硝化抑制劑之利用

黃 山 內
花蓮區農業改良場

摘　　要

硝化作用(Nitrification)係土壤中自營（大部份）與異營（少部份）性微生物之活動，將銨(NH_4^+)氧化爲亞硝酸(NO_2^-)及硝酸（NO_3^-)之過程。由於硝化作用之產物帶陰電性，容易移動流失，離開植物根圈，因而減低施肥效應，而其流入水體，能影響水質，更可引起脫硝作用(Denitrification)，形成氧化亞氮，污染大氣，破壞臭氧層。因此，抑制硝化作用爲土壤與環境氮素管理重要之一環。本文僅就硝化菌種類影響硝化作用之因素及一些硝化抑制劑作一般之介紹。

關鍵字：硝化作用、硝化菌、硝化抑制劑

前　　言

硝化作用(Nitrification) 是一個將還原型態之銨態氮素生物氧化轉換成爲氧化型態亞硝酸與硝酸態氮素的過程，它是自然生態體系氮素循環中重要步驟之一。這個作用進行，在農業上雖有助於植物之氮素吸收，減少銨的毒害，但導致氮素肥料之淋失；於環境保護上，硝酸態及亞硝酸態之進入水體，引起優養化，影響生態之平衡；同時，飲水或食物中如含有過量之硝態或亞硝態氮，對人畜健康都有不良之影響。另一方面，在廢水及廢棄物處理統中，爲防止銨離子之累積毒害，則可利用硝化作用，將銨轉變爲亞硝及硝酸態氮，然後，再經脫硝作用，將之還原爲N_2而重新返回大氣中。

因此，瞭解硝化作用之機制及其受影響因素，進而予以控制或利用，減少負面效應，爲土壤氮素管理、環境保護及食品衛生上重要之一環。

硝化作用之微生物

硝酸態氮之形成，早在十四世紀即知曉，當時硝酸鈉或硝酸鉀之用途爲火藥與醃肉。1797年，英法戰爭，法國遭受禁運，他們用土壤、廄肥與石灰混合堆，然後用尿與污水澆灌，保持堆肥通氣良好，經過一段時間，再用熱水把硝酸鹽萃。但當時還誤以爲銨與氧經化學作用形成硝酸鹽。

I、　自營性微生物

硝化作用大部是指硝化菌之作用，包括二組化學自營菌氧化銨爲亞硝酸或亞硝酸爲硝酸，以獲取能量。目前之分類是基於古典的Sergej and Helene Winogradskg，以及最近Watson及其研究伙伴所得之結果，基本上以外形爲主，如考慮品系則以DNA對應及化學分類標識。

1. 銨氧化菌

Nitrosomonas, Nitrosococcus, Nitrosospira, Nitrosolobus, 與*Nitrosovbrio,*被認爲是銨之氧化菌。所有品系都葛蘭氏陰性微生物，絕對自營之嗜銨者，以二氧化碳爲碳源，但也可利用其他碳物同化爲有機物，生長適溫爲25～30℃，pH7.5～8.0，銨濃度2～10mM。世代時間後8小時至數日，可見其生長之緩慢。其氧化步驟之第一步，把銨藉酵素monooxygenase 之催化，氧化爲氫氧基胺(hgdroxylamine)，第二步再把氫氧基胺藉酵素hydroxylamine oxidoreductase之催化，氧化爲亞硝酸。其過程可獲約-65kcalmol^{-1}之能量，用以同化二氧化碳爲碳水化合物。

2. 亞硝酸氧化菌

Nitrobacter, Nitrococcus, Nitrospira 與 *Nitrospina* 被認爲亞硝酸氧化菌。屬葛蘭氏陰性，絕對自營生長於亞硝酸中，以二氧化碳爲碳源，祇有*Nitrobacter*可異營生長於簡單之有機化合物如丙酮酸、醋酸、及甘油。大部品系都生長於25～30℃，pH7.5～8.0，亞硝酸濃度2～30mM，世代時間從10小時至數日，與其他微生物比較也是生長慢之一族。

