

硝酸態氮與銨態氮比例對菠菜生長草酸濃度 及礦物元素之影響

陳玟綺¹⁾ 林慧玲²⁾

關鍵字：菠菜、硝酸態氮、銨態氮、草酸

摘要：菠菜被歸類為高草酸含量作物，當人體中草酸濃度過高時，容易罹患高草酸尿症，同時也增加腎結石的風險。本試驗利用不同硝酸態氮與銨態氮比例之養液處理菠菜植株，並調查分析草酸濃度之變化。結果顯示，菠菜植株於硝酸態氮與銨態氮比例 25：75 之養液栽培下其草酸濃度較低，其中，葉柄濃度高於葉片。硝酸態氮濃度以硝酸態氮與銨態氮比例為 100：0 之處理組濃度最高，且葉柄濃度高於葉片。菠菜植株草酸與硝酸態氮兩者呈現顯著正相關，即草酸隨植株硝酸態氮之增加而增加；此外，草酸與大量元素鉀、鈣及鎂同樣也呈顯著正相關。

前 言

草酸(Oxalic acid)，絕大部分存在於綠色葉菜類及植物體中，同時也被廣泛應用在工廠，做為漂白或是清潔用的化學藥劑。植物體中的草酸與鈉、鉀離子結合會形成可溶性草酸鹽類(soluble oxalate)；與鎂、鈣離子結合形成不可溶性草酸鹽類(insoluble oxalate)。若一般攝取蔬菜或水果時，將草酸食入後，在人體腸胃道中被吸收，形成之草酸鈣會降低鈣的可利用率。然而，草酸鈣鹽會隨著糞便排出體外，而游離態的草酸則會在人體腸道內腔以被動擴散的方式吸收(Noonan and Savage, 1999)。人體內草酸含量提高，可能引起高草酸尿症進而增加提高罹患腎結石的風險(Çaliskan, 2000)。

菠菜(*Spinacia oleracea* L.)藜科一年生植物，富含維生素及礦物質，生育期短，在臺灣為秋冬季生產的葉菜類作物。然而，菠菜中的高草酸含量卻是為人體健康的一大隱憂。高草酸含量的食物在食用前大多會先經烹調，菠菜藉由烹煮的方式，的確可有效降低可溶性

1) 國立中興大學園藝學系碩士班研究生。

2) 國立中興大學園藝學系副教授，通訊作者。

草酸鹽類的含量(Savage *et al.*, 2000; 張和郭, 2008)。但是，烹調或是汆燙的高溫環境則會破壞菠菜中的營養成分，降低營養物質的攝取量。

材 料 方 法

一、試驗材料與方法

將'綠神'品種菠菜浸種隔夜後播種於中興大學玻璃溫室中，待種子發芽長至子葉展開後種植至六吋黑色軟盆中。種植後 14 天進行 Hoagland 全量水耕養液處理。每株澆灌不同比例硝酸態氮與銨態氮養液 20mL，且每兩天澆灌一次。處理後一週、兩週、三週分別進行採樣調查及分析。硝酸態氮及銨態氮比例分別為 100：0；75：25；50：50；25：75 四個處理。

二、調查項目與方法

(一) 生育調查

每兩天調查一次株高、葉片數、葉綠素含量及葉綠素螢光。株高由莖基部至最高直立葉之長度(cm)；葉片數則計算完全展開之葉片數量，未展開葉則不列入計算；以 Minota SPAD 502(Chlorophyll meter) 測定葉片葉綠素；藉攜帶式葉綠素螢光分析儀 (Portable chlorophyll fluorometer, MiNi-PAM, Walz, Germany)進行葉綠素螢光測定。首先，將葉片暗夾夾緊葉片，使葉片進入暗適應處理(dark-adapted)，而後打開暗夾，藉與葉綠素螢光分析儀連接之探針其特殊光纖(Special Fiberoptic 2010-F)瞬間提供測定光與飽和脈衝光，並以下列公式計算而得 PSII 活性。 F_0 為最小螢光釋放量， F_m 為螢光釋放量最大值， $F_v = F_m - F_0$ ，以 F_v/F_m 表示。

(二) 地上部鮮重

子葉上方部分秤得之重量。

(三) 葉面積

去除葉柄，以 LI-3000A(LI-COR, Lincoln, Neb)葉面積偵測儀測定葉片面積。

(四) 有機酸分析

精稱樣品 1.0 g，以研鉢加水 10ml 磨碎樣品，置入 50ml 離心管中，離心條件為 20,000xg、4°C 離心 10 分鐘，過濾取上清液，再將上清液以 0.45 μ m nylon filter (Millipore Co. U.S.A.)過濾並稀釋至適當濃度以 HPLC 測定。利用 0.1%草酸、0.1%酒石酸、0.1%蘋果酸、0.1%檸檬酸及 0.01%抗壞血酸混合標準品，藉 Mightysil RP-18 GP 250-4.6, 5 μ m (Cica reagent, Japan)分離管柱，移動相為 2% KH₂PO₄ pH2.4，流速為 0.8ml/min，以 UV 波長 210nm 為檢出器，再以積分儀(Hitachi D-2000 Chromato Integrator)紀錄標準品的滯留時間與積算面積，定量換算樣品之有機酸成分及濃度。

(五) 硝酸態氮

取有機酸測定稀釋至適當濃度之萃取液，以硝酸態氮測定試紙(Reflectoquact nitrate test strips, 5-225mg/L, Merck)沾取後，藉 RQ-flex 讀取硝酸態氮濃度。

