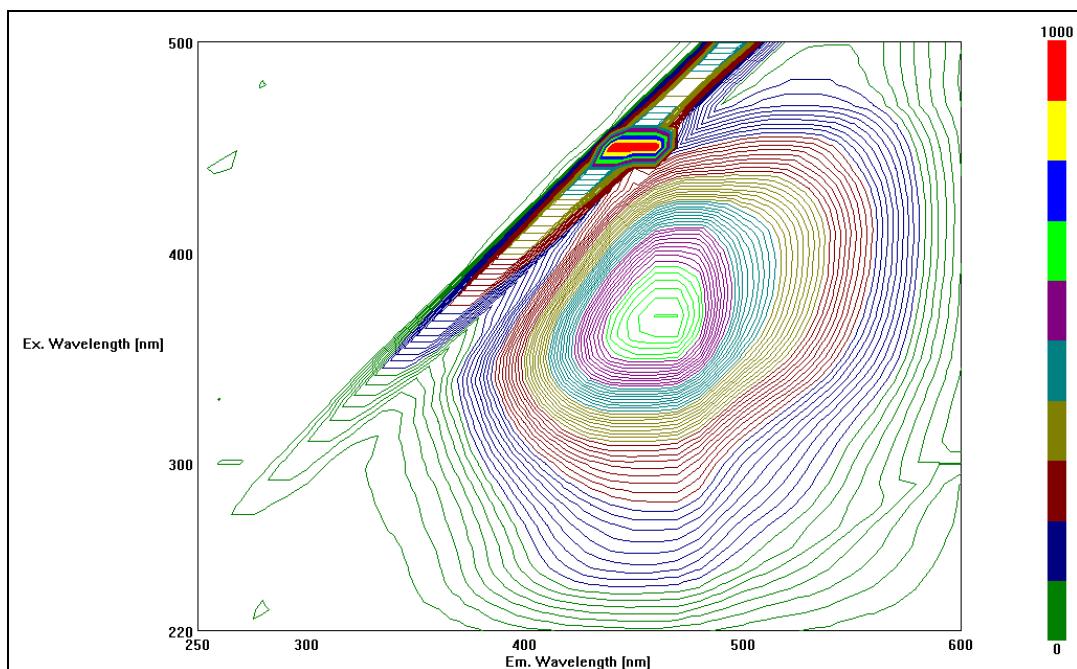


圖 3-26 杜鵑淋洗液(淋洗設置第 286 天)的 EEM 圖譜

其 C 峰明顯偏向較長波長之 Ex/Em 位置。

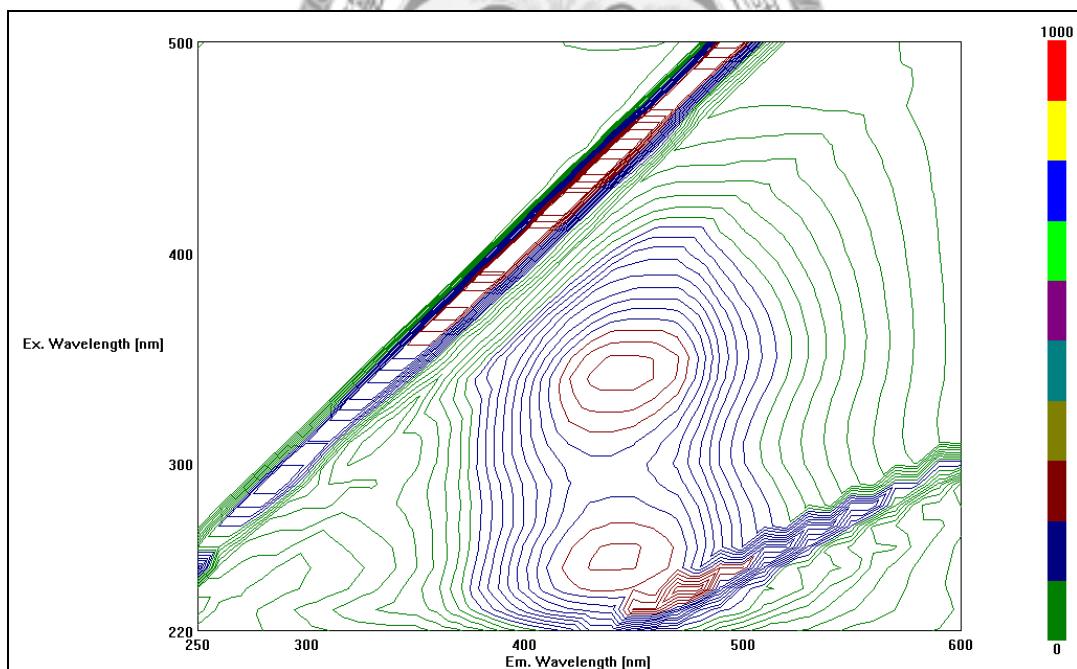


圖 3-27 扁柏淋洗液(淋洗設置第 286 天)的 EEM 圖譜

其 DOC 仍有明顯之 A、C 峰。

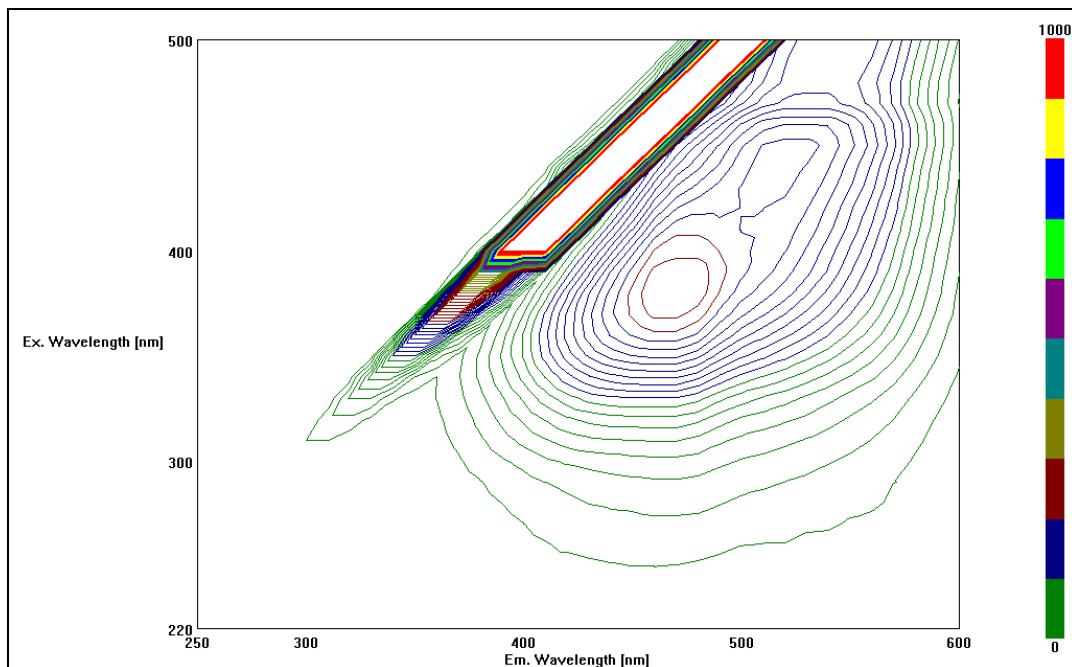


圖 3-28 蘚淋洗液(淋洗設置第 286 天)的 EEM 圖譜

其 C 峰明顯偏向較長波長之 Ex/Em 位置。

### 3.5.2 表土之 HS 萃取液與 HA 對照品

湖區步道旁之表層土壤，其 FA 含有典型之 A、C 峰(圖 3-30)；其 HA 則與 HA 對照品相似：單一 C 峰明顯偏向較長波長之 Ex/Em 位置(圖 3-32、34、35)。比較同一樣品在稀釋之前後所測之 EEMs 圖譜(圖 3-29 vs. 30、圖 3-31 vs. 32、圖 3-33 vs. 34)，可發現當樣本濃度降低時，EEMs 峰值之波長位置往短波長之 Ex/Em 方向偏移，此也與前人的研究結果相吻合(Mobed et al., 1996)，同理可解釋圖 3-34 之 HA 對照品為何無明顯之較高 Ex/Em 波長位置之 C 峰。此外，經稀釋後的 HA 萃取液之螢光發射峰值高於稀釋前的樣本(圖 3-31 vs. 32)，推論可能為溶液中的其他溶質吸收激發光或發射出的螢光，產生內濾效應(inner-filter effect)，造成測得的螢光強度偏低(劉，2007；Senesi, 1990)。