II、 異營硝化作用(Heterotrophic Nitrification)

一些異營細菌與放射菌能約在含NH_4^+栽培生長產成少量NO_2^-少數細菌品種爲*Arthrobacter*與眞菌如*Aspergillus Flavus*能從NH_4^+產生NO_3^-，異營作用並不能因氧化作用而取得能源。故他們在自然上之意義並不清楚。但經由異營菌產生的NO_3^-量少，在農業土壤上遠沒有化學自營菌重要。

影響硝化作用之因素

I、 酸性(acidity)

最適當的pH在6.6至8.8、pH 6.0以下之農業土壤其硝化作用明顯下降，pH 4.5以下則非常的微弱。在高pH，其NH_4^+抑制NO_2^-轉變爲NO_3^-，酸性的森林土壤都出現NO_3^-，可能於燒或清除時氮礦化比同化作用之量多，也可能在森林土壤中硝化作用菌對酸性之敏感性較農業土壤爲低之故。

II、 通氣性(aeration)

因爲所有硝化菌郤是絕對好氣性，土壤氧之擴散經由（被控制土壤土分與土壤結構）通氣性是非常重要的。

III、 濕度(moisture)

因爲濕度影響土壤通氣性，土壤水分狀態影響硝酸(NO_3^-)之生成。浸水阻止NO_2^-之擴散，硝化作用則被抑制，在極端的另一面，細菌的繁殖不受水分之阻礙。適當的水分含量隨土土壤而定，一般來說，硝化作用從-0.1～1Mpa，一般銨化作用產生NH_4^+對水及低溫逆境反應較不敏感，NH_4^+可在缺水逆境及低溫不累積。

IV、 溫度(Temperatre)

硝化作用明顯受溫度影響，其在 5℃以下及40℃以上進行緩慢，適溫爲30至35℃，溫度、濕度、通氣及其他因子之相互作用形成季節效應。在溫帶地區，春秋最高，而冬夏最低。

V、 有機物(Organic matter)

長久以來都認爲有機物對硝化尙有害，此論調並不爲研究者完全接受，因爲堆肥與污水堆中硝化作用仍正常之進行。現在又相信有機物本身並不會有抑制作用，而是無機氮源與O_2常有機物分解菌所必需，使NH_4^+與 O_2二者受制於其他微生物而不利於硝化菌之活動。

影響硝化抑制劑在土壤中效應之因素

影響硝化抑制劑在土壤中效應之因素，列如表二。效應是抑制劑之殘存與硝化菌之生活性之綜合。硝化菌之生物活性係指相對之硝化抑制力。例如，一種化合物可能長時間殘存於土壤中，但對於硝化菌之活性抑制力小，因爲它被土壤膠體吸附著，而另一種化合物可能很快從土壤中消失，但它殘存之短暫時間內有高度的生物活性。影響生物活性及殘存之因素往往是互相作用的，而其情境是複雜的，常是自然生物系統之典範。

I、 硝化抑制劑

硝化抑制劑之間有很大不同之揮發性與溶解性。此特性嚴重的影響該化合物在土壤中之行徑及有效性。低溶解度有利於該化合物被土壤膠體疏鬆吸附，也不會隨肥料施用帶淋溶損失，但它之移動性可能較肥料爲緩。如 Hendrickson等(1978a)發現N-serve於低陽離子交換能力之灌溉砂土中較銨離子之移動性慢。相對的，CS_2與CH_4是高揮發性，很快分散於土壤空隙之中。因此，此兩種抑制劑雖然殘存性有差別，但在初期抑制硝化作用較那些揮發性低者之效果好。土壤有機物含量高，N-serve之移動性非常之小。

揮發性強烈出現於高度團粒之土壤與砂土，成爲影響抑制劑效果最重要之因素。於團粒土，銨之氧化速率可因土壤團粒中不同部位而不同，同時呈現非均勻性的，硝化抑制劑必需充分地與所有的土壤粒子接觸，才可控制硝化抑制劑，特別是有大量的氮素從土壤有機礦化釋放時，可看出其此一特性。