(六) 無機元素分析

採樣之葉片經 1%鹽酸溶液與去離子快速洗淨後，置於 100°C 烘箱中殺菁一小時，再以 70°C 烘乾。烘乾之樣品以磨粉機磨碎均質後存放於乾燥環境下待後續測定。

氮之分析根據 micro-Kjeldahl 法。精秤乾燥後樣品 0.2g 包於 Whatman 1 號濾紙置入分解管中，加入 1g 凱氏氮催化劑(Merck 8030)及 4.5ml 濃硫酸，於 410°C 分解爐中分解 2.5-3 小時，待分解管中液體呈淡綠色透明取出，冷卻至室溫後加入 15ml 純水，將樣品與 20ml 12N NaOH 混合，利用 micro-Kjeldahl 裝置以 20ml 2%硼酸指示劑 (含 19 μ M bromocresol green 與 25 μ M methyl red) 收集蒸餾之氨水至體積為 50ml 為止，最後以 1/14N H₂SO₄ 滴定，計算樣品含氮之百分比。

精稱 0.5g 葉片乾燥粉末至於坩堝中，放入灰化爐中(Muffle furnace)，起初以 200°C 加熱 2 小時，繼以 400°C 加熱 1 小時，最後升溫至 550°C 加熱 2 小時使樣品達到完全灰化。待樣品冷卻後從灰化爐取出，加入 5ml 2N HCl (Merck company)溶解灰分並以濾紙 (Whatman #42) 過濾，並將濾液定量至 25ml，均勻混合後倒入 PE 塑膠瓶中待用。鉀含量則取 0.1ml 濾液加 9.9ml 純水，再取稀釋液 1ml 加 5ml 純水；鎂含量則取 0.1ml 加 3.9ml 純水，再取稀釋液 1ml 加 9ml 純水；鈣含量則取濾液 0.1ml 加 3.9ml 純水加 1ml 5%氧化鑷 (lanthanum oxide)，以原子吸收儀 (atomic absorption spectrophotometer, Hitachi, Model Z-2300)進行測定。

三、統計分析

試驗結果藉 Costat 軟體(Cohort software Minneapolis, MN)計算平均值，並利用 ANOVA 進行變方分析(analysis of variance)及鄧肯氏多變域檢定(Duncan's multiple range test)比較各處理間差異顯著性。

結 果

一、菠菜植株生育調查

以肉眼觀察菠菜生長外觀，處理後一週，各處理植株間生長情形出現明顯的差異。四個處理中以硝酸態氮與銨態氮比例為 25：75 的處理，其植株生長外觀，如：葉片大小與植株高度皆比其他三組處理差。而隨著處理的週數增加，四個處理的葉片數、葉片大小、株高以肉眼觀察皆有明顯的增加(圖1)。植株株高在四組處理中以硝酸態氮與銨態氮比例為 50：50 的處理表現最佳。硝酸態氮與銨態氮比例為 100：0 的植株株高約低於 50：50 處理之植株 18%(圖2)。另外，植株葉片數的部分各處理間則未有顯著差異(圖3)。而在處理期間調查菠菜植株葉片葉綠素含量及葉綠素螢光，結果顯示各處理間皆無明顯差異 (表1)。

於處理後一週、二週及三週採樣後進行地上部鮮重及葉面積測定，四組處理植株隨著處理週數的增加地上部鮮重與葉面積皆有明顯增加的趨勢(表2)。各處理間，處理後第一

週以硝酸態氮與銨態氮比例為25:75其地上部鮮重最低，與表現較佳之硝酸態氮與銨態氮比例為100:0之處理少了51%的重量。當處理後兩週及三週，葉面積測定於四組處理間亦未有顯著差異。