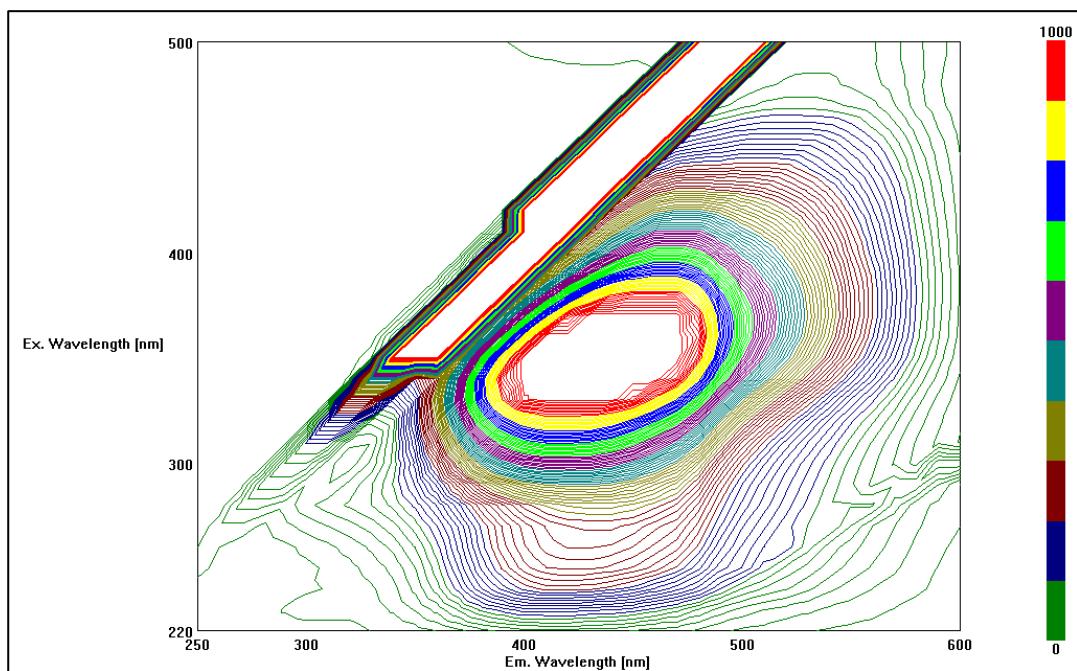


圖 3-29 表層土壤之 FA 萃液(未稀釋)的 EEM 圖譜

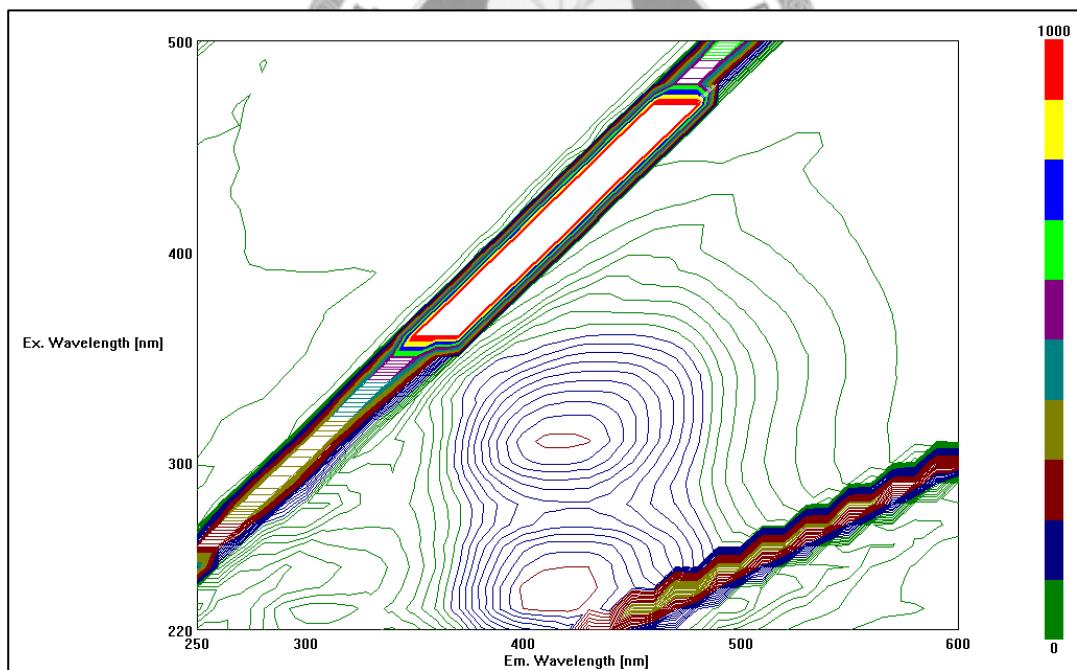


圖 3-30 表層土壤之 FA 萃液(稀釋 20 倍)的 EEM 圖譜

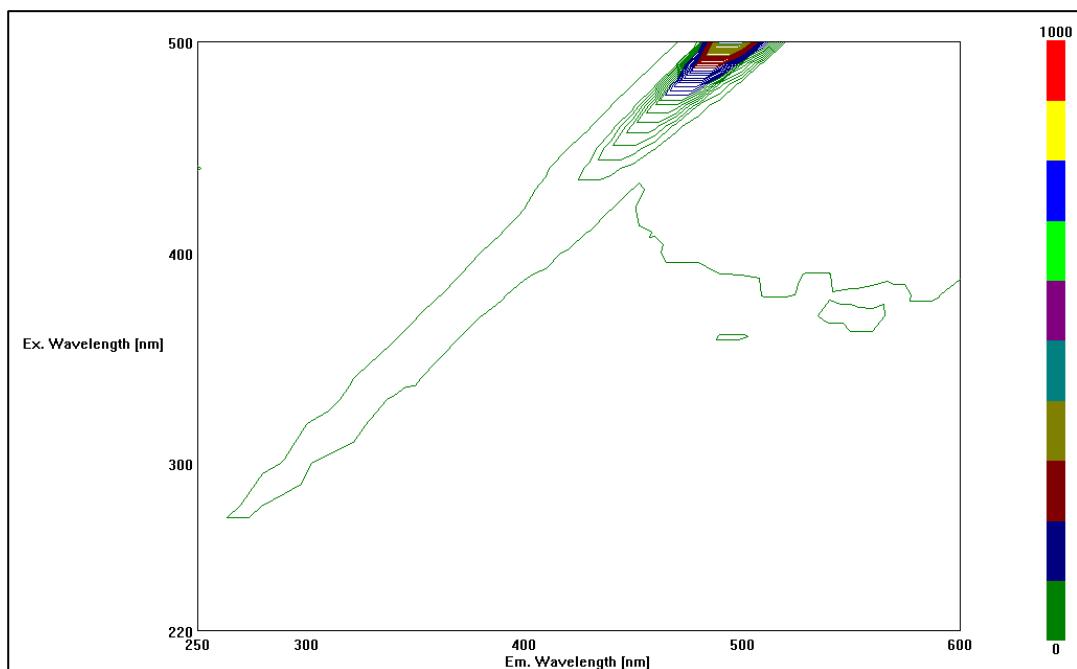


圖 3-31 表層土壤之 HA 萃液(未稀釋)的 EEM 圖譜

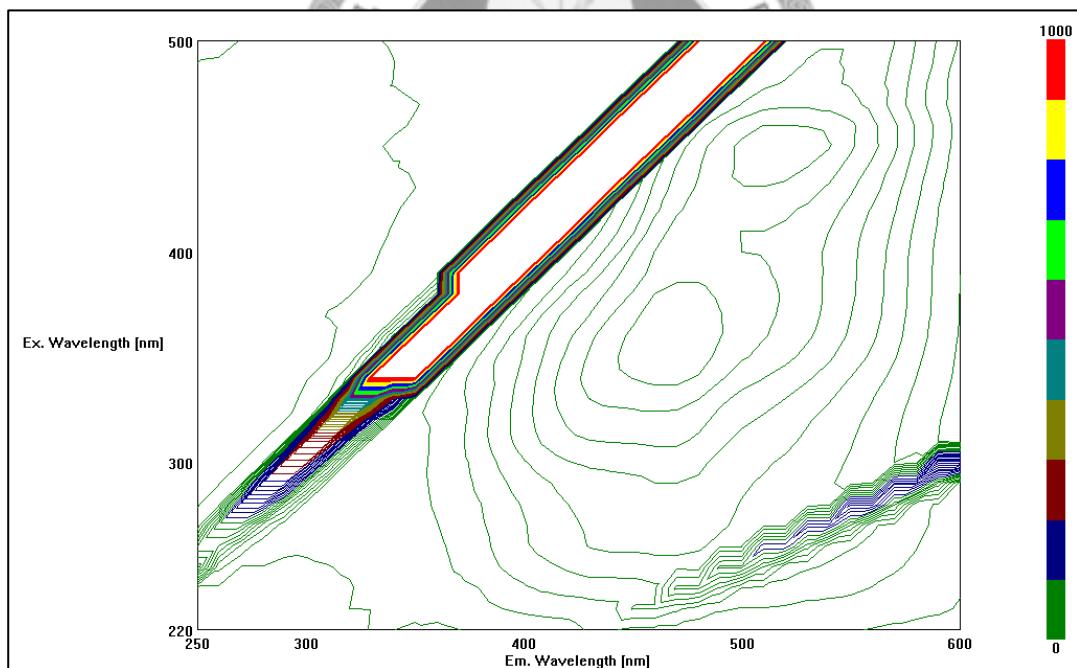


圖 3-32 表層土壤之 HA 萃液(稀釋 20 倍)的 EEM 圖譜

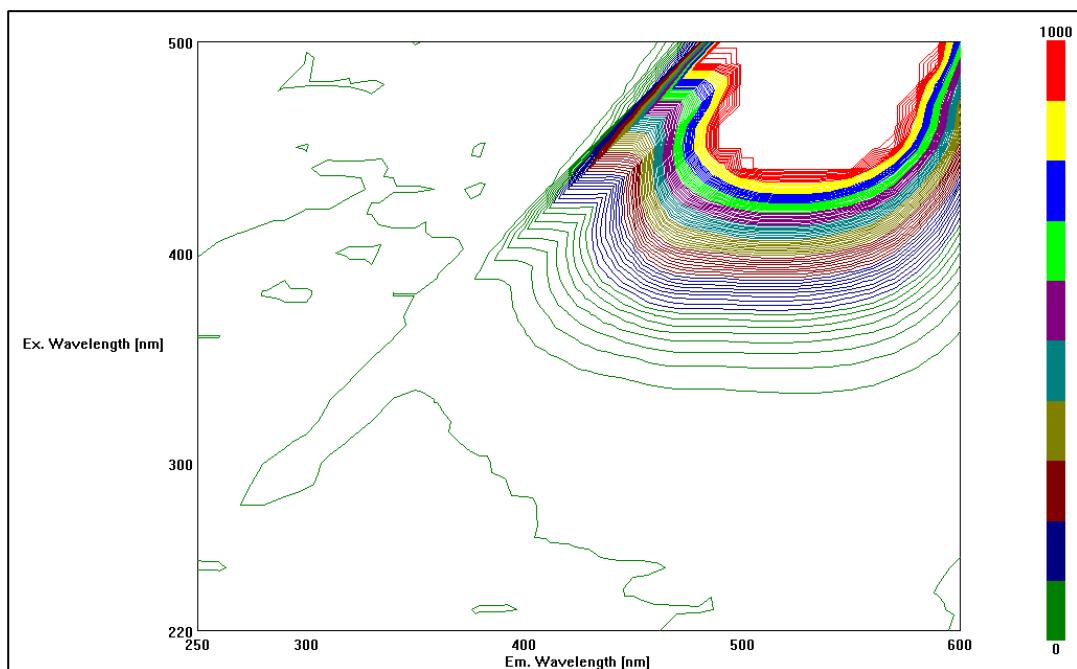


圖 3-33 10000 ppm 的 HA (No. 53680, Sigma) 的 EEM 圖譜

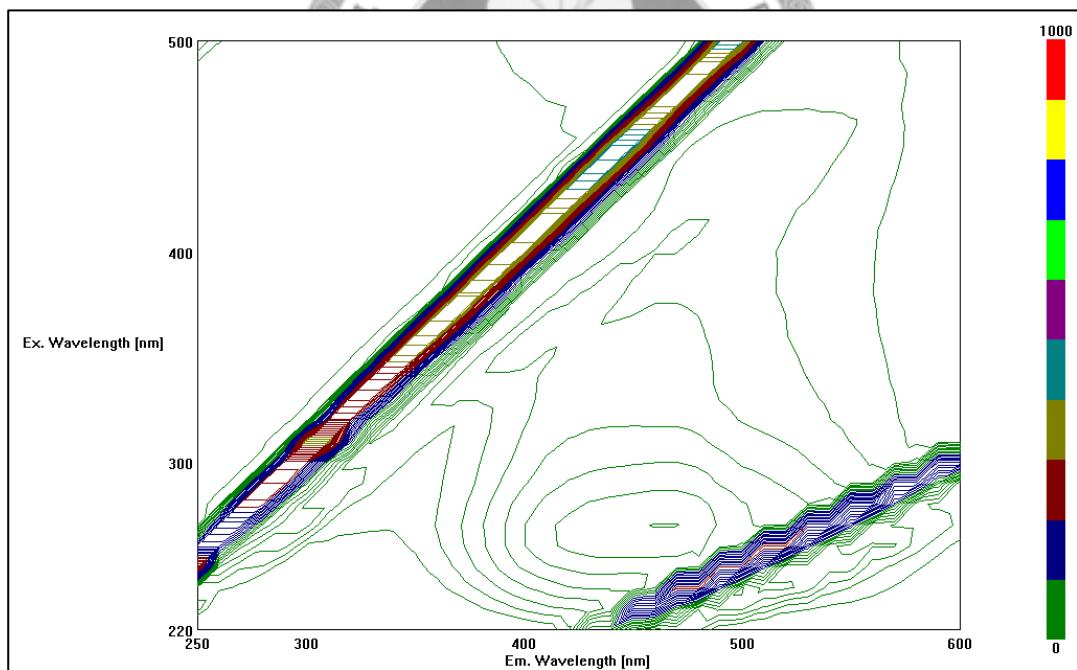


圖 3-34 10 ppm 的 HA (No. 53680, Sigma) 的 EEM 圖譜

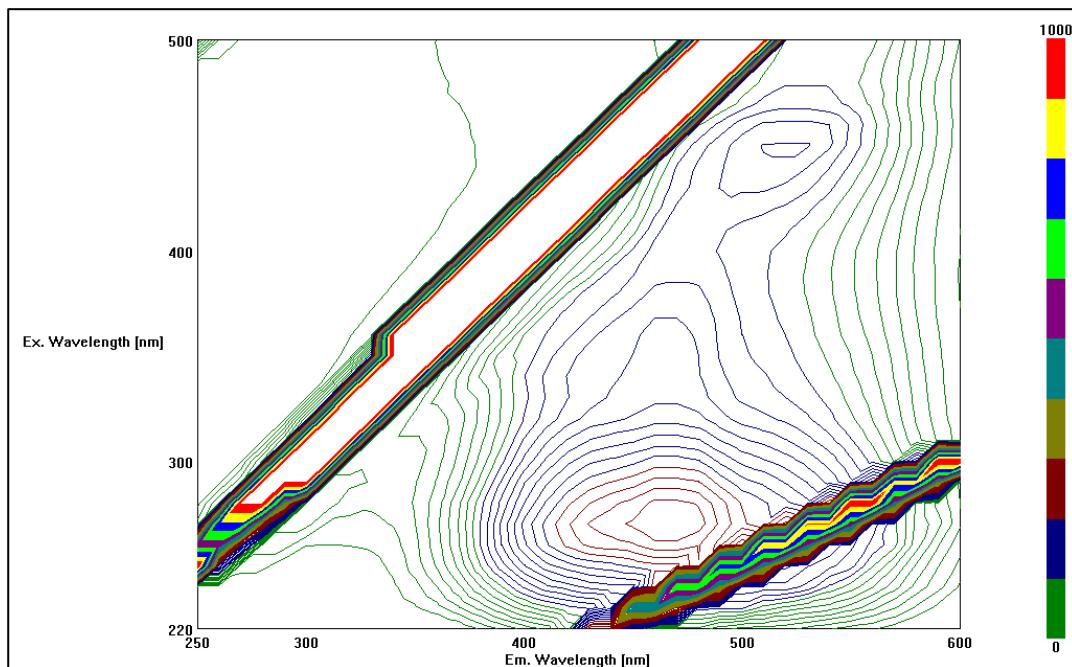


圖 3-35 10 ppm 的 HA 鈉鹽 (No. H16752, Sigma) 的 EEM 圖譜

### 3.5.3 湖水

長期以來，鴛鴦湖湖水的離子濃度都很低(周等，1998；Tsai et al., 2008)，故較不會產生內濾效應而影響其 EEMs 峰值之位置。在 2009/12、2010/1、3、5 採集之入水口表水多有出現較明顯之 B、T 峰訊號，對照雨量資料顯示都是在雨量較少之時期出現。本研究也測出幾個入水口表水之 EEMs 峰值如圖 3-36、3-37，其 Ex/Em 位置分別為 220/330nm、230/290nm，和 B、T 峰之位置不很吻合。對照其他文獻，前者似無相對應之可能之胺基酸，而後者則較像是 phenylalanine (苯丙胺酸) (Yamashita and Tanoue, 2003)。

然而，無論各入水口之表水是否有較明顯之 B、T 峰訊號，在每月所採之湖心、出水口表水皆以 A、C 峰為主(圖 3-17)，只有在雨量較少的時期能在此二水樣點看到些微之 B、T 峰(圖 3-38)。又，沒有一個湖水水樣點出現比 C 峰更偏長波長之 Ex/Em 位置的 Em 發射峰(即 HA-like peak, Sierra et al. (2005))。在本研究中，其只出現在放置較久的淋洗液及土壤萃取之 FA 及 HA 之 EEMs 圖譜中。