許多試驗指出，有機性之抑制劑能緊密吸附於土壤有機物膠體上，這時抑制劑之移動性、揮發性與生物活性都減低，而殘存性也可能增加或減低。Gilmour(1984)發現ATC與粘粒及有機物相互作用，減低其有效性，此可能關連著此一殺草劑分解。

如於低有機物含量之砂土添加焦炭，明顯的降低N-serve之生物活性，通氣性良窳也有可能影響物之移動性，N-serve因通氣性增加而損失，接著硝化菌恢復迅速。抑制劑之揮發性與土壤有機物含量綜合發揮抑制硝化作用之效果。乙炔對礦質及有機質土壤之抑制效果大，而雙氰銨與N-serve對有機質土效果差。

安定性也是重要的，一個理想的硝化化抑制劑必須能持留於氮素最大量損失旳臨界期間。然而長期間的殘留並不好，因爲一般作物在平衡的NH_4與NO_3下生長佳，品質優。如果作物不能很容易的同化NH_4^+，則產量受抑制。N-serve在壤殘留的半衰期爲5～92天。隨土壤之質地，有機物含量及溫度而異，因此，如何有效率使用此一揮發性化合物應予注意。

一些抑制劑降解很快形成無毒害殘餘物，如N-serve之主要殘餘物是6-chloropicolinic acid，硫代硫酸鹽(Thiosulfate)則分解成較毒的中間物。硫代化碳酸鹽(Thiocarbonates (CS_2))很快分解爲CS_2。

乙炔可被固氮菌還原爲乙烯。雙氰銨水解之最終產物爲尿素，其中間物沒有生物活性。其分解速度隨有機物，氫氧化鐵與溫度而增加。

II、 酸鹼度(pH)

雖然N-serve水解不受pH之影響，但此抑制劑在土中最有效是在硝化菌活性低之強酸性。這pH於應包括硝化菌族群與其復原速率。缺乏抑制劑時，亞硝酸之毒害出現在pH低於5。然而硝化作用進行於酸性土壤，特別是森林土，pH低，高出純培養狀態下很多，此常被述爲是異營硝化作用。不過硝化作用易於高pH下進行。大部分研究指出，自營硝化作用於pH 4.0停止。對硝化菌族群來說，pH增加，對抑制劑之敏感性亦增，pH低時，抑制效果呈現不佳。但問題是高pH時硝化菌之生物活性被抑制劑作用而獲得抑制效果，一旦抑制劑消失，其硝化菌之生物活性之復原能力快，而又回到原來之高度硝化速率。硝化菌中*Nitrosolobus*較*Nitrosomonas*易被N-serve抑制。

III、 溫度

硝化菌活動通於中溫範圍(15～35℃)，而低於此溫度，則降低其活性。硝化作用於0℃時進行非常的慢。

IV、 水分

硝化作用速率強烈受土壤水分含量之影響，土壤水分含量從乾燥至田間容水量，隨水分增加而增，一旦到達田間容水量後，隨水分之增加而減少，係受氧減少之限制。硝化抑制劑在土壤乾時效果較濕時有效。不整地之硝化作用較整地者快速，可能係土壤水分含量不同之關係。

表一、一些常用與專利之硝化抑制劑

化學名稱	化學式	相較性 揮發性	相較性 水溶性	備註
a. Dicyandiamide (DCD)	$C_2H_4N_4$	低	高	緩效性肥料
b. Carbon disulfide 及衍生物	CS_2	高	高	燻劑,低濃度硝化抑制劑
c. Ammonium thiosulfate (ATS)	$(NH_4)_2S_2O_3$	低	高	最近開發,低效率,尿素酸抑劑
d. Nitrapyrin(NP)	2-chloro-6 (trichloromethyl) pyridine	中	低	推廣與使用最多之硝化抑制劑
e. Etridiazol(ED)	5-Ethoxy-3-trichloromethyl-triadiazole1,2,4,-triadiazole	中	高	殺眞菌劑,尚未登記
f. ATC	4-Amino-1,2,4-triazole,Hcl	低	高	用於日本,與殺草劑 aminotriazole有關
g. Acetylene及衍生物	C_2H_2	高	高	抑制N_2O之還原,固氮酵素活性