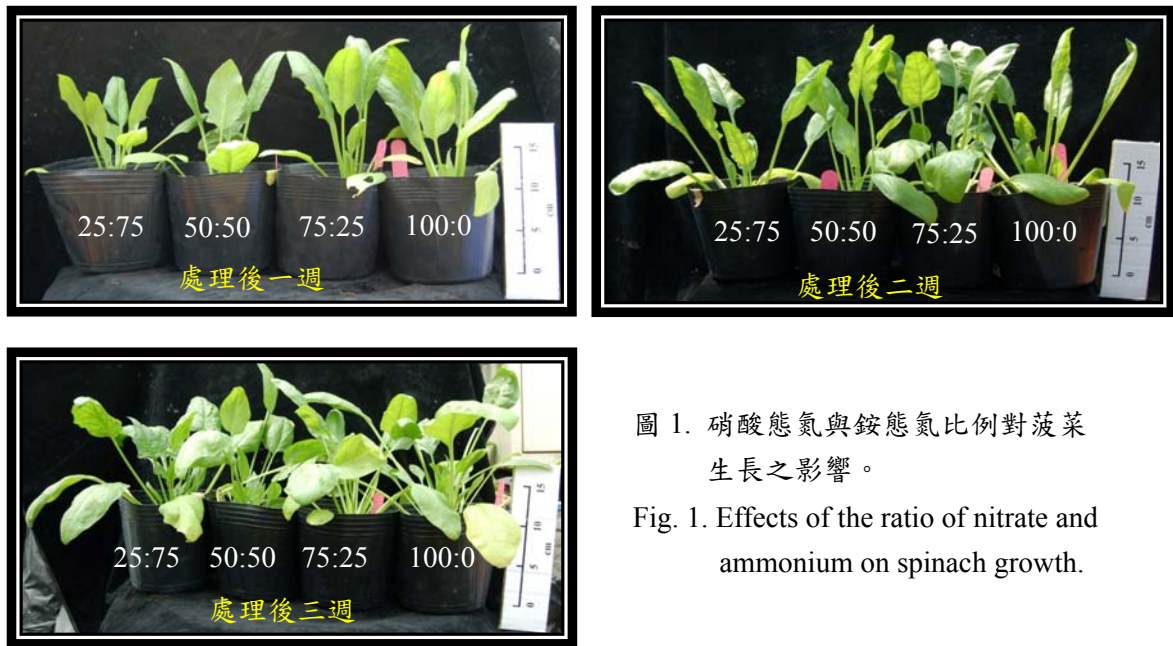


圖 1. 硝酸態氮與銨態氮比例對菠菜生長之影響。

Fig. 1. Effects of the ratio of nitrate and ammonium on spinach growth.

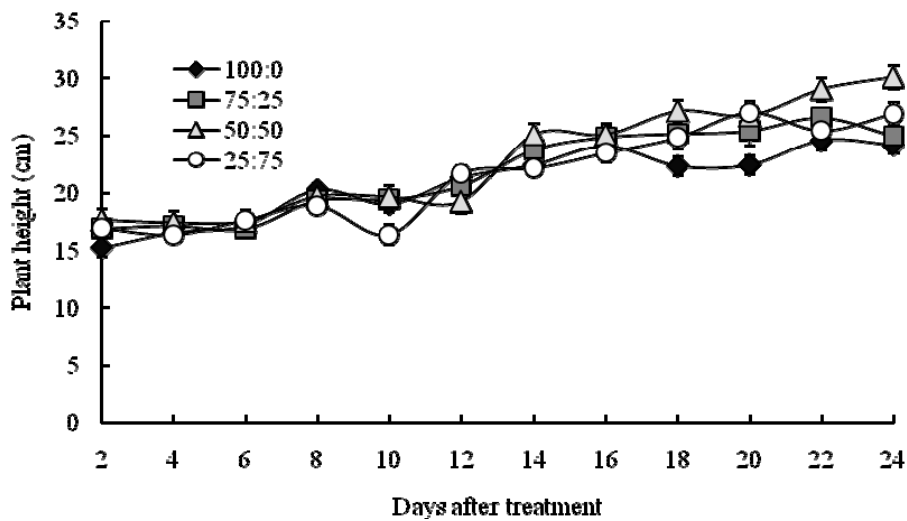


圖2. 硝酸態氮與銨態氮比例對菠菜植株株高之影響

Fig. 2. Effects of the ratio of nitrate and ammonium on the plant height of spinach.

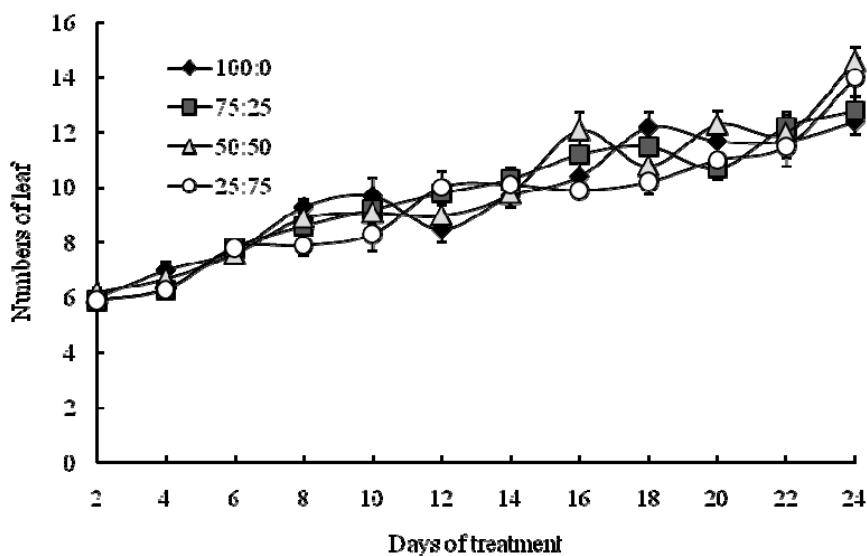


圖3. 硝酸態氮與銨態氮比例對菠菜植株葉片數之影響

Fig. 3. Effects of the ratio of nitrate and ammonium on numbers of leaf of spinach.

表1. 硝酸態氮與銨態氮比例對菠菜植株葉片葉綠素及葉綠素螢光之影響

Table 1. Effects of the ratio of nitrate and ammonium on total chlorophyll and chlorophyll fluorescence (Fv/Fm) of spinach leaf.

$\text{NO}_3^- : \text{NH}_4^+$	Chlorophyll (value)	Fv/Fm
100:0	31.88 a ^z	0.77 a
75:25	32.14 a	0.77 a
50:50	33.33 a	0.77 a
25:75	32.20 a	0.76 a

^z Mean within columns followed by the same letter are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level.

表2. 硝酸態氮與銨態氮比例對菠菜植株地上部鮮重及葉面積之影響

Table 2. Effects of the ratio of nitrate and ammonium on shoot fresh weight and leaf area of spinach.