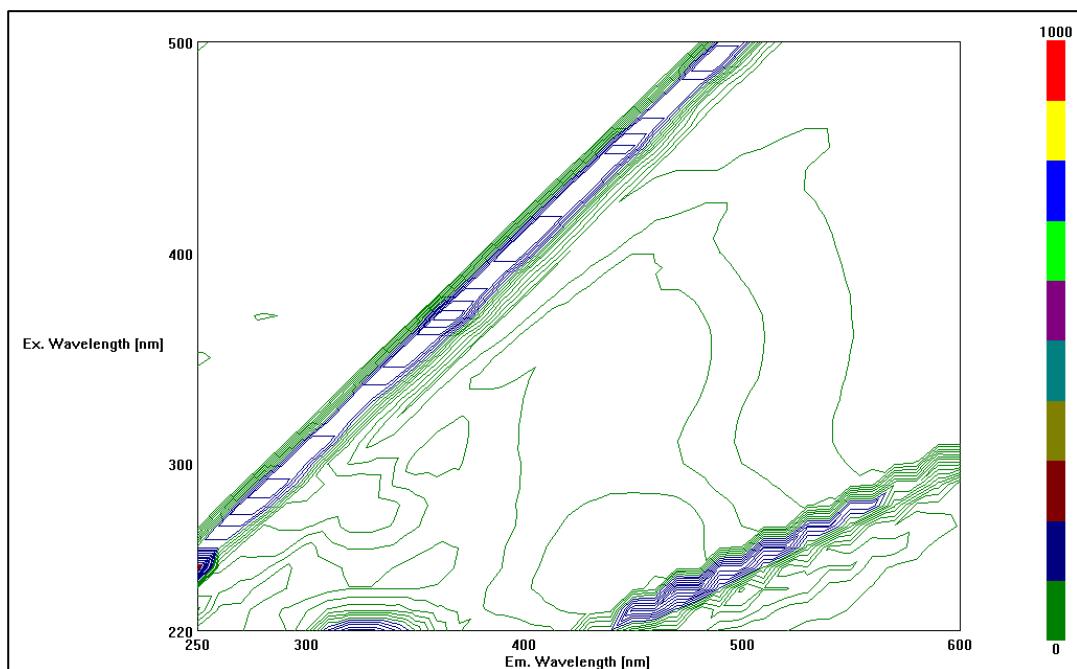


圖 3-36 鴛鴦湖第 3 號入水口表水(2010/1/25)的 EEM 圖譜

除了較弱之 A、C 峰，其有明顯之短波長 Ex/Em 位置之螢光發射峰。

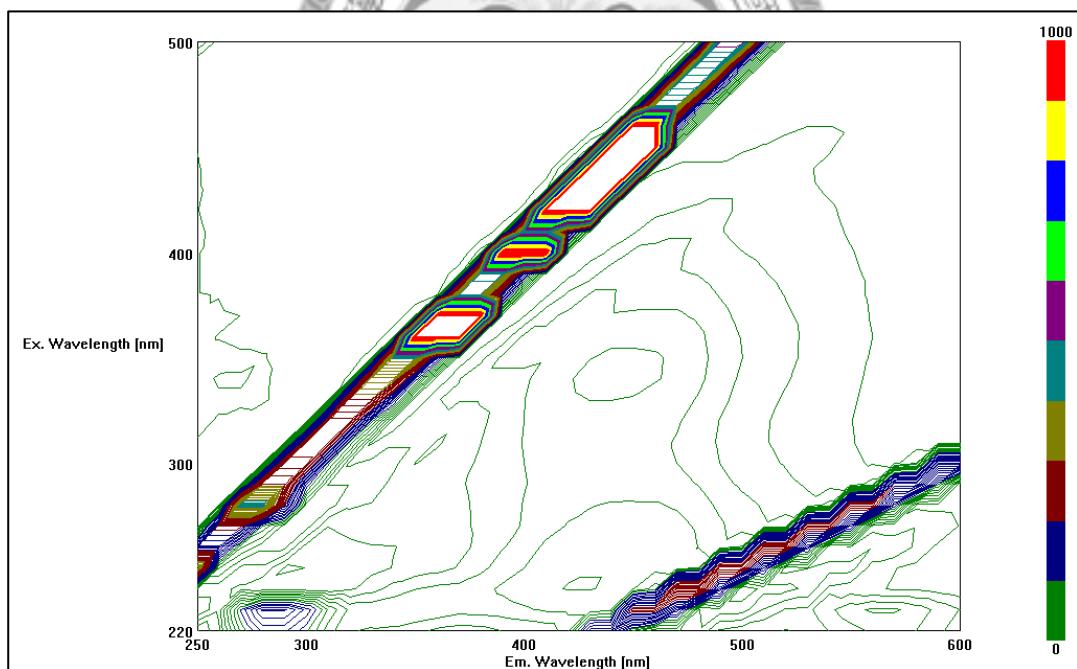


圖 3-37 鴛鴦湖第 5 號入水口表水(2010/5/20)的 EEM 圖譜

除了較弱之 A、C 峰，其有明顯之短波長 Ex/Em 位置、phenylalanine-like 之螢光發射峰。

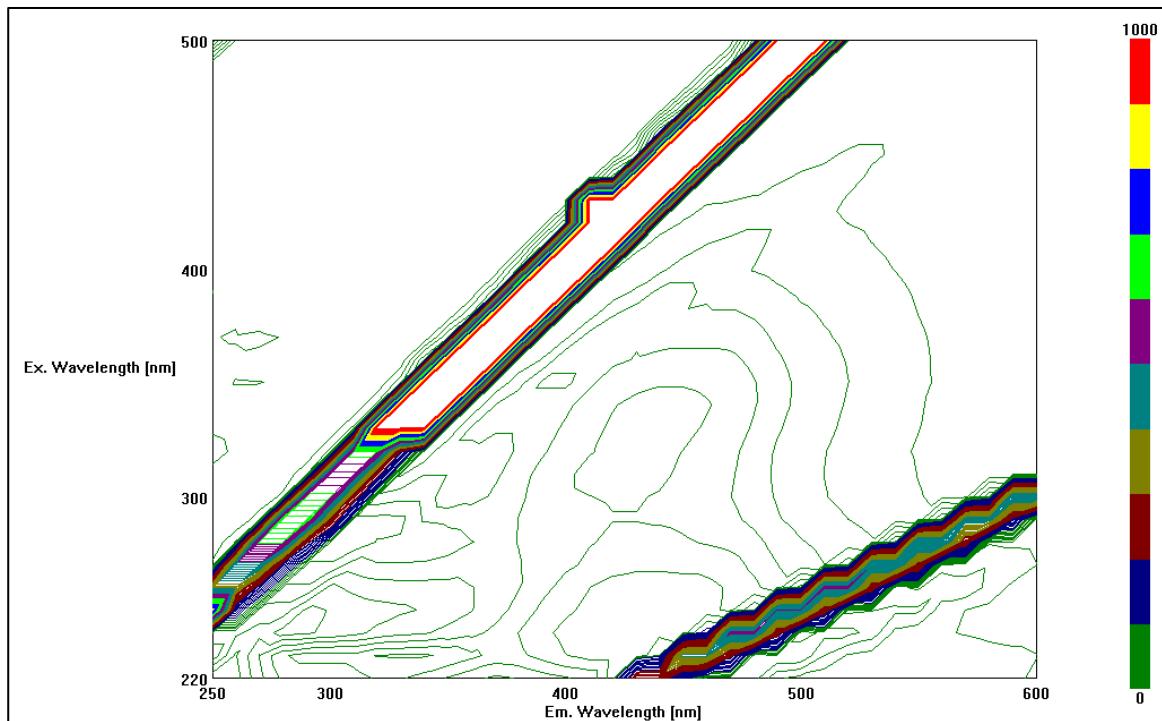


圖 3-38 鴛鴦湖湖心表水(2010/5/20)的 EEM 圖譜

內源性 DOC 的螢光發射峰值較明顯。

### 3.5.4 培養之藻液

三種實驗藻種在鴛鴦湖湖水之三種 DOC 濃度(0、4、10 ppm，以下分別以 0 D 組、4 D 組、10 D 組代稱)的培養下，除了 *C. vulgaris* 的 0 D 組之外，在第 0~3 天的藻液幾乎都出現明顯之 A、C、T 峰(表 3-3)。三種藻的 0 D 組及 4 D 組之藻液在第 0 天培養時，A、C 峰位置之螢光強度即明顯高於原培養液，且峰值都隨培養天數而增加，顯示養藻之過程中，藻類本身也會產生很多類似 HS (主要為 FA-like peak) 螢光發色團之 DOC (圖 3-39~3-42)。雖然在 A、C 峰上無法區分湖水 DOC 與藻本身或其分泌之 DOC，但可看出 4 D 組及 10 D 組之 A、C 峰之螢光強度，在培養三天中之增加速度及第三天之值都明顯高於 0 D 組，可能表示藻會利用水中的 DOC，進而產生更多類似 HS 之 DOC。

另一方面，三種實驗藻種之控制組皆明顯有類似微生物來源之 T 峰，且其螢光強度都明顯高於 4 D 及 10 D 組。故雖然三組之藻液均含 A、C、T 峰，但在初始含 DOC 之培養液之 4 D 及 10 D 組，其螢光發射之最高峰會落在 A 或 C 峰

的位置；而在初始不含 DOC 之培養液之控制組，其最高峰會落在 T 峰的位置，仍可做為區別之依據。

三種實驗藻種在培養至第三天時，*O. limnetica* 在三組不同初始 DOC 濃度之 A、C、T 峰的螢光強度皆為最高，*C. vulgaris* 次之，*T. wisconsinensis* 最低。所有需稀釋再測 EEMs 的藻液都可看出除了 A、C、T 峰外，有一短波長 Ex/Em 位置、phenylalanine-like 之螢光發射峰(圖 3-40~3-42，\*10 D 組，第 3 天；圖 3-40，#0 D 組，第 3 天)。



表 3-3 三種藻在三種濃度之 DOC 培養液中，連續培養三天，每日藻液之 EEMs 圖譜的螢光發射峰值變化。

測試藻種	DOC 濃度 處理組	培養天數/ 峰值	0	1	2	3
<i>O. limnetica</i>	#0 D	T	-	22.03	83.09	507.46
		A	89.75	51.72	113.81	446.38
		C	63.90	24.63	89.91	387.29
	4 D	T	27.46	35.75	126.65	703.65
		A	54.67	63.44	178.87	649.28
		C	50.33	55.53	159.99	822.03
	*10 D	T	40.15	45.36	68.96	236.24
		A	15.59	28.21	127.61	405.19
		C	16.37	28.05	107.02	339.75
<i>C. vulgaris</i>	0 D	T	23.13	27.72	93.93	508.13
		A	-	-	-	224.51
		C	-	-	-	118.36
	4 D	T	117.42	117.42	126.98	309.31
		A	86.23	64.37	84.53	667.71
		C	58.35	51.68	61.32	383.71
	*10 D	T	39.51	19.83	-	84.95
		A	15.42	22.80	30.48	60.60
		C	16.02	23.63	24.81	60.63
<i>T. wisconsinensis</i>	0 D	T	71.33	27.51	100.99	236.27
		A	156.86	31.07	30.28	81.16
		C	89.25	20.48	17.70	65.40
	4 D	T	44.78	38.45	80.86	170.40
		A	52.66	61.94	81.60	276.35
		C	44.78	50.90	62.83	194.97
	*10 D	T	41.10	15.93	-	22.28
		A	15.29	24.18	42.50	46.14
		C	15.83	24.61	33.48	35.54

0 D(控制組)、4 D、10 D 分別為 0、4、10 ppm DOC 濃度之培養組。*O. limnetica*：  
*Oscillatoria limnetica*; *C. vulgaris*：*Chlorella vulgaris* Beji.; *T. wisconsinensis*：  
*Tetradesmus wisconsinensis*.

# *O. Limnetica* 之控制組第 3 天的藻液先稀釋 5 倍後再測其螢光光譜。

\*10 D 組第 3 天的藻液皆先稀釋 10 倍後再測其螢光光譜。

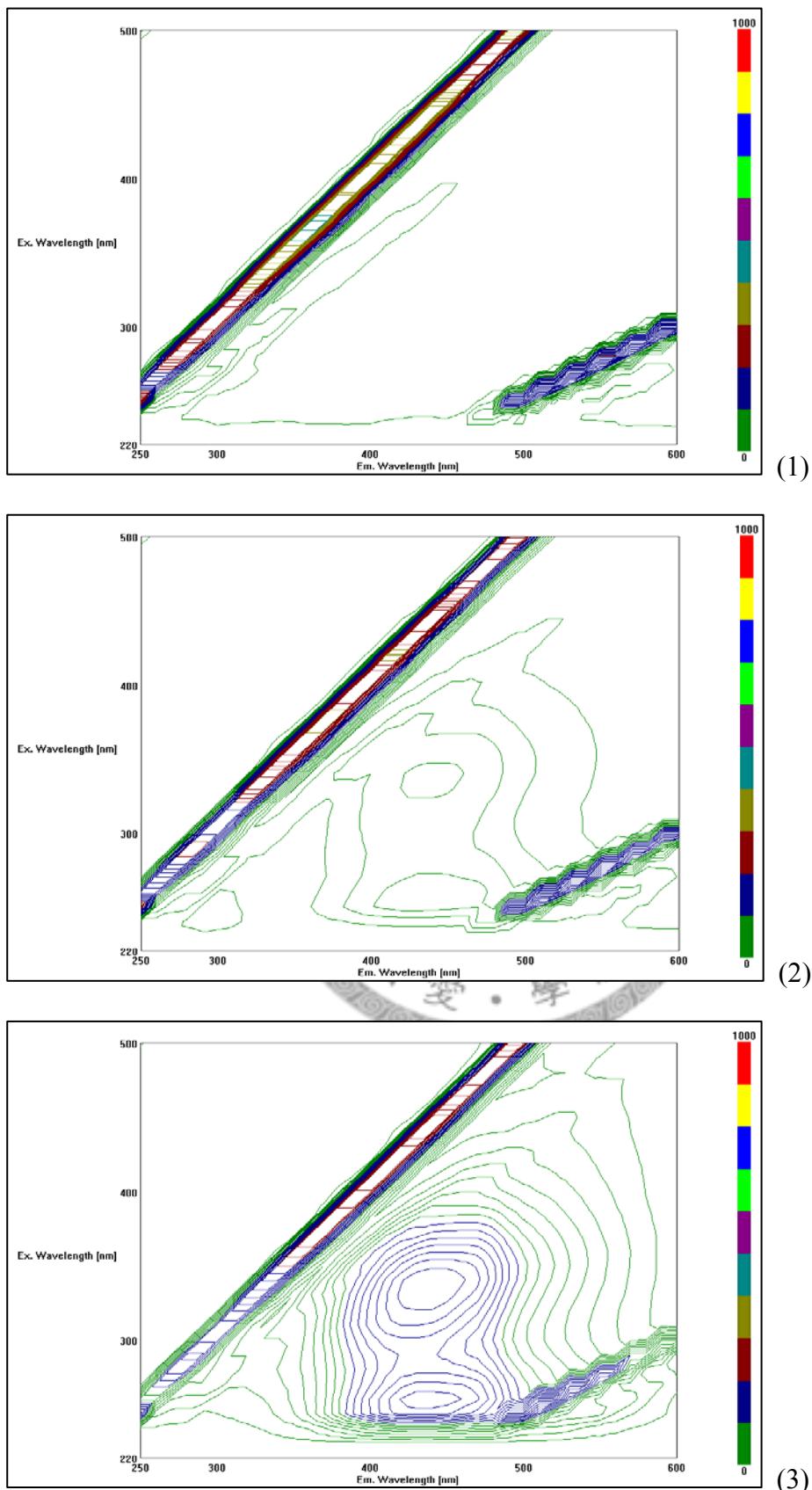
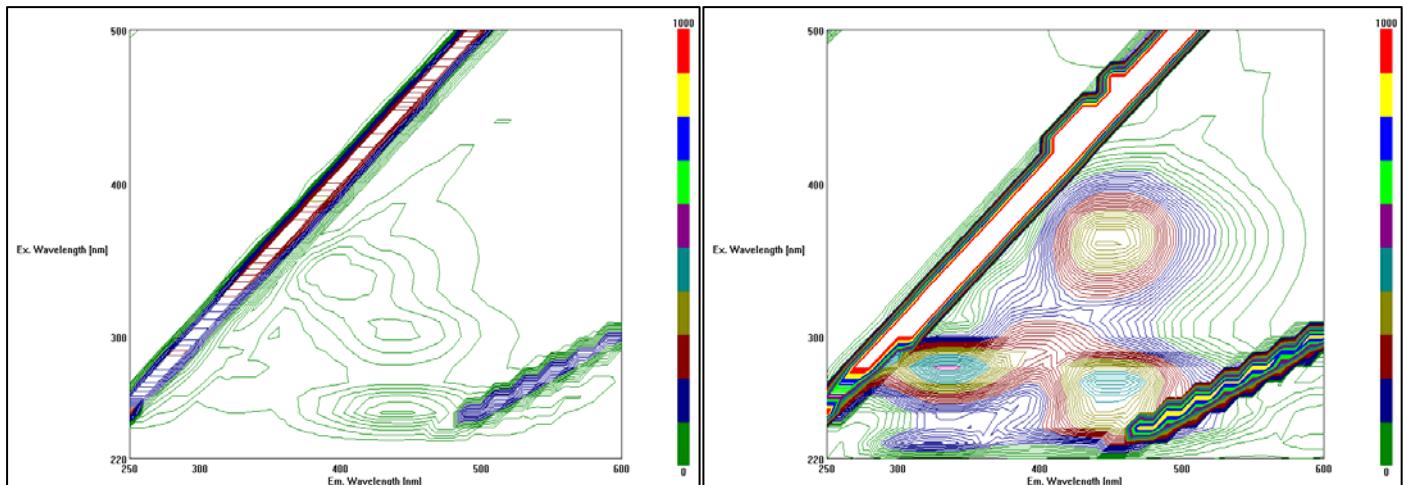