表二、影響土壤硝化抑制劑效應之特性

特性	備註
A.抑制劑之特性	
a.水溶性	影響施用型態，淋溶率。
b.揮發性	影響表面施用之損失，經過土壤與進入微土粒。
c.吸附於土壤膠體，有機物	淋溶率，移動進入微小孔。
d.安定性(降解率)	殘存之主因，受土壤與非生物因素之影響。
B.土壤化學與物理性	
a.pH	影響硝化抑制劑之安定性，硝化菌之活性。
b.表面積與荷電	吸附硝化抑制劑，硝化菌活性，NH_4移動性，pH緩衝性。
c.空隙(大小與分佈)	通氣性及增加硝化菌活性，抑制劑之移動性，保水性，溫度。
d.氮素有效性	礦化產生之NH_4^+不受抑制劑之作用。
C.土壤生物性	
a.硝化菌族群	品系多元性，世代時間。
b.能源	異營環之驅動力，NH_4^+競爭性，微生物活性， 抑制劑之降解。
D.非生物因素	
a.溫度	主要驅動力，增加硝化菌活性與抑制劑之降解。
b.水分	硝化菌之溫度適性，濕土升溫慢，淋溶率增加。
E.管理因素	
a.肥料型態	肥料轉換產生酸或鹼。
b.施用法	撒施較條施需多量抑制劑，表施造成揮發。

結　論

硝化作用大部係由自營性及少部分異營性細菌將還原態之銨轉變爲氧化態之亞硝酸與硝酸之過程。在土壤中硝化作用速率受土壤酸鹼度、通氣性、水分含量、有機質含量及溫度之影響。由於硝化作用之產物即亞硝酸與硝酸帶陰電性，易於土壤中淋失，減低氮肥施用放率，進入水體，造成優養化與飲水品質劣化，因此，如何減低硝化作用，爲農業與環保工作者之研究重點。硝化抑制劑對硝化作用之抑制能力受本身化學結構式、溶解性、揮發及吸附性、以及土壤物理、化學性及生物性之影響而有不同。硝化作用及抑制劑效果之研究在本省很少，基於氮肥施用效率提昇、環境保護及營養衛生，建議積極規劃辦理相關研究。

參考文獻

1. Bock, E., H.P. Koops and H. Harms. 1986. Cell bilolgy of nitrifying bacteria In: Nitrification, edited by Prosser, J. I. P.17-38. special Pub . Vol. 20. Society for General Microbiology.
2. Keeney, D. R. 1986. Inhibition of nitrification in soils.In: Nitrification, edited by Prosser, J. I. P.99-116. special Pub. Vol. Society for General Microbiology.
3. Paul, E. A. and F. E. Clark. 1989. Soil Microbiology and Biochemistry. Academic Press, Inc.

The Application of Nitrification Inhibitors

Huang, S. N.
Hualien District Agricultural Improvement Station

Abstract

Nitrification is an important process in nitrogen cycle mediated by mostly chemoautotrophic microorganisms in natural ecoystems. Through this process, the reduced ammonium is oxided to nitrite and nitrate are leached from the soil, aparted from rhizosphere, lowered the N-fertilizer recovery rate, and might deteriorate the water qualities. Furthermore, the process provide the sources for denitrification. The production of niftrousoxide from nitrification-denitrification is blamed by the enironmentalists. In this paper the nitrifers, soil environment affect the activities and the nitrification inhibitors are introduced.

key words：Nitrification，Nitrifer，Nitrification inhibitor