NO ₃ ⁻ :NH ₄ ⁺	Shoot fresh weight (g)			Leaf area (cm ²)		
	1 ^z	2	3	1	2	3
100:0	11.0 a ^y	16.2 a	24.2 a	189.0 a	251.6 a	360.9 a
75:25	9.0 a	16.7 a	25.5 a	148.8 a	260.0 a	366.3 a
50:50	10.5 a	16.5 a	23.3 a	179.2 a	247.6 a	333.3 a
25:75	5.4 b	17.3 a	26.5 a	100.9 a	235.3 a	408.3 a

^z Weeks after treatment.

^y Mean within columns followed by the same letter are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level.

二、菠菜植株氮分析

不同硝酸態氮與銨態氮比例處理後，菠菜植株總氮濃度於處理後一週約為3.6–4.2%，以硝酸態氮與銨態氮比例為25：75及100：0兩處理總氮濃度顯著高於其餘兩組處理。當處理兩週之後，各處理植株間總氮濃度則無顯著差異(表3)。針對氮肥處理進一步測定菠菜葉片及葉柄中硝酸態氮。結果顯示，處理一週後，使用硝酸態氮(NO₃⁻:NH₄⁺=100:0)之植株，其葉片與葉柄硝酸態氮濃度皆比其他處理高。葉柄硝酸態氮濃度於處理兩週後仍以硝酸態氮處理(NO₃⁻:NH₄⁺=100:0)的菠菜植株濃度最高。處理三週後，各處理間菠菜葉片硝酸態氮濃度有顯著差異，以硝酸態氮與銨態氮比例為25：75處理組濃度最低。另外，從葉片及葉柄測定之結果，菠菜植株不同部位硝酸態氮濃度，以葉柄高於葉片(表4)。

表3. 硝酸態氮與銨態氮比例對菠菜植株總氮濃度之影響

Table 3. Effects of the ratio of nitrate and ammonium on total nitrogen concentration of spinach.

NO ₃ ⁻ :NH ₄ ⁺	Nitrogen (%)		
	1 ^z	2	3
100:0	3.9 bAB ^y	4.5 aA	4.3 abA
75:25	3.6 bB	4.1 aA	4.4 aA
50:50	3.8 bB	4.4 aA	4.2 aA
25:75	4.2 aA	4.2 aA	4.0 aA

^z Weeks after treatment.

^y Mean separation within columns (capital letters) and within rows (small letters) was by Duncan's multiple range test at 5% level.

表4. 硝酸態氮與銨態氮比例對菠菜葉片及葉柄硝酸態氮濃度之影響

Table 4. Effects of the ratio of nitrate and ammonium on nitrate concentration of spinach blade and petiole.

NO ₃ ⁻ :NH ₄ ⁺	Nitrate (µg/g · FW)					
	Blade			Petiole		
	1 ^z	2	3	1	2	3
100:0	1472 aA ^y	2501 aA	1238 aB	4145 aA	6327 aA	1760 bA
75:25	611 aA	1294 aA	1304 aAB	1197 bB	2992 aB	1144 bA
50:50	865 aA	1630 aA	2013 aA	1980 abAB	3995 aB	1243 bA
25:75	1162 aA	1483 aA	308 bC	1298 bB	3168 aB	1599 bA

^zWeeks after treatment.

^yMean separation within columns (capital letters) and within rows (small letters) was by Duncan's multiple range test at 5% level.

三、菠菜植株草酸及營養元素濃度變化

處理氮肥後的菠菜植株，葉柄的草酸濃度高於葉片(表5)。依不同處理週數比較，除了硝酸態氮與銨態氮比例為25:75且處理後三週的菠菜植株其葉片草酸濃度降低之外，其他三組處理於處理後1及2週後葉片草酸濃度皆無顯著差異。氮肥處理後一週，菠菜葉片草酸濃度以硝酸態氮與銨態氮比例為75:25之處理有最低草酸濃度，處理兩週後則各處理間未有顯著差異，待處理後三週則以硝酸態氮與銨態氮比例為100:0處理有最高草酸濃度，最低草酸濃度是硝酸態氮與銨態氮比例為25:75之處理佔最高濃度之43%。然而，葉柄中草酸濃度除硝酸態氮與銨態氮比例為25:75處理外，其他三組處理皆於處理後二週草酸濃度達最高而後下降，此組在處理後一週是為各處理間草酸濃度最高，而後隨著處理後週數的增加其草酸濃度會逐漸下降。其次，比較各處理間草酸濃度，硝酸態氮與銨態氮100:0處理葉柄中草酸濃度於處理後1週及2週均較高，於處理後3週各處理間葉柄草酸則無顯著差異。

此試驗中，除了施用硝酸態氮之外，另有硝酸態氮與銨態氮合併施用之處理，除了對生長造成影響，也藉由測定觀察是否會對各處理植株中營養元素濃度有所變動。處理一週後大量元素中鉀、鈣、鎂的濃度於硝酸態氮與銨態氮比例為25:75處理濃度較低，其濃度分別為7.2%、0.7%及0.6%(表6)。至處理後二週，三種大量元素濃度各處理皆達最大值，鉀濃度約8.50-9.43%；鎂濃度約1.1-1.3%；鈣濃度約0.8-0.9%。

表 5. 硝酸態氮與銨態氮比例對菠菜葉片及葉柄可溶性草酸濃度之影響

Table 5. Effects of the ratio of nitrate and ammonium on soluble oxalic acid concentration of spinach blade and petiole.