圖 3-39 三種 DOC 濃度培養液之 EEM 圖譜比較

(1) 0 D (控制組), 0 ppm ; (2) 4 D, 4 ppm ; (3) 10 D, 10 ppm 。

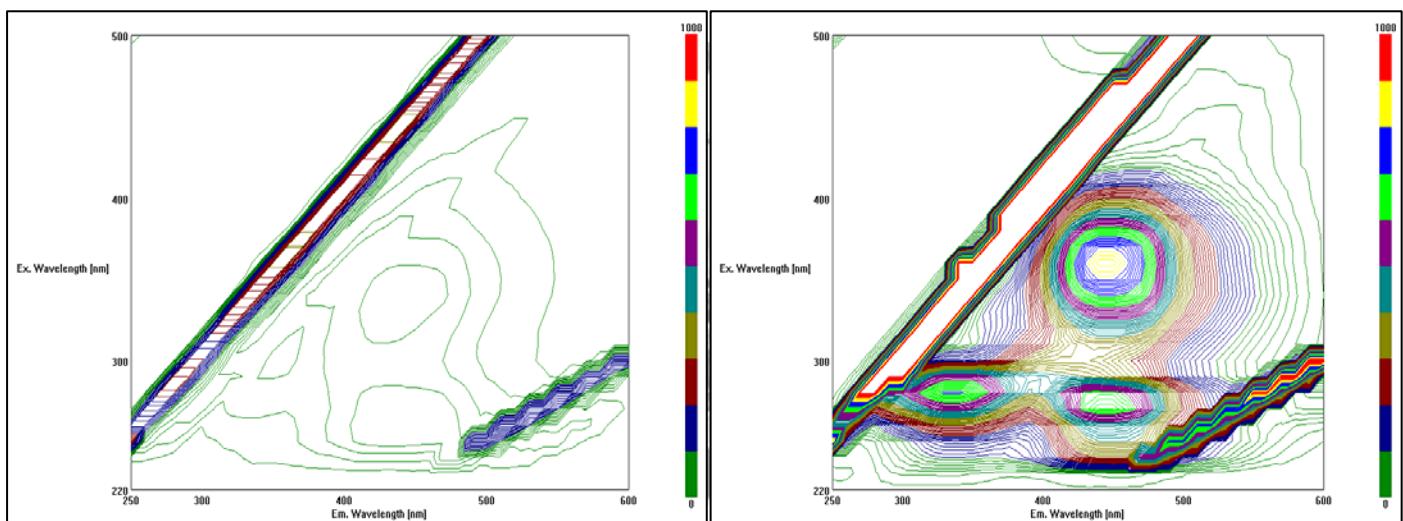
0 D 組，第 0 天

#0 D 組，第 3 天



4 D 組，第 0 天

4 D 組，第 3 天



10 D 組，第 0 天

\*10 D 組，第 3 天

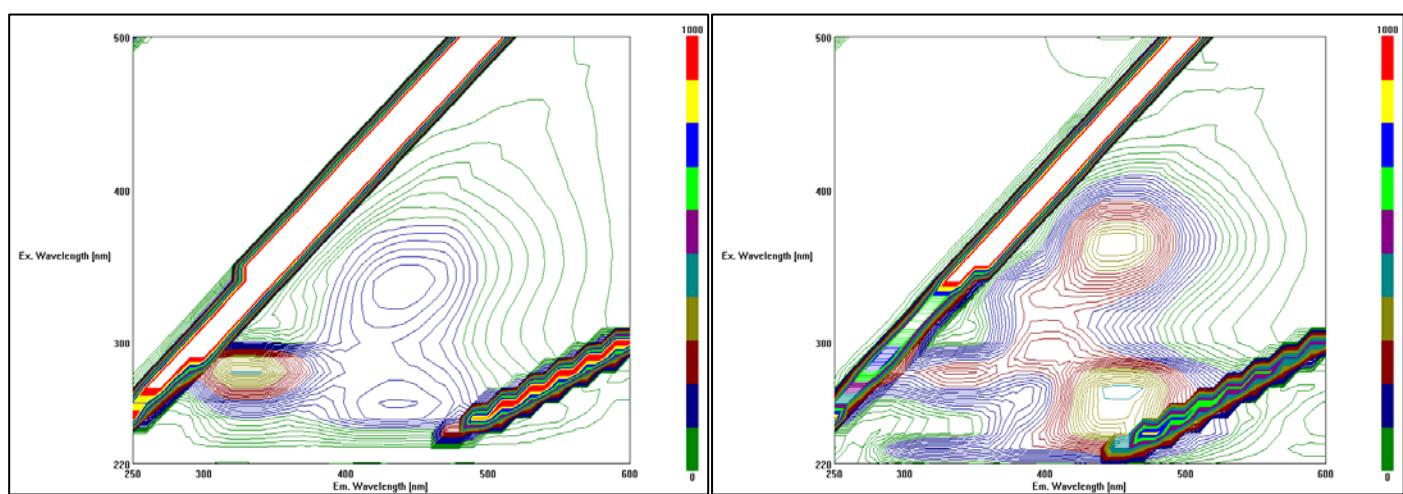
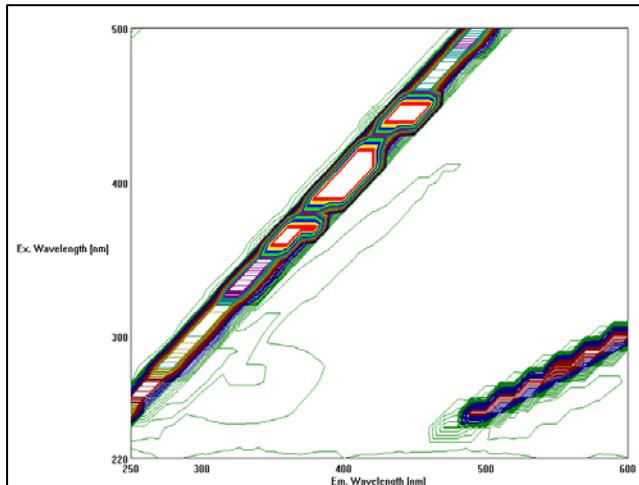
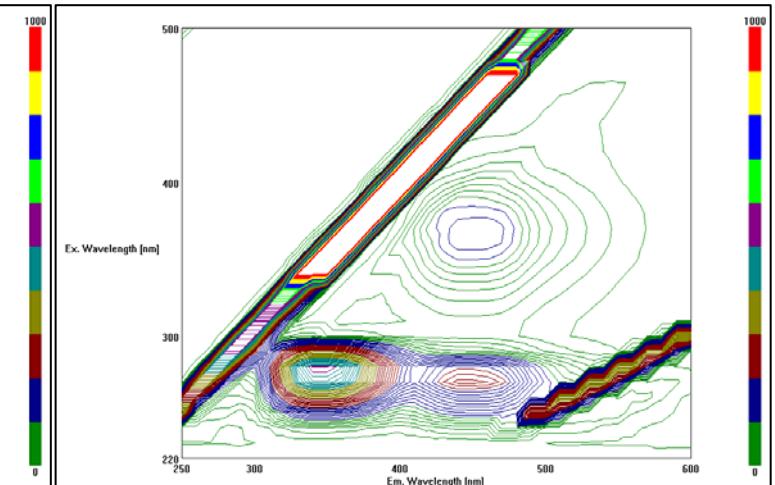


圖 3-40 *O. limnetica* 在三種 DOC 濃度培養液中，第 0 天與第 3 天藻液之 EEM 圖譜比較。#0D 組第 3 天藻液稀釋 5 倍；\*10D 組第 3 天藻液稀釋 10 倍

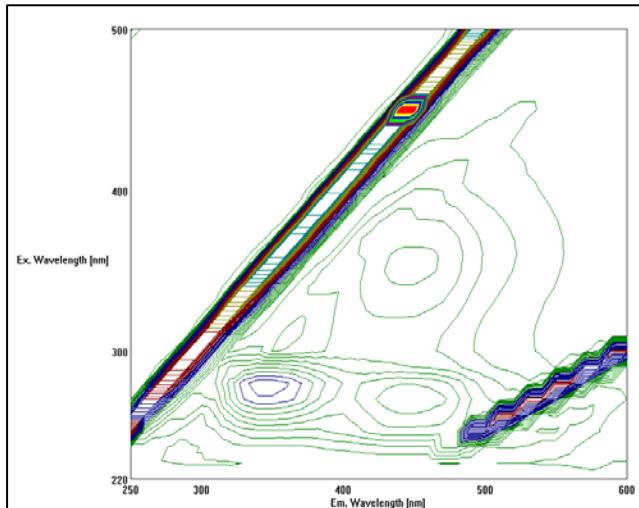
0D組，第0天



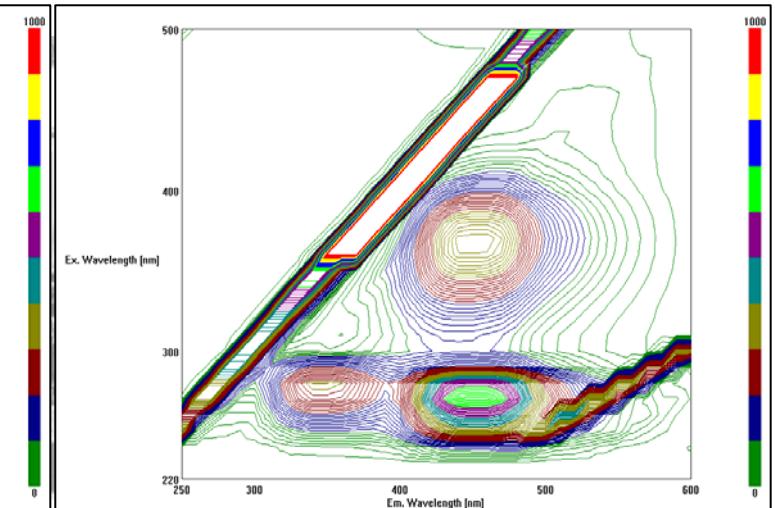
0D組，第3天



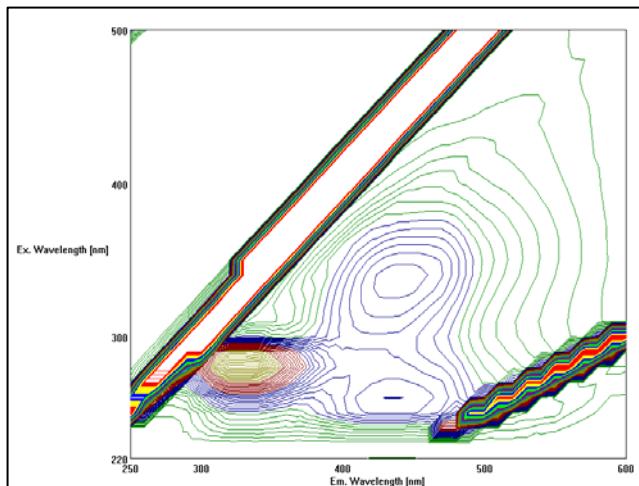
4D組，第0天



4D組，第3天



10 D 組，第 0 天



\*10 D 組，第 3 天

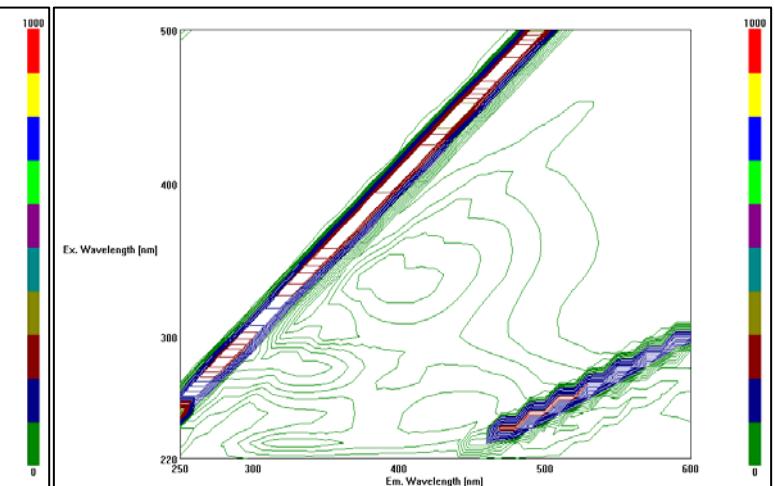
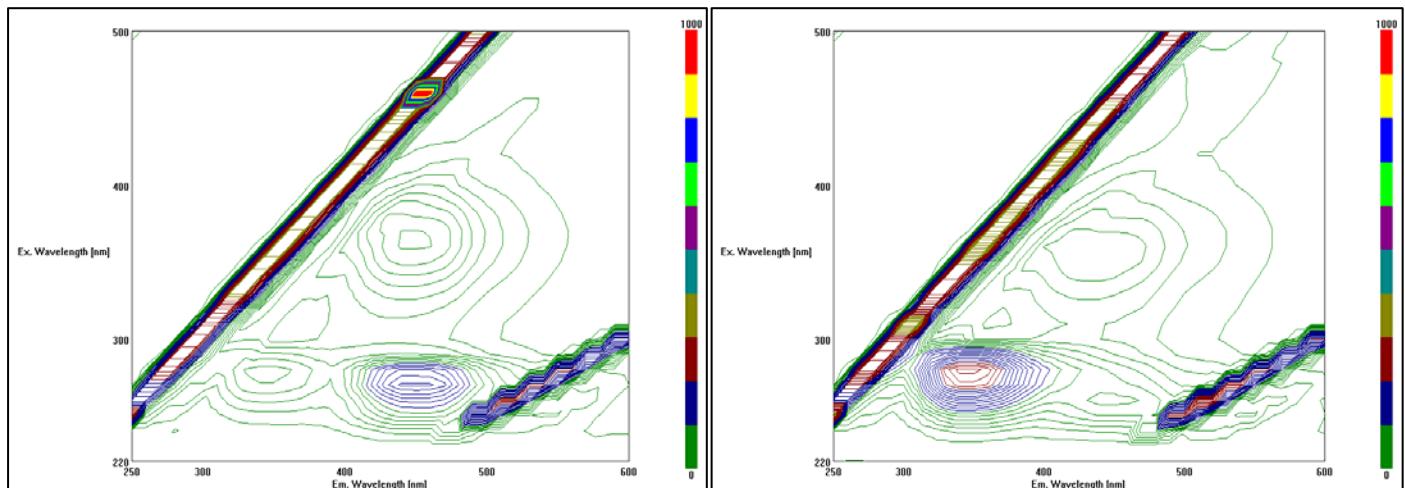


圖 3-41 *C. vulgaris* 在三種 DOC 濃度培養液中，第 0 天與第 3 天藻液之 EEM 圖譜比較。\*10 D 組第 3 天藻液稀釋 10 倍。

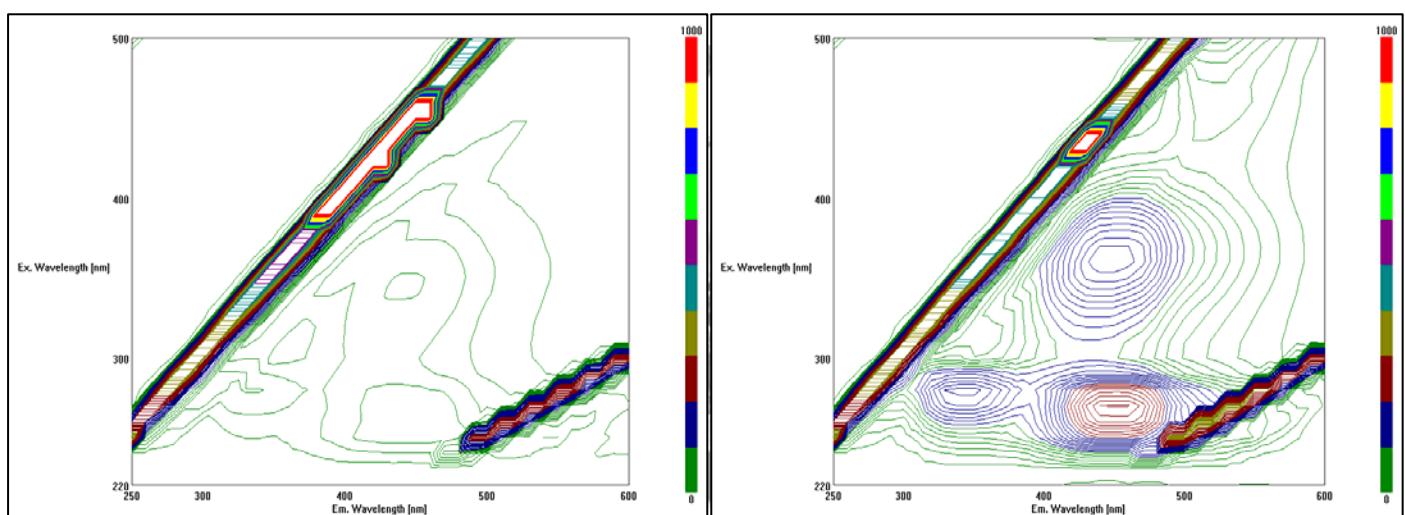
0 D 組，第 0 天

0 D 組，第 3 天



4 D 組，第 0 天

4 D 組，第 3 天



10 D 組，第 0 天

\*10 D 組，第 3 天

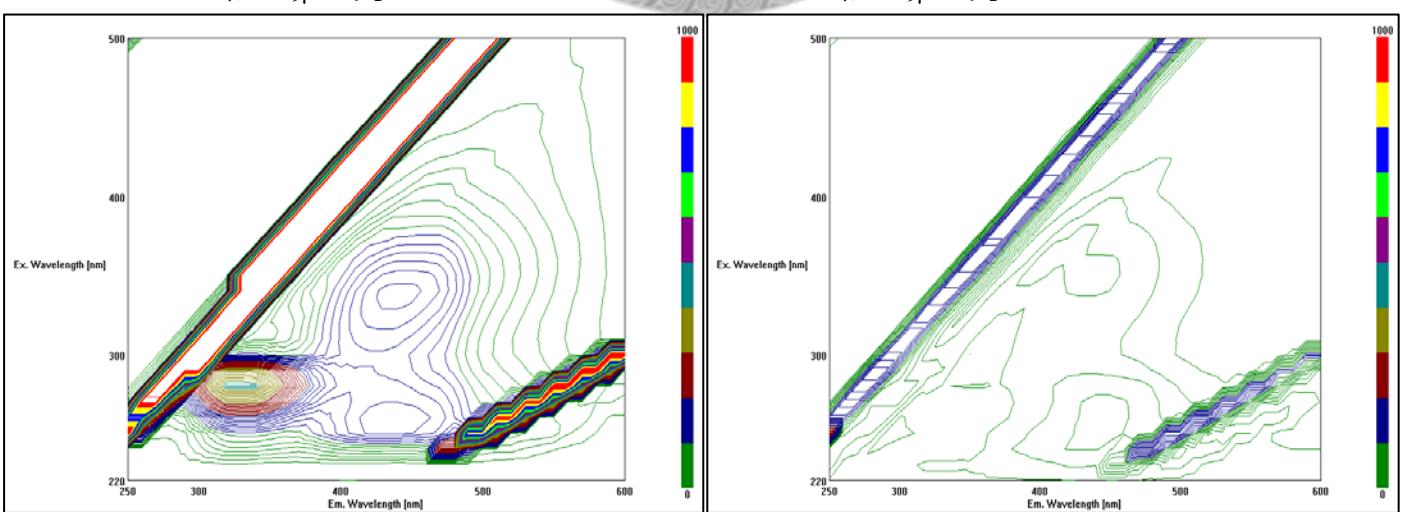


圖 3-42 *T. wisconsinensis* 在三種 DOC 濃度培養液中，第 0 天與第 3 天藻液之 EEM 圖譜比較。\*10 D 組第 3 天藻液稀釋 10 倍。

## 3.6 DOC 分子量的分析

### 3.6.1 各水樣及萃取液之分子量

標準品、各水樣及萃取液在通過 HPLC 管柱、經 UV 偵檢器偵測，幾乎都只出現單一個尖峰訊號(如圖 3-43)，且訊號尖峰之滯留時間(Retention time)皆相當接近。各樣本之重複施打測試，滯留時間誤差皆在 0.02 分鐘之內。利用標準品的單一尖峰代表其最大分子量( $M_p$ )，對應尖峰頂之滯留時間算出分子量之標準曲線，進而推算出各樣本出現不同滯留時間之尖峰所對應的分子量範圍。分子量之單位為 Dalton (Da)。