NO ₃ ⁻ :NH ₄ ⁺	Oxalic acid (%)					
	Blade			Petiole		
	1 ^z	2	3	1	2	3
100:0	3.0 aA ^y	3.0 aA	2.2 aA	4.8 aA	5.4 aA	2.2 bA
75:25	1.6 aC	2.1 aA	1.6 aAB	1.9 bB	3.2 aC	1.7 bA
50:50	2.0 aBC	2.2 aA	1.8 aAB	2.7 bB	4.3 aB	1.5 cA
25:75	2.6 aAB	2.4 aA	0.9 bB	5.2 aA	3.2 bC	2.1 bA

^z Weeks after treatment.

^y Mean separation within columns (capital letters) and within rows (small letters) was by Duncan's multiple range test at 5% level.

表 6. 硝酸態氮與銨態氮比例對菠菜鉀(K)、鎂(Mg)及鈣(Ca)濃度之影響

Table 6. Effects of the ratio of nitrate and ammonium on potassium, magnesium and calcium concentration of spinach.

NO ₃ ⁻ :NH ₄ ⁺	K (%)			Mg (%)			Ca (%)		
	1 ^z	2	3	1	2	3	1	2	3
100:0	8.4 aA ^y	8.5 aA	7.3 bA	1.3 aA	1.3 aA	1.0 bA	0.9 aA	0.9 aA	0.9 aA
75:25	8.9 aA	9.0 aA	7.2 bA	1.1 aA	1.1 aA	1.1 aA	0.7 cAB	0.8 bA	0.9 aA
50:50	8.7 aA	8.8 aA	8.0 aA	1.2 aA	1.3 aA	1.0 aA	0.8 aAB	0.8 aA	0.8 aA
25:75	7.2 bB	9.4 aA	7.7 bA	0.7 bB	1.1 aA	1.0 aA	0.6 bB	0.8 aA	0.9 aA

^z Weeks after treatment.

^y Mean separation within columns (capital letters) and within rows (small letters) was by Duncan's multiple range test at 5% level.

四、氮肥型態對菠菜植株之影響

藉由相關性分析之結果顯示，菠菜植株中硝酸態氮、總氮濃度、鉀、鈣及鎂與草酸間有顯著相關，若是施用硝酸態氮做為氮源，當施用量增加時，植株中草酸濃度也會隨之增加，兩者呈正相關且相關係數達 0.876 (圖 4)。再者，植株中草酸濃度與大量元素鉀、鈣及鎂濃度也呈正相關，意指當植株中鉀、鈣及鎂濃度增加時，草酸濃度也會提高。而植株中硝酸態氮濃度與總氮、鈣及鎂間有顯著正相關，其中又與鎂的相關性較高(表 7)。

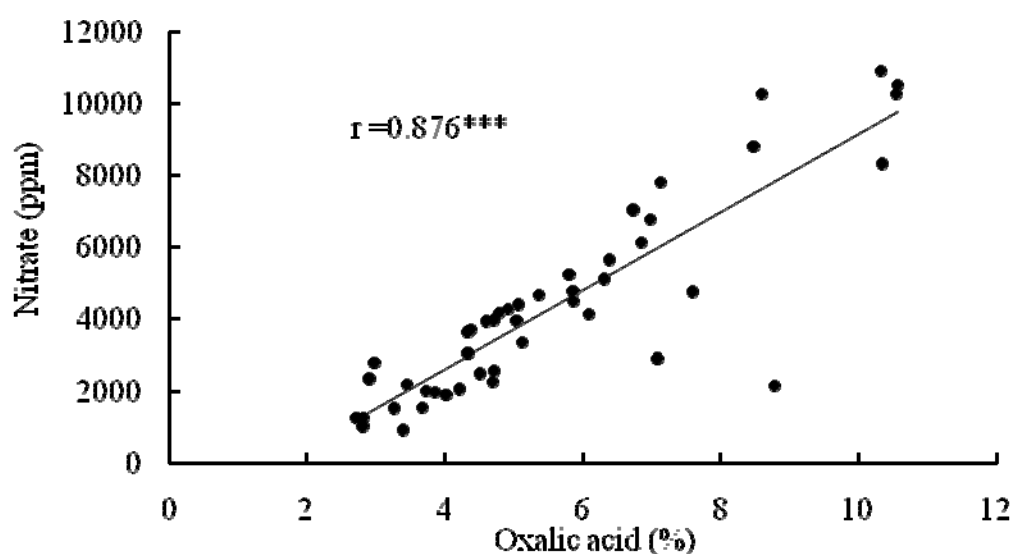


圖 4. 菠菜植株硝酸態氮濃度與草酸濃度之關係

Fig. 4. The relationship between nitrate and oxalic acid concentration in spinach plant.

表 7. 菠菜植株中草酸及礦物元素間相關性。

Table 7. Correlation coefficients (r) between oxalic acid and mineral elements in spinach.

	OA ^z	NO ₃ ⁻	Total N	K	Ca	Mg
OA	1	0.876 ***	0.314 *	0.151 *	0.276 **	0.564 ***
NO ₃ ⁻		1	0.462 **	0.108 ns	0.451 **	0.736 ***
Total N			1	-0.060 ns	0.143 ns	0.232 ns
K				1	-0.010 ns	0.139 *
Ca					1	0.208 **
Mg						1

^z OA= oxalic acid; NO₃⁻ = nitrate; Total N= total nitrogen; FAA= free amino acid; SP= soluble protein; K= potassium; Ca= calcium; Mg= magnesium.

NS, *, **, *** Non-significant or significant different at $p= 0.05, 0.01$ and 0.001 respectively.

討 論

一、菠菜植株生育調查及氮濃度

根據 Mou(2008)這位學者，調查美國本土所蒐集的菠菜種質(germplasm)其草酸含量的研究中，兩年的調查結果期間，菠菜種源間平均葉綠素值為 32.9–33.6，而本試驗中，施用不同硝酸態氮及銨態氮比例之養液的菠菜植株，其葉綠素值介於 31.88–31.33，處理間無顯著差異(表 1)。Claussen(2002)比較硝酸態氮及銨態氮施用後對番茄植株的影響，若是施用銨態氮較多時，番茄植株總乾重會下降。若是在硝酸態氮中施加少許銨態氮(NO_3^- : NH_4^+ = 75:25)，則可明顯增加植株總乾重及果實乾重。銨態氮容易被植物體吸收，假若植物體中游離的銨態氮含量過高，則會有銨毒害的情形發生，當植株生長受到抑制時，即為銨毒害其中一種徵狀(Cramer *et al.*, 1993)。然而，硝酸態與銨態氮比例為 25:75 之處理組於處理一週後，其生物質量上低於其他處理組，明顯有生長抑制之情形。而後，處理時間增加，硝酸態與銨態氮比例為 25:75 之處理組其生育情形漸漸恢復與各處理間無差異的現象，可能是為此處理組植株已適應這樣的處理比例。Torres 及 Wilcox(1974)提出，增加鉀的施用量可以降低銨毒害的情形。對銨敏感的胡瓜植株，施用 5mM 的鉀，即有減緩銨毒害的表現(Roosta and Schjoerring, 2008)。而在本試驗水耕養液中含鉀 6mM，因此減少了銨的吸收，降低植株銨毒害的現象。銨態氮容易吸收，因此，銨態氮施用量較高的處理可能會有較多的游離銨累積，進而反應至總氮含量上，結果顯示，硝酸態與銨態氮比例為 25:75 之處理組於處理一週後，總氮含量為所有處理組中最高(表 3)，根據 Alderfasi 等人(2010)以硝酸鉀施用於菠菜栽培上，其所測定植株之總氮含量約為 3.5%，而本試驗結果植株總氮含量則增加了約 0.5–0.8%，推測原因也許是因為養液澆灌的方式較容易被植物體吸收。其葉片硝酸態氮含量約為 308–2501 $\mu\text{g/g} \cdot \text{FW}$ ；葉柄則為 1144–6327 $\mu\text{g/g} \cdot \text{FW}$ (表 4)，葉片與葉柄硝酸態氮含量以葉柄較高，這樣的結果與前人研究相似(張等人, 2006；Stagnari *et al.*, 2007)。以不同硝酸態與銨態氮比例之養液栽培菠菜，其菠菜植株中硝酸態氮含量，以硝酸態氮與銨態氮比例 100:0 之處理組最高，而後，會隨著銨態氮的比例增加而降低，最低含量出現在 0:100 之處理組(張等人, 2006；趙與秦, 2008；Wang *et al.*, 2009)。而本試驗處理後一週及兩週的菠菜植株，其硝酸態氮含量測定結果皆為硝酸態氮及銨態氮比例 100:0 處理組最高。硝酸態氮的施用會增加植物體中有機酸與陰離子的含量；銨態氮的施用則會增加植物體中的游離銨離子、游離胺基酸、胺類與可溶性糖類，卻也減少植物組織中澱粉及其他聚合性分子而使生物質量下降(Haynes and Goh, 1978)。

二、菠菜植株草酸及營養元素濃度

飲食中草酸鹽類的主要來源，是來自於植物及植物性製品。高草酸的食品，會藉由烹煮的方式降低草酸含量(Savage *et al.*, 2000)。而生鮮蔬菜是否能從栽培過程降低植物體草酸含量？前人研究指出，不同氮型態不僅會影響蔬菜的生長情況，也可以改變硝酸態氮及草酸累積情形(Van der Boon *et al.*, 1990；Gülser, 2005；Elia *et al.*, 1998；Chen *et al.*, 2004)。

本試驗結果，以高效能液相層析儀(High performance liquid chromatography, HPLC)測定菠菜葉片及葉柄的草酸含量，結果顯示，葉柄草酸含量高於葉片(表 5)。而前人研究結果指出，菠菜葉片草酸含量高於葉柄(Zhang *et al.*, 2005；張等人, 2006)，與本試驗結果有所出入。本試驗草酸測定方式是藉由 HPLC 進行分析，Zhang 等人(2005)及張等人(2006)則是參考 Baker 所使用之化學法測定，推論可能是為草酸測定之方法不同所致。再者，以不同硝酸態氮與銨態氮比例處理之菠菜植株，前人研究結果，葉片中草酸含量會因銨態氮比例的增加而有減少的趨勢(Zhang *et al.*, 2005；張等, 2006)，處理三週後葉片草酸含量以硝酸態氮及銨態氮比 25：75 之處理組含量最低，與前人研究結果相似。