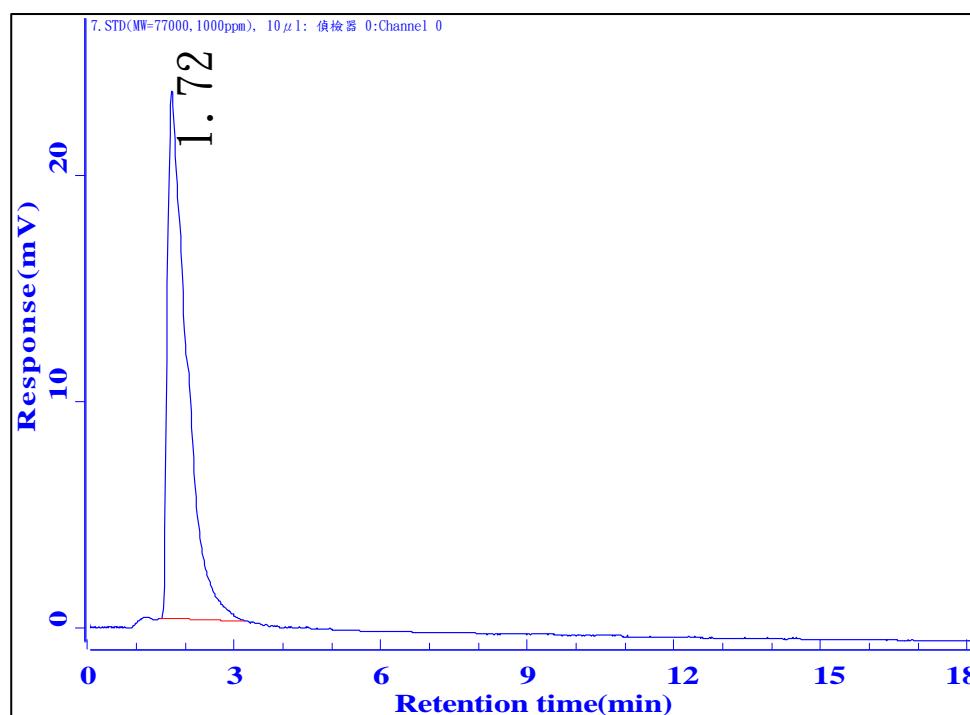


圖 3-43 分子量標準品(77000 Da)之高效液相層析圖  
橫軸為樣品之滯留時間(分鐘, min)，縱軸為吸光值所轉換成之電壓訊號(毫伏特, mV)。

按表 3-4，在淋洗液的部分，本研究用淋洗第 3、第 5、第 8 個月的三種植物淋洗液，以及每 6 天收一次，共淋洗 36 天的蘚短期淋洗液來分析。結果發現：  
1) 在淋洗達第 3 個月時，扁柏之 FA 明顯小於杜鵑及蘚之 FA (ANOVA,  $p < 0.001$ )，後二者差異不顯著(t-test,  $p = 0.116$ )；蘚之 HA 稍大於 FA，但差異不顯著(t-test,  $p = 0.359$ )。

表 3-4 各水樣及萃取液之分子量(單位 : Dalton (Da))

淋洗液	杜鵑	扁柏	蘚
1) FA	1200±100	600±50	1400±100
1) HA	-	-	1500±100
2) FA	1200±100	1100±100	1200±100
2) HA	1100±100	800±100	1300±100
3) 原水	1300±100	1200±100	1600±100
4) 原水	-	-	600±100
			→1400±100
表層土壤	FA	700±100	
	HA	2000±200	
湖心表水	YYL	1100±100~1300±100	
	TFL	800±100~1000±100	
HA(Sigma)		1000±100	
HA sodium salt(Sigma)		1300±100	
藻液(0→3 天)	<i>O. limnetica</i>	450±50 → 300±50	
	<i>C. vulgaris &amp; T. wisconsinensis</i>	450±50 → 500±50	

淋洗液：1) 第 3 個月；2) 第 6 個月；3) 第 9 個月；4) 每 6 天收一次，共收 6 次。

FA：萃取出之黃腐酸；HA：萃取出之腐植酸

YYL：鴛鴦湖；TFL：翠峰湖

HA (Sigma) : Humic acid, No. 53680, Sigma Aldrich, USA

HA Sodium Salt (Sigma) : Humic acid sodium salt, No. H16752, Sigma Aldrich, USA

2) 在淋洗達第 6 個月時，三種植物淋洗液之 FA 無顯著差異(ANOVA,  $p = 0.150$ )；

而扁柏之 HA 明顯小於杜鵑及蘚之 HA (ANOVA,  $p = 0.002$ )，後二者差異不顯著 (t-test,  $p = 0.108$ )。各植物之 FA 與 HA 的差異皆不顯著。

3) 在淋洗達第 9 個月時，蘚淋洗液之分子量明顯大於杜鵑及扁柏(ANOVA,  $p = 0.014$ )，後二者間之差異不顯著(t-test,  $p = 0.379$ )。

4) 每 6 天收一次，共淋洗 36 天的蘚短期淋洗，淋出之 DOC 分子量由小變大。

第一至第六次收集之淋洗液，分子量平均值分別為：600、1100、1100、1200、1300、1400 Da，分子量變大約 2.5 倍。第一次收集之 DOC 分子量顯著小於第二至六次之值。

比較第 3 與第 6 個月的淋洗液(表 3-4, 1)及 2))，各植物所萃取出的 FA 中，

扁柏之分子量明顯隨淋洗設置時間增長而變大(t-test,  $p < 0.001$ )。而比較 1)之 FA 及 3)，蘚在淋洗設置達第 9 個月時，其淋洗液分子量也明顯較大(t-test,  $p = 0.015$ )。

由鴛鴦湖湖區步道旁之表層土壤萃取出的 HA，其分子量顯著大於 FA (t-test,  $p < 0.001$ )，也顯著大於淋洗液之 HA 及 HA 對照品。由表土萃出之 FA 的分子量則明顯小於淋洗液及湖水。而在湖水水樣的部分，比較鴛鴦湖與翠峰湖在 2010/6~9 期間的湖心表水，前者的分子量明顯大於後者(ANOVA,  $p < 0.001$ )，在各別組內則無顯著差異。鴛鴦湖原水之分子量，與各植物第 6 個月之淋洗液萃取之 FA 較為接近。比較從鴛鴦湖湖心表水萃取出之 FA 與 HA，前者之分子量顯著大於後者，且各別明顯分為兩群：前者為 850 Da 及 55000 Da；後者為 200 Da 及 900 Da。而購買的 HA 對照品，其兩者分子量大小無顯著差異、較接近杜鵑及蘚第 6 個月之淋洗液所萃出之 HA。

### 3.6.2 培養藻液之分子量

三種藻在三種 DOC 濃度之培養條件下，起始及培養三天後之藻液都以 HPLC 來測定其分子量的變化，顯示三種藻無論在那一 DOC 濃度，起始及培養三天後藻液的分子量都在約 400 Da 左右(表 3-4、圖 3-44)。各藻在三種 DOC 濃度之藻液分子量皆無顯著差異。各別對 *O. limnetica* 之 0 D 組(控制組)、4 D 組、10 D 組在第 0 天及第 3 天藻液的分子量做 t-test，所得 p 值分別為 0.001、0.016、 $<0.001$ ，顯示只有 *O. limnetica* 在培養三天後，三種 DOC 濃度所培養之藻液分子量皆顯著變小( $450 \pm 50 \rightarrow 300 \pm 50$  Da)。相較於 *O. limnetica*，*C. vulgaris* 及 *T. wisconsinensis* 在培養三天後，藻液之分子量都略為增加( $450 \pm 50 \rightarrow 500 \pm 50$  Da)。

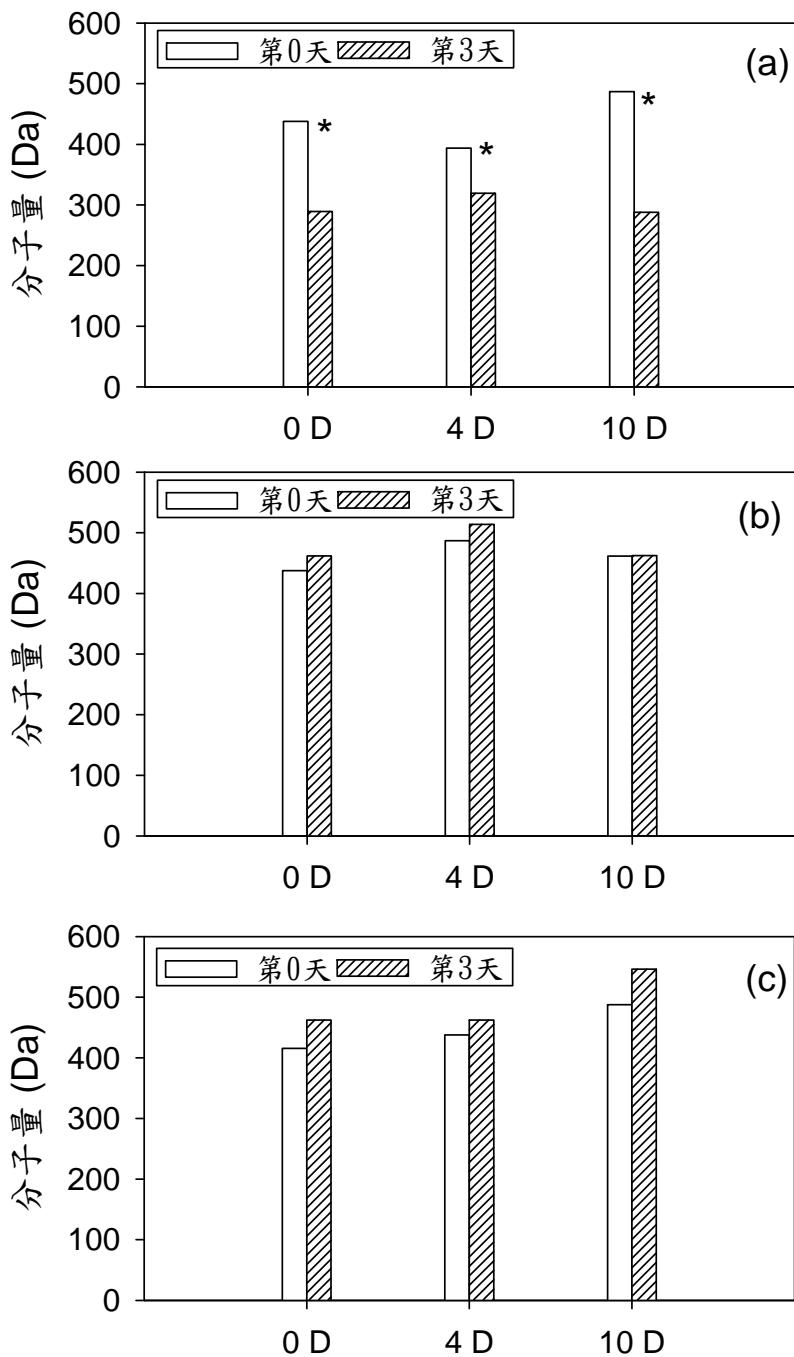


圖 3-44 三種藻在不同初始 DOC 濃度下培養三天，起始與結束培養時之藻液分子量(單位：Da)。(a) *O. limnetica*; (b) *C. vulgaris*; (c) *T. wisconsinensis*。  
0 D、4 D、10 D 分別為初始濃度 0、4、10 ppm DOC 之培養液。

\*有顯著差異。

### 3.7 不同 DOC 濃度對藻類生長的影響

三種分離自鴛鴦湖的浮游藻，在鴛鴦湖湖水的三種 DOC 濃度的培養液中連續培養三天，每天(每 24 小時)測量葉綠素 *a* 濃度一次，結果如圖 3-45 (a)。三種培養液的 DOC 濃度分別為：0、4、10 ppm，以下分別以 0 D 組(控制組，其培養液無 DOC)、4 D 組、10 D 組代稱。以葉綠素 *a* 濃度為指標：

1) 以不同之 DOC 濃度組別來看：三種測試藻種皆為 10 D 組長得最多、4 D 組次之、0 D 組長得最少。故對此三種藻而言，DOC 能促進它們的生長，且濃度愈高藻長得愈多。在無 DOC 之培養條件下(0 D 組)，*O. limnetica* 明顯長得最多。三種藻養至第 3 天之葉綠素 *a* 濃度(ppb)：3896 (O.l.)、1043 (C.v.)、1330 (T.w.)，且其在第 2~3 天之生長速率也明顯最快(ANOVA,  $p = 0.033$ )。4 D 組之葉綠素 *a* 濃度雖然略高於 0 D 組(*C. vulgaris* 及 *T. wisconsinensis*)，但三種藻各自的 0 D 及 4 D 組之葉綠素 *a* 濃度，在培養 3 天後皆無顯著差異(*t*-test 之  $p$  值分別為：0.83 (O.l.)、0.39 (C.v.)、0.63 (T.w.))。10 D 組培養至第 3 天之葉綠素 *a* 濃度(ppb)：4148 (*O. limnetica*)、12257 (*C. vulgaris*)、4522 (*T. wisconsinensis*)，*C. vulgaris* 遠大於另 2 種藻。

2) 以個別之測試藻種來看：*O. limnetica* 的 10 D 組在培養第 0~2 天的葉綠素 *a* 濃度顯著大於另外兩組(ANOVA,  $p < 0.001$ )。*C. vulgaris* 的 10 D 組在培養第 1~3 天的葉綠素 *a* 濃度也顯著大於另外兩組(ANOVA,  $p < 0.001$ )。*T. wisconsinensis* 的 10 D 組在培養第 0~3 天的葉綠素 *a* 濃度也顯著大於另外兩組(ANOVA,  $p < 0.001$ )。