菠菜富含鈣、鐵、磷及鉀等營養元素(Morelock and Correll, 2008)。本試驗中，菠菜大量元素測定結果，鉀、鈣及鎂含量分別約為 7.23 – 8.87%、0.64 – 0.92%及 0.66 – 1.30%，前人研究結果分別約為 6 – 8%、0.6 – 2.1%及 0.5 – 1.5%，兩者數值相近(Alderfasi *et al.*, 2010; Stagnari *et al.*, 2007; Gülser, 2005; Davidson and LeClerc, 1935)。另外，施用不同硝酸態氮及銨態氮比例之養液之菠菜植株處理一週後，處理比例為 25：75 之處理組其大量元素鉀、鈣及鎂含量明顯低於其他三組處理，而前人研究指出，銨離子是為陽離子的一種，過多的銨態氮會造成陰/陽離子失衡(Chaillou and Lamaze, 2001)，同時造成陽離子間吸收競爭之情況，因此，硝酸態氮及銨態氮比 25：75 處理之菠菜植株鉀、鈣及鎂三個大量陽離子含量低於其他三組處理。而由氮、鉀、鈣及鎂 4 個大量元素含量測定結果，發現鉀的含量在菠菜植株中最高。

三、氮肥型態對菠菜植株草酸濃度之影響

菠菜中硝酸態氮與草酸濃度兩者呈現顯著正相關(圖 4)。當菠菜硝酸態氮濃度增加，草酸濃度也會增加。Schubert and Yan (1997)提出，植物體生長於銨態氮環境下，草酸含量較低，是因銨態氮同化作用位於偏酸性的細胞質中進行。而硝酸態氮施用會有較多草酸累積，推測原因可能是硝酸態氮同化時，釋放氫氧根離子(OH⁻)，因此，草酸生成用於中和氫氧根離子。Pierce and Appleman(1943)將施用硝酸態氮於燕麥，燕麥植株有大量的草酸生成。當植物體利用硝酸態氮時，硝酸態氮會藉由硝酸還原酶於植株地上部進行還原作用，此反應會於植株葉片或莖部累積有機酸，草酸為其中一種(Libert and Franceschi, 1987)。Joy(1964)以甜菜根進行試驗，施用硝酸態氮的處理，其草酸累積含量較高。當培養介質中硝酸態氮含量提高，植物體中草酸鹽類累積量也會提高(Franceschi and Horner, 1980)。馬齒莧栽培於不同硝酸態氮與銨態氮比例之養液中，草酸含量會隨著銨態氮比例的增加而降低，以硝酸態氮與銨態氮比例為 25：75 比例含量最低(Palaniswamy *et al.*, 2004)。田間試驗結果顯示，硝酸銨施用處理，菠菜草酸含量高於施用尿素及有機肥之處理組。另外，氮肥的施用與菠菜植株中元素鉀、鈣、鎂含量有顯著相關(Stagnari *et al.*, 2007)，本試驗中，硝酸態氮與大量元素鉀、鎂及鈣呈現顯著正相關(表 7)，與前人研究結果相似。當施用硝酸態氮型式時，鈣的吸收量及累積量也會提高(Haynes and Goh, 1978; Magalhaes and Wilcox, 1983b)。

參 考 文 獻

- 張英鵬、徐旭軍、林咸永、章永松、都韶亭、李剛。2006。氮素形態對菠菜可食部分硝酸鹽和草酸累積的影響。植物營養與肥料學報 12(2): 227-232。
- 張承晉、郭詩伶。2008。探討蔬菜製備與草酸含量之關係。臺灣營養學會雜誌 33(1): 39-44。
- 趙建榮、秦改花。2008。不同氮形態配比對菠菜營養品質及抗氧化酶活性的影響。土壤通報 39(5): 1067-1070。
- Alderfasi, A. A., A. E. Moftah, and A. M. Aljuaed. 2010. Prospective study in influences of using bio-organic farming system on growth, nitrate, oxalate and ascorbic acid contents in spinach. *World Appl. Sci. J.* 9(1): 49-54.
- Çaliskan, M. 2000. The metabolism of oxalic acid. *Turk. J. Zool.* 24: 103-106.
- Chaillous, S and T. Lamaze. 2001. Ammonical nutrition of plants. In: Nitrogen assimilation by plants, ed. Morot-Gaudry, J. F., 53-69. Science Publishers Inc., New Hampshire, USA.
- Chen, B.M., Z. H. Wang, S. X. Li, G. X. Wang, H. X. Song, and X. N. Wang. 2004. Effects of nitrate supply on plant growth, nitrate accumulation, metabolic nitrate concentration and nitrate reductase activity in three leafy vegetables. *Plant Sci.* 167: 635-643.
- Claussen, W. 2002. Growth, water use efficiency, and proline content of hydroponically grown tomato plants as affected by nitrogen source and nutrient concentration. *Plant and Soil* 247(2): 199-209.
- Cramer, M. D., O. A. M. Lewis, and S. H. Lips. 1993. Inorganic carbon fixation and metabolism in maize roots as affected by nitrate and ammonium nutrition. *Physiol. Plant* 94: 425-432.
- Davidson, J. and J. A. LeClerc. 1935. The variation in the mineral content of vegetables. *J. Nutr.* 55-66.
- Elia, A., P. Santamaria, and F. Serio. 1998. Nitrogen nutrition, yield and quality of spinach. *J. Sci. Food Agric.* 76: 341-346.
- Franceschi, V. R. and H. T. Horner Jr. 1980. Calcium oxalate crystals in plants. *Bot. Rev.* 46: 361-427.
- Gülser, F. 2005. Effects of ammonium sulphate and urea on NO_3^- and NO_2^- accumulation, nutrient contents and yield criteria in spinach. *Sci. Hortic.* 106: 330-340.
- Haynes, R. and K. M. Goh. 1978. Ammonium and nitrate nutrition of plant. *Biol. Rev.* 53: 465-510.
- Holmes, R. P. and M. Kennedy. 2000. Estimation of the oxalate content of foods and daily oxalate intake. *Kidney Int.* 57: 1662-1667.
- Jones Jr., J. B., B. Wolf, and H. A. Mills. 1991. *Plant Analysis Handbook. Micro-Macro*

- Publishing Inc.
- Joy, K. W. 1964. Accumulation of oxalate in tissues of sugar-beet, and the effect of nitrogen supply. *Ann. Bot.* 28: 689-701.
- Libert, B. and V. R. Franceschi. 1987. Oxalate in crop plants. *J. Agric. Food Chem.* 35: 926-938.
- Magalhaes, J. R., and G. E. Wilcox. 1983b. Tomato growth nutrient uptake patterns as influenced by nitrogen form and light intensity. *J. Plant Nutr.* 6: 941-956.
- Morelock, T.E. and J. C. Correll. 2008. Spinach, In: Prohens. ed.J. and F. Nuez. p.189- 218. *Handbook of plant breeding. Volume 1. Vegetables 1, Asteraceae, Brassicaceae, Chenopodiaceae, and Cucurbitaceae.* Springer, NewYork, NY.
- Mou, B. 2008. Evaluation of oxalate concentration in the U.S. spinach germplasm collection. *HortScience* 43: 1690-1693.
- Noonan, S. C. and G. P. Savage. 1999. Oxalate content of foods and its effect on humans. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* 8(1): 64-74.
- Palaniswamy, U. R., B. B. Bible., and R. J. McAvoy. 2004. Oxalic acid concentrations in purslane (*Portulaca oleracear* L.) is altered by the stage of harvest and the nitrate to ammonium ratios in hydroponics. *Sci. Hort.* 102: 267-275.
- Pierce, E. C. and C. D. Appliman. 1943. Role of ether soluble organic acids in the cation-anion balance in plants. *Plant Physiol.* 18: 224-238.
- Robertson, W. G. and H. Hughes. 1993. Importance of mild hyperoxaluria in the pathogenesis of urolithiasis: New evidence from studies in the Arabian peninsula. *Scanning Microsc.* 7: 391-402.
- Roosta, H. R. and J. K. Schjoerring. 2008. Effects of nitrate and potassium on ammonium toxicity in cucumber plants. *J. Plant Nutr.* 31: 1270-1284.
- Savage, G. P., L. Vanhanen, S. M. Mason, and A. B. Ross. 2000. Effect of cooking on the soluble and insoluble oxalate content of some New Zealand foods. *J. Food Compos. Anal.* 13: 201-206.
- Stagnari, F., V. D. Bitetto, and M. Pisante. 2007. Effect of N fertilizers and rates on yield, safety and nutrients in processing spinach genotypes. *Sci. Hortic.* 114: 225-233.
- Schubert, S. and F. Yan. 1997. Nitrate and ammonium nutrition of plants: Effects on acid/base balance and adaptation of root cell plasmalemma H⁺ ATPase. *Z. Pflanzenernaehr. Bodenk.* 160: 275-281.
- Torres, I. E. and G. E. Wilcox. 1974. Effect of nitrogen form on growth and composition of tomato and pea tissue. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 99: 171-174.
- Van der Boon, J., J. W. Steenhuizen, and E. G. Steingrover. 1990. Growth and nitrate

- concentration of lettuce as affected by total nitrogen and chloride concentration $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ ratio and temperature of the re-circulating nutrient solution. *J. Hortic. Sci.* 65(3): 309-321.
- Wang, J., Y. Zhou, C. Dong, Q. Shen, and R. Putheti. 2009. Effects of $\text{NH}_4^+-\text{N}/\text{NO}_3^+-\text{N}$ ratios on growth, nitrate uptake and organic acid levels of spinach (*Spinacia oleracea* L.). *Afr. J. Biotechnol.* 8(15): 3597-3602.
- Zhang, Y., X. Lin, Y. Zhang, S. J. Zheng, and S. Du. 2005. Effects of nitrogen levels and nitrate/ammonium ratios on oxalate concentrations of different forms in edible parts of spinach. *J. Plant Nutr.* 28: 2011-2025.

Effects of Nitrate and Ammonium Ratios on Growth, Oxalic Acid and Mineral Nutrients Concentration of Spinach (*Spinacia oleracea* L.)

Wen-Chi Chen¹⁾ Huey-Ling Lin²⁾

Key words: Spinach (*Spinacia oleracea* L.), Nitrate, ammonium, Oxalic acid

Summary

Spinach (*Spinacia oleracea* L.) is classified in the highest levels of oxalates. When oxalate concentration become high in the human body, it is a condition called hyperoxaluria, which increases the risk of kidney stones. This research used different ratio of nitrate (NO_3^-) and ammonium (NH_4^+) nutrient solution treatments on spinach. Each treatment was analyzed for oxalic acid concentration. Oxalic acid concentration was the lowest with 25:75 $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$, with oxalic acid higher in the petiole than in the blade. Nitrate concentration in spinach treated with 100:0 $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ was the highest with nitrate in the petiole higher than in the blade. Oxalic acid and nitrate concentration in spinach showed a significant positive correlation, mean oxalic acid concentration increased with increasing nitrate concentration. There was also a significant positive correlation between oxalic acid or nitrate and macro-element like potassium, calcium, and magnesium.

1) Graduate Student in MS. Program, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.

2) Associate professor, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.
Corresponding author.