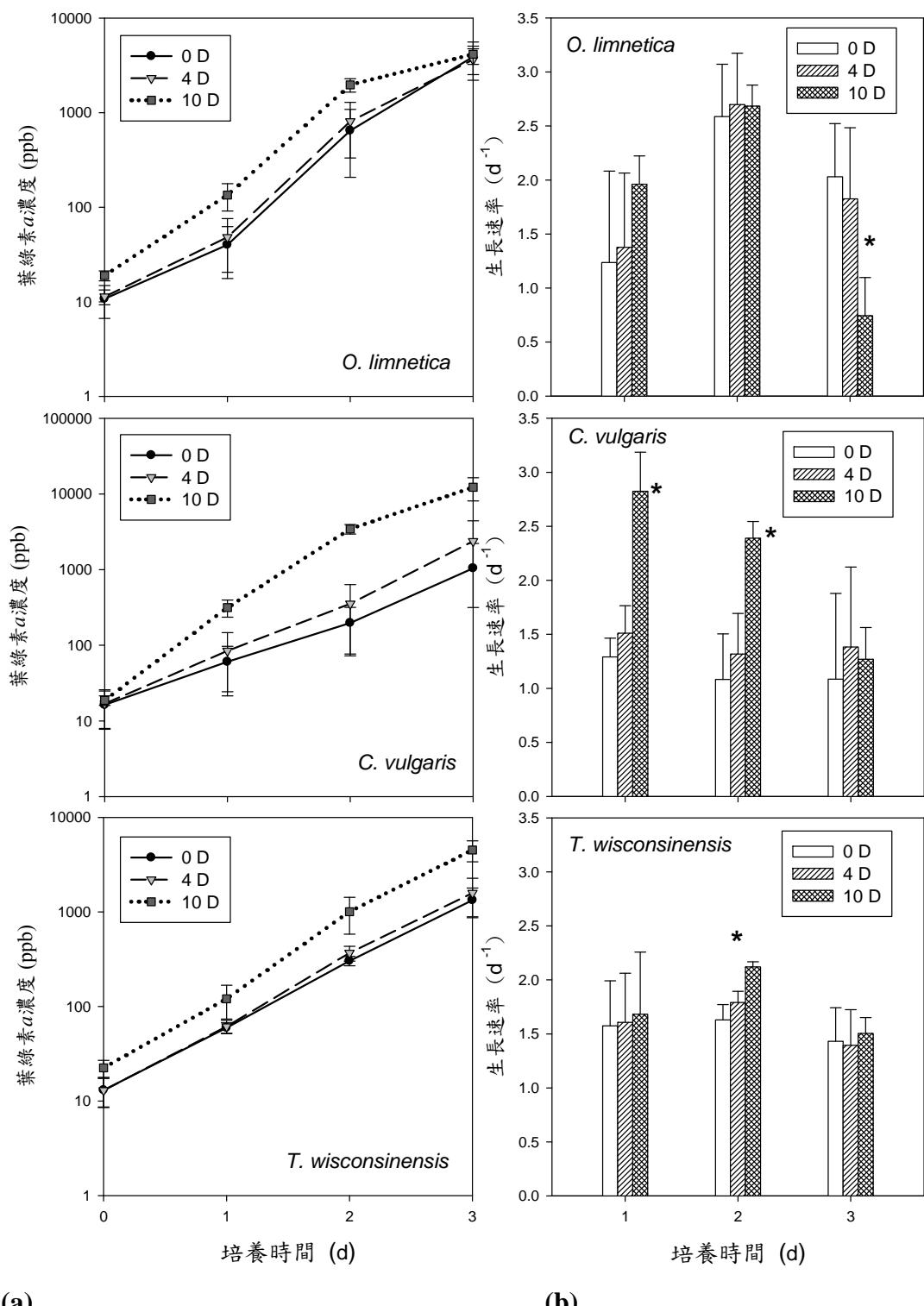


圖 3-45 三種分離自鴛鴦湖之浮游藻在不同 DOC 濃度培養條件下，連續培養三天之(a)葉綠素 *a* 濃度及(b)生長速率變化

0 D (控制組)、4 D、10 D 分別為：0、4、10 ppm DOC 濃度之培養液。

培養之時間單位： $d$  (天，24 小時)。

比較各種藻之生長速率，在三種不同 DOC 濃度之培養下，三種測試藻種皆為 10 D 組生長速率最快，而 0 D 組及 4 D 組除了在第 2 天的 *T. wisconsinensis* 外，皆無顯著差異(圖 3-45 (b))。*O. limnetica* 三組都在第 2 天生長速率最快(t-test,  $p < 0.001$ )，也都在第 3 天生長速率顯著減緩( t-test,  $p = 0.028$ )。*C. vulgaris* 在第 1 天生長速率最快，但只有在 10 D 組的第 1~3 天生長速率顯著依天數而減緩(第 1~2 天，t-test,  $p = 0.006$ ；第 2~3 天，t-test,  $p < 0.001$ )；0 D 組及 4 D 組在第 1~3 天的生長速率皆無顯著差異。*T. wisconsinensis* 的生長狀況與 *O. limnetica* 相似，三組都在第 2 天生長速率最快且皆有顯著差異( t-test,  $p < 0.001$ )；4 D 組及 10 D 組在第 3 天生長速率皆顯著減緩( t-test 之  $p$  值分別為  $0.003$ 、 $< 0.001$ )；0 D 組在第 1~3 天的生長速率皆無顯著差異。



## 四、討論

### 4.1 淋洗液與湖水

#### 4.1.1 pH 值變化

從前人之研究調查結果顯示，鴛鴦湖周圍森林流經附生植物之幹流水、穿落水等淋洗液、以及土壤之 pH 值都很低(周等，1998)，故本研究想進一步對扁柏、林下植物(杜鵑)的凋落物及附生植物(蘚)在野外及室內同時做淋洗測試，欲探討何種植物可能產生較酸之淋洗液。結果顯示扁柏的淋洗液無論在野外或室內其 pH 值都接近中性；蘚在野外的淋洗液，其 pH 值明顯較低；而野外之淋洗對照組(雨水)，其 pH 值也明顯低於室內之淋洗對照組(去離子水)，故推論可能在野外、較偏酸性之雨水淋洗植物時，苔蘚類等附生植物會產生較酸的淋洗液。此呼應先前的研究：苔蘚等附生植物所淋出之淋洗液確實比雨水酸(Wu et al., 2001)，同時此地土壤深厚的有機質層的陽離子交換能力較弱，土壤多呈強酸性(Chen and Chiu, 2000)，對酸性淋洗液的中和影響應不大，因此在扁柏為優勢植被的鴛鴦湖集水區，林下的附生植物(如苔蘚類)的酸性淋洗液，可能是使鴛鴦湖集水區之土壤及湖水偏酸性的主要原因。但本研究所用來淋洗的植物凋落物，絕大部分為樹葉及部分的小枝條，因此也不排除植物其他部位(如樹皮)的淋洗所產生的幹流水、穿落水，或凋落物實際在土壤中分解等所產生的酸液也可能影響土壤及湖水之 pH 值。

對照雨量資料，顯示降雨量較多時(如：2009/9/23~10/20 期間)，各湖水水樣點之 pH 值大都較低；反之(如：2010/3/18~5/20 期間)則 pH 值較高。且測得雨水之 pH 值為 5.13~6.33 (2010/3/18~9/23 期間)，與湖水之 pH 值相關性並不高( $R^2 = 0.6316$ )；當雨水的 pH 值為歷次中最低時(5.13)，湖心表水的 pH 值卻恰為歷次中最高(7.2)。此也呼應前人的研究(Wu et al., 2001)：湖水的 pH 值可能未直接受到雨水的影響，而較有可能是因雨水在湖區陸域上所淋溶出的酸性淋洗液，由土壤

表層流入湖內後使湖水變酸。而當雨量較少時，流入的酸性物質變少；湖中水生植物及藻類行光合作用又使 pH 值上升，使湖水的 pH 值在降雨較少時趨向中性。

#### 4.1.2 吸光值變化

##### 4.1.2.1 水色( $A_{440}$ )

由 Qiu et al. (2005) 在澳洲西南部對四種植物凋落物進行淋洗研究，發現在一開始淋洗約 10 餘天內(稱為‘first flush’，在一星期內下了 38 mm 的降雨量)，每克乾燥植體所淋出的淋洗液，其  $A_{440}$  值約在  $3\sim10\text{ m}^{-1}$  之間，但第 2 個月後都很低，約在  $0\sim1\text{ m}^{-1}$  之間，此實驗結果與本研究相似。但本研究的淋洗室內組，杜鵑及蘚在淋洗將近 400 天時，每月淋洗液之  $A_{440}$  值仍持續波動甚至增加，對照其淋洗出的 DOC 量也呈現相同之趨勢，顯示此二種植物的腐化分解速率仍未穩定。

鴛鴦湖湖水與許多湖泊類似，其  $A_{440}$  值都大於  $2\text{ m}^{-1}$ ，有明顯的水色。然而，在 Pace and Cole (2002) 所研究的 20 個湖泊樣點中，其葉綠素  $a$  值都在  $3\sim24\text{ ppb}$  之間，但鴛鴦湖之葉綠素  $a$  值甚低( $<3\text{ ppb}$ )，表示鴛鴦湖較深的水色可能非來自湖水中的自營性微生物，而是由外源性、陸源性之有機物所造成。相較於採集前一個月的累積雨量，採集前一週的累積雨量與湖心表水之  $A_{440}$  值的相關係數較高，顯示採集前數天之降雨可能較能反應湖水的變動狀況。本研究在 2009/7~2010/9 對湖水的採樣，只有 2010/9 採集的水樣受颱風的影響較大：中颱凡那比於 2010/9/19 侵台，在 2010/9/23 的採集前一週，鴛鴦湖湖區即累積下了 253.5 mm 的雨量，為採樣期間雨量最多的一次。而此次湖水的水色為歷次記錄中最深、DOC 濃度也最高的一次，pH 值也低至 5.64 (圖 3-4、3-10、表 3-1)。顯示颱風所帶來短期之大量降雨可能將大量的 DOC 從集水區的表層有機質土壤沖入湖中，使水色明顯變深、pH 值降低。對照其他月份的雨量，降雨大多為午後雷陣雨，其雨量較大時水色也較深、pH 值較低。而 2009/10 採樣前一個月的累積雨量雖為歷次記錄中最多的一次：芭瑪颱風於 2009/10/5 侵台，東部地區降下豪雨，造成宜蘭地區嚴重災情；但在 10/20 的採集前一週，湖區只下了 79.5 mm

的雨量，故本次採集之湖水水色並沒有明顯變深。先前的研究也指出：颱風所帶入的豪雨，可在一兩天內讓此湖水位上升達 2~3 公尺，隨後在 2~3 天內回復原有水位，造成湖水全面更新的現象( Tsai et al., 2008)。湖區多雨的氣候，加上湖水快速的更新速率，皆顯示採樣前數天的降雨量對湖水水質的影響大，故需仔細評估採樣的時距及每次採樣前的降雨狀況來做資料分析。

雨量與  $A_{440}$  值(水色)的關係可能也會受其他因子影響。然而，依本研究之結果，顯示湖區雨量與湖水的  $A_{440}$  值呈中度之正相關，故可由其關係式，以雨量初步推估鴛鴦湖之水色。

#### 4.1.2.2 芬環化程度(SUVA<sub>254</sub>)

DOC 的芬環化程度高，表示其芬環化合物所占的比例較高，通常被認為有機碳的聚合程度較高、含有較多的腐植物質等( Thurman, 1985)。在本實驗中，雖然第 1、2 個月野外組之淋洗量明顯少於室內組，但兩者淋洗液的 SUVA<sub>254</sub> 值皆很高且無顯著差異，顯示植體所含的高度芬環化有機物大部分易於凋落後的淋洗初期即被沖淋出來。在第 7~12 個月的杜鵑及蘚室內淋洗液中，其 SUVA<sub>254</sub> 平均值皆顯著大於第 2~6 個月之值(t-test,  $p = 0.002, 0.013$ )，顯示杜鵑及蘚隨淋洗時間增長，其淋出的 DOC 芬環化程度愈高，推測其可能為分子量較大、較疏水的腐植物質。

富含腐植物質的湖水，SUVA<sub>254</sub> 值約為  $2\sim 5 \text{ mg}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{m}^{-1}$  (Sachse et al., 2001)；而飲用水水源約為  $1.4\sim 4 \text{ mg}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{m}^{-1}$  (Eish, 2003)。而本研究所測得鴛鴦湖全部湖水水樣之 SUVA<sub>254</sub> 值為  $0.94\sim 4.43 \text{ mg}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{m}^{-1}$ 、湖心表水之值為  $2.83\sim 4.23 \text{ mg}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{m}^{-1}$ ；對照其 DOC 濃度分別為 0.29~0.54 (鴛鴦湖全部湖水水樣)、 $2.99\sim 10.54$  (湖心表水)  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ，顯示鴛鴦湖湖水之溶解性有機碳雖然濃度不高，但芬環化程度卻相當高，亦表示外源性、分子量較大的 DOC 較多(Sachse et al., 2001)。鴛鴦湖湖區在 2010/9/23 採樣前下豪雨，造成此次採集各水樣點之 SVUA<sub>254</sub> 值皆偏低，可能是因在短時間內雨水大量沖淋，使多數湖區陸域的凋落物 DOC 來不及進一步聚合和提高芬環化程度即被沖入湖內，因而影響了 SVUA<sub>254</sub> 值。

相較於鴛鴦湖水樣，本實驗野外及室內組淋洗液的  $SUVA_{254}$  值皆只在第 1 個月才明顯高於湖心表水(杜鵑 22~26、扁柏 8~10、蘚 4~9  $mg^{-1} \cdot L^{-1} \cdot m^{-1}$ )；但自第 2 個月起，杜鵑及蘚的淋洗液  $SUVA_{254}$  值與湖心表水相似，明顯高於扁柏之淋洗液，顯示雖然植體所含高度苯環化的 DOC 大部分在凋落後的初期淋洗即易被沖出，但在凋落物分解速率慢的鴛鴦湖地區(Rees et al., 2006)，植物初凋落而釋出的 DOC 十分有限，持續受淋洗而緩慢釋出高度苯環化之 DOC 的植物凋落物與土壤有機質層，可能才是影響湖水  $SUVA_{254}$  值的主要因子。

#### 4.1.3 凋落物的 DOC 淋洗狀況

比較野外及室內淋洗液，在分別淋洗 6 與 12 個月後，野外淋洗組的扁柏及蘚、室內淋洗組的杜鵑及蘚，每月所淋出之 DOC 含量仍上下波動，顯示植物凋落物在室內或如鴛鴦湖當地的環境中(低溫、低光照、高溼度等)，可能需至少一年以上，甚至數年的淋洗才可使其淋出之 DOC 量降低且穩定。比較野外及室內淋洗液，排除雨量、溫度等環境因子不同等可能造成的差異，可發現杜鵑凋落物以偏中性之去離子水較易沖出 DOC；扁柏及蘚則以偏酸性之雨水較能沖出。此外，不論是野外或室內組，重複樣本間常出現 DOC 量、水色之顯著差異，可能為採集之凋落物大多直接撿拾自湖區陸域地表，無法判斷確切之凋落時間；即使已乾燥、均質化，仍造成重複樣本間的 DOC 含量有明顯差距。對照 Qiu et al. (2005) 的淋洗實驗，其在野外設置只能收集初凋落之落葉的收集網，有效地縮小了凋落物之腐化時間差異；且其進一步考慮當地單位面積之年凋落物量，設置與之等量的凋落物進行淋洗。然而，本淋洗實驗在單位面積所設置之杜鵑及扁柏的凋落物量( $3.2 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-2}$ )約為鴛鴦湖湖區陸域之年凋落物量的 60 倍(根據(周等，1998)及(Rees et al., 2006)的研究：鴛鴦湖地區的年凋落物量約為每公頃 5000 kg；蘚則未有年凋落量之調查)。推測本實驗可能因為堆疊淋洗而造成淋洗瓶中之凋落物淋洗不均勻或不完全，造成重複樣本的淋洗液間之 DOC 值、水色等出現明顯差異。故建議往後相關的淋洗實驗應使用落葉收集網，輔以當地單位面積的年凋落物量

為設置淋洗植體量之依據，並增加每種凋落物之重複組、凋落物與土之共淋洗組進行比較(Qiu et al., 2005)，才可能較貼近實際之淋洗狀況。

此外，本研究使用 Qiu et al. (2005) 對凋落物定量的方法，但高溫烘乾植物凋落物雖能得知凋落物的乾重，進而做較精確的定量設置，但在烘乾的過程中，原本在凋落物上的微生物可能大部分被殺死，因而會降低分解的速率而較不能反應實際腐化分解的狀況。建議改進的方法：將凋落物分別均質化，各帶回少部分測量其含水量來推估其實際乾重，也能對凋落物做定量設置但不破壞其微生物相。

Qiu et al. (2005) 在位屬地中海氣候區的西南澳進行淋洗實驗，相對於鴛鴦湖湖區，前者氣溫較高(冬、夏之日均溫最高分別為  $17^{\circ}\text{C}$ 、 $30^{\circ}\text{C}$ )、雨量明顯較少(年雨量約 800 mm，且集中於秋、冬季，乾溼季明顯)。前者其凋落物受淋洗而產生的 DOC 主要在雨季開始的 40 天內被沖出，其稱作‘first flush’；本實驗(淋洗設置與前者同樣為架空凋落物，單純接受雨水淋洗而未使凋落物浸泡於淋洗液中)無論在鴛鴦湖或室內進行淋洗，於第 1 個月收集時， $A_{440}$  值及  $SUVA_{254}$  值也出現‘first flush’現象，意指只有首次收集之淋洗液，其水色及苯環化程度最高。但本實驗所淋出的 DOC 量並沒有出現‘first flush’；相反地，野外淋洗組反而因第 1、2 個月之雨量少，故三種植物所淋出之 DOC 量皆很低。此應是因為鴛鴦湖湖區多雨，乾季不明顯，故沒有所謂乾季後的第一場雨所造成明顯的‘first flush’的現象。在每月沖淋相同水量的室內淋洗組中，可發現三種植物(以每 g 的乾重計算)每月皆持續淋洗出 1~2 mg 的 DOC，杜鵑及蘚甚至可在幾個月後淋出更多的 DOC，顯示凋落物受淋洗而腐化分解的速率，在鴛鴦湖地區之低溫、高溼的氣候條件下進行得較慢。過去的研究也指出：凋落物的分解速率決定在凋落物的性質及當地的氣候條件(Rees et al., 2006)。此研究在鴛鴦湖地區對扁柏凋落物做的落葉包分解實驗，在經過 469 天後，凋落物只減少了 35 % 的重量；在國外所做的相關研究也指出：即使經過 5 年，類似之針葉樹種的凋落物也只減少了 50 % 的重量(Takeda, 1995)。此結果與本研究也都顯示扁柏的凋落物在當地氣候條件下分解速率緩慢。

Qiu et al. (2005) 提到「淋洗」 (leaching) 應包括「分解」 (decomposition) 及

「溶出」(dissolution)二過程。由本研究得知，較多的淋洗量雖有可能沖淋出較多量的 DOC，但短時間內凋落物能分解並被沖淋出的 DOC 量仍有限。

凋落物若與土壤發生交互作用，其淋洗出 DOC 的時間可能會延遲，例如 Qiu et al. (2005)發現若凋落物與土壤一起淋洗，其淋洗出最高量 DOC 的時間點會較單純凋落物淋洗延遲約兩個月，且淋洗出之 DOC 量會比單獨淋洗凋落物及土壤之總和來得少，而且 DOC 之結構等性質可能會進一步轉變。此可能為土壤中微生物對 DOC 的分解或 DOC 與土壤進一步形成其他的聚合物等之作用。若再考慮與土壤之交互作用，其影響因子則更為複雜，故本研究僅對凋落物進行淋洗。若欲更瞭解土壤因子的影響，應增加野外現地凋落物與土壤共同淋洗等實驗。

在鴛鴦湖湖區的低溫、高溼氣候下，植物之凋落物在土壤中可能因為分解慢，大部分變成腐植物質而儲存於土壤有機質層，而隨著雨水的淋洗被沖入湖水中。先前的研究指出，鴛鴦湖在進入高降雨量的颱風季時，其湖水的 DOC 濃度也顯著變高(Tsai et al., 2008)；而本研究也發現湖區的降雨量與湖水之 pH 值、水色、DOC 濃度皆有高度之相關性。由此推論：短期之大量降雨(如颱風)可能無法加快凋落物分解，但可能自土壤有機質層、附生植物之基質中沖淋出大量的 DOC，使其進入湖中而影響湖水之 pH 值、水色等。

## 4.2 DOC 的螢光激發—發射矩陣光譜(EEMs)與分子量的關係

根據前人之研究(表 2-1)，EEMs 圖譜的 A、C 峰的位置及強度一般可以顯示有機物，特別是溶解性有機碳中的腐植物質：黃腐酸(fulvic acid, FA)及腐植酸(humic acid, HA)的結構及成分。若 A、C 峰愈明顯，則顯示該 DOC 較偏向外源性(allochthonous)、植物性(plant-derived)之來源，可能富含分子量較大、聚合程度較高、較疏水性之腐植物質。此外，一般認為 HA 的 DOC 聚合程度較高、較疏水性、分子量較大，其 EEMs 圖譜之螢光發射峰的 Ex/Em 波長都較 FA 來得更高(較偏 EEMs 圖譜的右上方)。而與之相對的，若 B、T 峰愈明顯，則顯示該 DOC

較偏向內源性(autochthonous)、微生物性(microbial-derived)之來源，可能富含分子量較小、較親水性的含苯環之胺基酸。

#### 4.2.1 淋洗液

本研究之淋洗實驗中，杜鵑及蘚淋洗液之 EEMs 峰位置及分子量都與湖心表水較相似，有明顯之 A、C 峰。杜鵑在淋洗初期有 B 峰但比 A、C 峰之峰值弱很多。扁柏淋洗腐化過程中所產生小分子量的 DOC 最多；而蘚則幾乎一開始就產生較大分子量之 DOC。在淋洗 63 天後之扁柏淋洗液仍出現 B、T 峰，且分子量也明顯較杜鵑及蘚小，顯示其凋落物在淋洗腐化的過程中除了淋出腐植物質外，也較易持續分解出 tyrosine、tryptophan 等含苯環、較小分子之有機物，且後者之量可能多於前者(圖 3-25)。對照組(雨水及去離子水)的淋洗液中也有些微之 B、T 峰，可能為外界環境中的細菌、真菌或藻類等微生物，在淋洗液中生長而貢獻的小分子苯環胺基酸等有機物。

當凋落物設置較久，其淋洗液之 DOC 皆無 B、T 峰，而偏向單一之 C 峰，且杜鵑和蘚淋洗液之 C 峰的 Ex/Em 位置都往較長波長處移動，接近 FA 與 HA 之發色團位置的交界(圖 3-26~3-28)。此呼應了前人的研究：Ex/Em 位置之紅位移(峰值位置往較長波長之 Ex/Em 處移動)，表示 DOC 之分子量變大、較偏疏水性等性質(Sierra et al., 2005)。對照本研究之分子量分析，也證實對杜鵑、蘚之淋洗所產生的 DOC 從分子量較小、較親水性，隨著設置時間愈久而逐漸淋出分子量較大、較疏水性之有機物。扁柏在受淋洗近 300 天後 EEMs 之圖仍有 A、C 兩峰，分子量也仍小於杜鵑及蘚，顯示其淋洗出之 DOC 較無明顯之變化。而在只對蘚淋洗 36 天、每 6 天收集一次之短期淋洗實驗中，可以看到其淋洗液之 DOC 無論在 EEMs 圖譜或分子量大小之連續變化都呈現相同的趨勢：從 B、T 峰峰值較高、在 12 天後快速遞減而只剩下 C 峰，同時分子量也從小變大。此顯示在淋洗初期，三種植物凋落物先被沖淋出來之 DOC 以分子量較小、富含苯環之胺基酸等有機物為主，可能易被微生物所分解；而淋洗數月後所淋出之 DOC 則以分子量較大、較不易被微生物分解的腐植物質為主。此可與前人的研究相應證：在鴛

鴛鴦湖的湖周森林所做的扁柏枯落物分解實驗顯示：扁柏凋落物在分解初期所產生的 DOC 較能被微生物分解而較快被礦化(mineralized)；凋落愈久所淋出的 DOC，其生物可利用性(bioavailability)愈低(Rees et al., 2006)。

#### 4.2.2 表土之 HS 萃取液

本研究從表土中萃出之黃腐酸(FA)，其 EEMs 圖譜與鴛鴦湖湖心表水相似，有明顯的 A、C 峰；從表土中萃出之腐植酸(HA)，其 EEMs 圖譜只有 C 峰及更長波長 Ex/Em 位置之峰，顯示湖心表水 DOC 的性質較接近分子量較小、較親水性的腐植物質——黃腐酸。此外，本研究測量鴛鴦湖湖水的 DOC，其分子量(1100~1300 Da)介於本研究從土中萃出的腐植物質(700~2000 Da)之間。對照先前的研究：鴛鴦湖集水區深厚的有機質層下方為不易滲水的黏土礦物層(Chen and Chiu, 2000)，因此本研究推論在此集水區的水流路徑大部分經過表土有機質層而逕流入湖中，而此正可呼應土壤有機質層中含量豐富、較接近湖水分子量的黃腐酸，可能為湖水 DOC 的重要來源。

#### 4.2.3 湖水

無論各入水口之表水是否有較明顯之 B、T 峰訊號，在湖心、出水口所採之水樣皆含有明顯的 A、C 峰。對照 Coble (1996)的研究顯示，深層富養份的海水及富含陸源性有機質的河水，其 EEMs 圖之 A、C 峰明顯、含有較多的苯環結構，故本研究所採的鴛鴦湖湖水之 DOC 主要應為外源性、陸源之有機物所貢獻；其可能含有較多的苯環結構，也符合本研究所測得湖水之高  $SUVA_{254}$  值。而在此二水樣點幾乎看不到有明顯之 B、T 峰值，可能表示內源性的 DOC 很少；或即使有，在湖水中可能很快就被分解利用。在 2009 年 12 月、2010 年 1、3、5 月，湖心表水的 EEMs 圖譜皆出現較明顯之 B、T 峰訊號，對照雨量資料都是在雨量較少的時期(如圖 3-38)。此可能表示在雨量較少時，外源性之 DOC 變少，而內源之 DOC，如分子量較小之苯環胺基酸含量可能相對變得較多。再比較鴛鴦湖

與翠峰湖的湖心表水，前者 DOC 的分子量明顯大於後者(ANOVA,  $p < 0.001$ )，在各別組內則無顯著差異。此顯示在 2010/6~9 期間，兩湖各自之 DOC 分子量大小變動不大，而翠峰湖之 DOC 分子量較小，且其 EEMs 圖有較明顯之 B、T 峰，顯示可能其內源性、微生物來源之 DOC 比例較高。此可由對照實際的情況來解釋：翠峰湖雖然湖周之優勢植被與鴛鴦湖同為檜木林，但前者沒有出水口，湖水無法置換、更新，且其無機營養鹽濃度、湖水之初級生產力也都較鴛鴦湖高。在微生物如藻類等之量較豐的情況下，確實翠峰湖 DOC 之分子量較小且 EEMs 之 B、T 峰較明顯。

此外，鴛鴦湖之水樣點皆未出現比 C 峰更偏長波長 Ex/Em 位置之 Em 發射峰值(即 Sierra et al. (2005)所標記的類 HA 之螢光發色團)：其 DOC 具有分子聚合程度較高、較偏疏水性、高度苯環化等性質。湖水之 DOC 皆無此類螢光發色團，可能與湖水的流動、置換速度較快有關；雖其 DOC 大部分為陸相、植物性之來源，但表層水樣的 DOC 在短時間之內未見其聚合分子量較大、較疏水性的 HA 分子，而大部分仍以較低分子量、較親水性的 FA 存在。另有研究指出，可能分子量較大之 DOC 較易聚合而沉積於水層底部(Schulter and Leineweber, 2000)，據此，底層湖水及湖中沉積物之 DOC 性質值得進一步探討。

#### 4.2.4 培養之藻液

各種藻的 0 D 組及 4 D 組之藻液在第 0 天培養時，A、C 峰位置之螢光強度即明顯高於原培養液，且峰值都隨培養天數而增加，顯示養藻之過程中，藻類本身也會產生很多類似 HS (主要為 FA-like peak)之 DOC (圖 3-39~3-42)。但若原培養液未含 DOC，在其中培養之藻液則仍以 T 峰增加最多，顯示藻液本身仍以內源性之 DOC 為主。雖然在 A、C 峰上無法區分湖水之 DOC 與藻本身或其分泌之 DOC，但可看出 4 D 組及 10 D 組之 A、C 峰之螢光強度，在培養 3 天中的增加速度及第 3 天之值都明顯高於 0 D 組，表示藻類可能會利用鴛鴦湖中的 DOC，或鴛鴦湖中的 DOC 能促使藻類生長，進而使其產生更多類似 HS 之 DOC。三種

實驗藻種之控制組皆明顯有類微生物來源之 T 峰，且其螢光強度都明顯高於 4 D 及 10 D 組。故雖然藻液皆含 A、C、T 峰，但在初始含 DOC 之培養液之 4 D 及 10 D 組，其螢光發射之最高峰主要落在 A 或 C 峰的位置；而在初始不含 DOC 之培養液之控制組，其最高峰會落在 T 峰的位置，據此可作為區別之依據。只有在雨量少時其內源性、微生物性來源之 B、T 峰才較明顯。三種藻皆在培養中出現 T 峰，但只有 *O. limnetica* 的 0 D、4 D 及 10 D 組在培養三天後分子量明顯變小。對照各藻之 0 D、4 D 及 10 D 組(表 3-3)，其 T 峰之發射螢光值在培養的第 0 與第 3 天所增加之倍率以 *O. limnetica* 最多，*C. vulgaris* 次之，*T. wisconsinensis* 最少。此可能因為 *O. limnetica* 之分子量變小最明顯，故其 T 峰之增加幅度也最明顯。

#### 4.2.5 萃取液與原水

經稀釋後的表土 HA 萃取液，其螢光發射峰值高於稀釋前的樣本(圖 3-31 vs. 32)，推論可能為溶液中的其他溶質吸收激發光或發射出的螢光，產生內濾效應(inner-filter effect)，造成測得的螢光強度偏低(Senesi, 1990)，且溶液中過高的離子濃度還可能使 EEMs 峰值往較長波長位置之 Ex/Em 方向偏移(Gueguen et al., 2005)。在實驗操作上，為了使原水樣能快速測量，因此僅能對過高濃度的水樣進行稀釋，以減低內濾效應對光譜所造成的影响；但對於過高的離子濃度，除非利用分子篩去除過多鹽分，否則難以排除高離子強度對光譜特徵的影響(劉，2007)。

本研究所採集之淋洗液、土壤以及湖心表水以 IHSS 建議之標準萃取方法來萃取腐植物質(HS)，結果證實與先前的研究相同：DOC 大部分為腐植物質。在本研究中，淋洗液中約有 75% 的 DOC 為腐植物質。而本研究分離 HS 中的黃腐酸(FA)及腐植酸(HA)，由 HPLC 之分析顯示：杜鵑、扁柏、鴛鴦湖湖水的 FA 之分子量皆大於 HA；對照 IHSS 所提供的腐植物質標準品資料：同一 DOC 所萃得的 FA，其分子量皆小於 HA。推測本實驗可能因絕大部分的淋洗液及湖水所萃

得的 HA 皆很少，故可能參雜 FA，甚至即為少量的 FA。在過去許多的研究中顯示：HA 的分子量稍大於 FA，但兩者的分布範圍有所重疊(Steinberg, 2003)。故若其中一方的含量很低，則的確可能會被另一方的測值蓋過。而在本研究所萃得含較濃、明顯呈現淡褐色 HA 萃取液的蘚及土壤，其 HA 之分子量測值大於 FA，顯示在 HA 含量較多的蘚及土壤萃取液才較能看出其 HA 與 FA 不同的性質(如分子量較大、EEMs 峰偏右上方等)。

### 4.3 DOC 濃度與藻類生長的關係

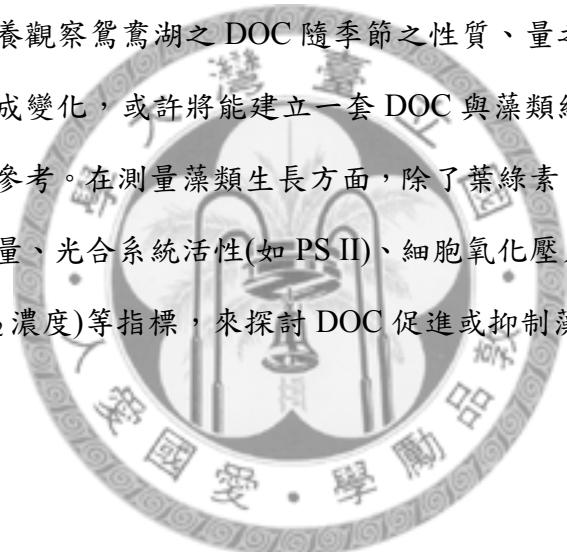
本研究以鴛鴦湖之相同一批的原水配製成不同 DOC 濃度之培養液，在實驗室以相同之培養條件下對三種同樣分離自鴛鴦湖的藻類做培養試驗，結果顯示三種藻皆在 DOC 濃度愈高的培養液中長得愈多，尤其各藻之 10 D 組，其每天的葉綠素 *a* 濃度幾乎都顯著大於 0 D 及 4 D 組；而 *C. vulgaris* 及 *T. wisconsinensis* 之 4 D 組的葉綠素 *a* 濃度雖然略高於 0 D 組，但差異不顯著，顯示湖水之 DOC 濃度可能至少需高於 4 ppm 才會對此三種藻之生長產生顯著的影響。此三種藻在培養液不外加 DOC 之培養條件下(0 D 組)，*O. limnetica* (藍綠藻)明顯長得最多，第 2~3 天之生長速率也明顯最快；另外二種測試藻種 *C. vulgaris* (綠藻)及 *T. wisconsinensis* (綠藻)則在葉綠素 *a* 濃度及生長速率上皆無顯著差異。此顯示本研究所分離純化之藻種中，藍綠藻與二種綠藻之生長速差異較大，而二種綠藻之間的生長速度並無顯著差異。在培養液含鴛鴦湖之 DOC 時，*O. limnetica* 在第 3 天之生長速率(10 D 組)達最頂峰。*C. vulgaris* 在此三種藻中，於較高 DOC 濃度培養下有最大之生長潛力：其 10 D 組培養至第 3 天之葉綠素 *a* 濃度遠大於另二種藻。此顯示在其他環境因子相同之情況下，若鴛鴦湖之 DOC 濃度愈高，則此三種藻中 *C. vulgaris* 可能長得最多、最快。

根據鴛鴦湖湖區之長期監測資料顯示，除了少數幾個月之極端值，鴛鴦湖之湖心表水的 DOC 濃度大都在 2~12 ppm 之間，故本研究選擇在其區間之 4 ppm

及 10 ppm 來模擬湖水之不同 DOC 濃度來培養藻類。實驗結果雖顯示三種藻皆在 10 ppm DOC 時生長最多，但 2010 年 1 月所採集的湖心表水本身可能就含有較有利於藻類生長之 DOC，在 10 ppm DOC 時尚未見抑制此三種藻類生長之 DOC 濃度。在 Prakash and Rashid (1968)的研究中指出，在特定範圍內的 DOC (此篇探討其中的 HA)，其濃度愈高，可促進二同屬不同種的浮游性甲藻生長，且此二種甲藻在不同 DOC 濃度中生長速率也明顯不同。對照此研究，本研究後續可以更多的 DOC 濃度來對藻類做測試，同時可能需以不同月份或季節所採集之湖心表水來加以比對，並且對湖心表水之 DOC 做進一步之化學分析，可能較能了解湖水 DOC 中影響藻類生長的化合物及其作用機制。另外，由於湖水本身所含之無機鹽類(尤其是重要的藻類生長限制因子：硝酸鹽類及磷酸鹽類)的濃度很低，將湖水濃縮後其濃度仍遠小於添加之營養鹽(硝酸鹽濃度(ppm)：湖水與添加值各為 0.42 與 620；磷酸鹽濃度(ppm)：湖水與添加值各為 <0.1 與 77.9)，故湖水濃縮所造成之影響可略。但若能確保萃取之品質，則可萃取出湖水之 DOC，將其乾燥後進一步做定量添加，以排除湖水中除了 DOC 以外的物質之影響。

以不同性質或濃度之 DOC 對藻類等生物做培養實驗時，若 DOC 本身含菌，也可能對實驗造成干擾，例如 Körner and Nicklisch (2002)以不同種之水生植物對藻類進行生長抑制之實驗，結果發現細菌可能會影響半透膜的通透性，故每批次培養測試都只進行三天，使細菌的干擾減至最低。Gross et al. (1996)也發現在培養液中，不同的細菌能將 DOC 分解成不同之化合物。為了控制變因，本研究全程在無菌的狀態下培養藻液。為使 DOC 性質不因高溫而變性，故以 0.22  $\mu\text{m}$  孔徑之濾膜濾除培養液中的細菌，但此可能損失大小在 0.22~0.45  $\mu\text{m}$  之間、「膠體狀」(colloidal)之有機物(Gorski et al., 2008)。而大小在 0.0015~0.45  $\mu\text{m}$  之間的 DOC 被認為易與水中其他離子進行錯合作用，故在同時含 DOC 及高濃度營養鹽之培養液中，少部分之 DOC 有可能先和部分離子發生錯合反應而被濾除，因而可能導致 DOC 濃度及營養鹽濃度之改變。若將 DOC 及營養鹽各自過濾後再混合均勻，可能較不會影響其原濃度。

無論在野外或於實驗室內培養，都有許多環境因子可能影響藻類之生長。本研究以同一來源、不同濃度之 DOC，對不同藻種進行培養。不同於前述 Körner and Nicklisch (2002) 只培養 3 天的理由，本研究所分離純化之 3 種藻都長得很快，故只培養 3 天以減低藻類因數量過多而造成營養鹽不足、產生遮蔽效應而使光照量減低、有害代謝物增加等影響。但此 3 種藻可能因為在營養鹽充足的情況下都長得很好，有無 DOC 反而可能不是影響其生長之主要因子。而未來除了探討 DOC 此變量，可能需進一步在野外做現地培養(*In situ*)，以及在實驗室中模仿鴛鴦湖環境：低營養鹽濃度、低光照、低溫等培養條件，以及增加探討鴛鴦湖之其他含量豐富的藻種(如矽藻)，來檢視何者可能為主要限制此湖中藻類數量之重要因素。若能在現地培養觀察鴛鴦湖之 DOC 隨季節之性質、量之變化，及湖水中相對應之藻類群集組成變化，或許將能建立一套 DOC 與藻類組成之對照表，作為此中高海拔湖泊之參考。在測量藻類生長方面，除了葉綠素 *a* 濃度，可能需進一步量測藻之細胞數量、光合系統活性(如 PS II)、細胞氧化壓力(Sun et al. (2005)，測量細胞內之  $H_2O_2$  濃度)等指標，來探討 DOC 促進或抑制藻類生長之機制。



## 五、結論

1. 由杜鵑、扁柏、蘚凋落物之淋洗實驗得知，植物在凋落後之淋洗初期，其所含高度苯環化之 DOC 即大部分被沖淋出來，且其水色深、含較多小分子量、較親水性的苯環胺基酸，較易被微生物分解；而植物凋落較久所淋洗出的 DOC，以分子量較大、較疏水性、較難被分解的腐植物質為主。在本研究中，淋洗液之 DOC 大部分(約占 75%)為腐植物質。凋落物在淋洗約 400 天時，淋洗液的水色仍持續波動甚至變深，對照其淋出之 DOC 量也呈現相同之趨勢，顯示在鴛鴦湖湖區的氣候條件下，凋落物腐化分解作用緩慢。在扁柏為優勢植被的鴛鴦湖集水區，林下的附生植物(如苔蘚類)受酸雨淋洗所產生更酸的淋洗液，可能是使此地區土壤及湖水偏酸性的主要原因。

2. 由腐植物質萃取實驗及螢光光譜圖(EEMs)得知，湖心表水之 DOC 以外源性、較親水性之 FA 為主。因為鴛鴦湖集水區深厚的有機質層下方為不易滲水的黏土礦物層，故集水區的水流路徑應大部分為經過表土有機質層而逕流至湖中；土壤有機質層中含量豐富、較接近湖水分子量的黃腐酸，可能即為湖水 DOC 的重要來源。杜鵑、蘚凋落物之淋洗液，其 pH 值、DOC 分子量及螢光光譜(EEMs)與湖水較為接近，顯示林下灌木或苔蘚等附生植物之淋洗液可能為土壤有機質層中的黃腐酸的重要來源。

3. 在鴛鴦湖湖區，植物之凋落物在土壤中可能因分解緩慢而大部分變成腐植物質，儲存於土壤有機質層中；短期之大量降雨可能無法加快凋落物之分解，但可能從表土的有機質層和附生植物之基質中沖淋出大量的腐植物質(特別是較親水性的黃腐酸)而流入湖中，因而影響湖水之 pH 值和水色等。鴛鴦湖湖區的降雨量為影響湖水 DOC 濃度、pH 值、水色的重要環境因子之一，這些變量間有高度之

相關性，可由關係式相互推估彼此之值。鴛鴦湖容積小且位於低溫多雨地區，故雨量對湖水水質的影響大、湖水的更新速率快，特別是颱風帶來大量的降雨經常造成湖水劇烈的擾動、大量 DOC 從鴛鴦湖集水區流出。採集前數天的降雨量較能反應湖水水質的變動狀況。

4. 在雨量較少、淋洗作用較小時，鴛鴦湖湖水中的內源性、微生物性來源之 DOC (EEMs 圖之 B、T 峰)才較明顯。藻類生長時也會產生類似外源性腐植物質之 DOC (EEMs 圖之 A、C 峰)，但因其在湖水中濃度很低，對湖水 DOC 之影響不大。影響湖泊之初級生產力暨藻類之生長的因素非常多，本研究之藻類培養試驗顯示：在營養鹽充足、DOC 濃度為 0~10 ppm 的培養條件下，鴛鴦湖湖水之 DOC 濃度愈高，則愈能促進藻類生長，顯示湖中藻類之數量變化與湖水中 DOC 含量有關。



## 六、 參考文獻

- 江殷儒。2002。鯉魚潭中葡萄藻代謝物質之生物毒性。國立臺灣大學植物學研究所碩士論文。
- 行政院環境保護署環境檢驗所。2000。水中總有機碳檢測方法—過氧化焦硫酸鹽加熱氧化/紅外線測定法：NIEA W532.51C
- 周昌弘、吳俊宗、謝昱暉、彭鏡毅、邱志郁、楊棋明、黃元勳、高文媛。1998。中央研究院植物研究所第四期五年發展計畫大型合作研究計畫三、植物歧異度與生態系研究：研究成果摘要。中央研究院植物研究所。
- 劉麗純。2007。嘉南平原高砷地下水腐植物質的特性。國立臺灣大學地質學研究所碩士論文。
- Alberts, J. J., Takács, M., and Egeberg, P. K. 2002. Total luminescence spectral characteristics of natural organic matter (NOM) size fractions as defined by ultrafiltration and high performance size exclusion chromatography (HPSEC). *Organic Geochemistry* 33:817–828.
- Aoki, S., Ohara, S., Kimura, K., Mizuguchi, H., Fuse, Y., and Yamada, E. 2008. Characterization of Dissolved Organic Matter Released from *Microcystis aeruginosa*. *Analytical Sciences* 24:389–394.
- Chen, J. S. and Chiu, C. Y. 2000. Effect of topography on the composition of soil organic substances in a perhumid sub-tropical montane forest ecosystem in Taiwan. *Geoderma* 96:19–30.
- Coble, P. G. 1996. Characterization of marine and terrestrial DOM in seawater using excitation-emission matrix spectroscopy. *Marine Chemistry* 51:325–346.
- Cole, J. J., Pace, M. L., Carpenter, S. R., and Kitchell, J. F. 2000. Persistence of net heterotrophy in lakes during nutrient addition and food web manipulation. *Limnology and Oceanography* 45:1718–1730.
- Cuthbert, I. D. and Giorgio, P. D. 1992. Toward a standard method of measuring color in freshwater. *Limnology and Oceanography* 37(6):1319–1326.
- Eish, M. Y. Z. A. 2003. *Characterization of humic substances using chemical, chromatographic, and spectroscopic techniques*. Doctoral dissertation, Tennessee Technological University, Tennessee.
- Gorski, P. R., Armstrong, D. E., Hurley, J. P., and Krabbenhoft, D. P. 2008. Influence of natural dissolved organic carbon on the bioavailability of mercury to a freshwater alga. *Environmental Pollution* 154:116–123.
- Gross, E. M., Meyer, H., and Schilling, G. 1996. Release and ecological impact of algicidal hydrolysable polyphenols in *Myriophyllum spicatum*. *Phytochemistry*

- Houser, J. N. 2006. Water color affects the stratification, surface temperature, heat content, and mean epilimnetic irradiance of small lakes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 63:2447–2455.
- Körner, S. and Nicklisch, A. 2002. Allelopathic growth inhibition of selected phytoplankton species by submerged macrophytes. *Journal of Phycology* 38:862–871.
- Lai, I. L., Chang, S. C., Lin, P. H., Chou, C. H., and Wu, J. T. 2006. Climatic characteristics of the subtropical mountainous cloud forest at the Yuanyang Lake long-term ecological research site, Taiwan. *Taiwania* 51(4):317–329.
- Libes, S. M. 1992. *An Introduction to Marine Biogeochemistry*. New York: John Wiley & Sons, p. 411.
- Maie, N., Yang, C. Y., Miyoshi, T., Parish, K., and Jaffé, R. 2005. Chemical characteristics of dissolved organic matter in an oligotrophic subtropical wetland/estuarine ecosystem. *Limnology and Oceanography* 50(1):23–35.
- Mobed, J. J., Hemmingsen, S. L., Autry, J. L., and McGown, L. B. 1996. Fluorescence characterization of IHSS humic substances: Total luminescence spectra with absorbance correction. *Environmental Science and Technology* 30:3061–3065.
- Pace, M. L. and Cole, J. J. 2002. Synchronous variation of dissolved organic carbon and color in lakes. *Limnology and Oceanography* 47(2):333–342.
- Prakash, A. and Rashid, M. A. 1968. Influence of humic substances on the growth of marine phytoplankton–Dinoflagellates. *Limnology and Oceanography* 13:598–607.
- Qiu, S., McComb, A. J., Bell, R. W., and Davis, J. A. 2005. Estimating production of gilvin from catchment leaf litter during seasonal rains. *Marine and Freshwater Research* 56:843–849.
- Rees, R., Chang, S. C., Wang, C. P., and Matzner, E. 2006. Release of nutrients and dissolved organic carbon during decomposition of *Chamaecyparis obtusa* var. *formosana* leaves in a mountain forest in Taiwan. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 169:792–798.
- Sachse, A., Babenzien, D., Ginzel, G., Gelbrecht, J., and Steinberg, C. E. W. 2001. Characterization of dissolved organic carbon (DOC) in a dystrophic lake and an adjacent fen. *Biogeochemistry* 54:279–296.
- Schulten, H. R. and Leineweber, P. 2000. New insights into organic-mineral particles: composition, properties and models of molecular structure. *Biology and Fertility of Soils* 30:399–432.
- Senesi, N. 1990. Molecular and quantitative aspects of the chemistry of fulvic acid and its interaction with metal ions and organic chemicals. *Analytica Chimica Acta*

232:77-106.

- Sierra, M. M. D., Giovanel, M., Parlanti, E., and Soriano-Sierra, E. J. 2005. Fluorescence fingerprint of fulvic and humic acids from varied origins as viewed by single-scan and excitation/emission matrix techniques. *Chemosphere* 58:715–733.
- Steinberg, C. E. W. 2003. *Ecology of Humic Substances in Freshwaters. Determinants from Geochemistry to Ecological Niches*. Springer, Berlin.
- Steinberg, C. E. W., Kamara, S., Prokhotskaya, V. Y., Manusadžianas, L., Karasyova, T. A., Timofeyev, M. A., Jie, Z., Paul, A., Meinelt, T., Farjalla, V. F., Matsuo, A. Y. O., Burnison, B. K., and Menzel, R. 2006. Dissolved humic substances – ecological driving forces from the individual to the ecosystem level? *Freshwater Biology* 51: 1189–1210.
- Steinberg, C. E. W., Paul, A., Pflugmacher, S., Meinelt, T., Klöcking, R., and Wiegand, C. 2003. Pure humic substances have the potential to act as xenobiotic chemicals – A review. *Fresenius Environmental Bulletin* 12:391–401.
- Sun, B. K., Tanji, Y., and Unno, H. 2005. Influences of iron and humic acid on the growth of the cyanobacterium *Anabaena circinalis*. *Biochemical Engineering Journal* 24:195–201.
- Takeda, H. 1995. A 5-year study of litter decomposition processes in a *Chamaecyparis-obtusa* Endl. forest. *Ecological Research* 10:95–104.
- Thurman, E. M. 1985. *Organic Geochemistry of Natural Waters*. Martinus Nijhoff/Dr W. Junk Publishers, Dordrecht.
- Thurman, E. M. and Malcolm, R. L. 1981. Preparative isolation of humic substances. *Environmental Science and Technology* 15(4):463-466.
- Tsai, J. W., Kratz, T. K., Hanson, P. C., Wu, J. T., Chang, W. Y. B., Arzberger, P. W., Lin, B. S., Lin, F. P., Chou, H. M., and Chiu, C. Y. 2008. Seasonal dynamics, typhoons and the regulation of lake metabolism in a subtropical humic lake. *Freshwater Biology* 53:1929–1941.
- US Environmental Protection Agency. 1992. In vitro determination of chlorophyll *a* and pheophytin *a* in marine and freshwater phytoplankton by fluorescence. Method 445.0. Cincinnati, Ohio.
- Wu, J. T., Chang, S. C., Wang, Y. S., Wang, Y. F., and Hsu, M. K. 2001. Characteristics of the acidic environment of the Yuanyang Lake (Taiwan). *Botanical Bulletin of Academia Sinica* 42:17–22.
- Yamashita, Y. and Tanoue, E. 2003. Chemical characterization of protein-like fluorophores in DOM in relation to aromatic amino acids. *Marine Chemistry* 82:255–271.