蘆筍之無機營養研究
三、影響蘆筍嫩莖中葉綠素含量之因子

Studies on Mineral Nutrition of Asparagus officinalis L.
(Ⅲ) Factors Affecting the Chlorophyll Content of Asparagus Spears.

林鴻淇*
by
Hong-chi Lin

摘　要

1. 蘆筍嫩莖中葉綠素主要分佈於表皮及0.3mm厚之皮層中。葉綠素之含量如以表面積爲基礎表示較能與其外觀視覺一致。

2. 大小嫩莖中葉綠素含量之差異乃因於分化程度之不同，嫩莖中葉綠素之含量產地間之差異較大，此可歸因於無機營養。屏東、台北地區可能缺乏鎂。

3. 光照爲葉綠素合成之必要條件。考慮嫩莖之發育及葉綠素之形成過程，綠蘆筍以傍晚採收爲宜。

4. 一種比較蘆筍無機營養之簡易對比方法可以測知何種要素可能缺乏。屏東產綠蘆筍可能缺鎂。

引　言

綠蘆筍嫩莖之外觀色澤爲消費者在直覺上用以評定品質；尤其素來食用綠蘆筍地區的人習慣上以深綠色者爲佳品。在消費者的習慣未改變前，對綠蘆筍之生產者而言，如何增強綠蘆筍嫩莖之外觀綠色色度亦爲增加銷售量及收益之一個要件。尤其以綠蘆筍爲外銷產物時，爲一般接受之良好蘆筍外觀爲拓展及保持市場之重要因素。

構成綠蘆筍之發色物質爲葉綠素。其形成之多寡受生物的（遺傳因子），物理的（氣象因子）及化學的（土壤和無機營養）各種生長因子影響。品種間[1]，受光照時間[1]，鎂的營養[1,2] 嫩莖之部位及直徑大小[1] 等對蘆筍嫩莖中葉綠素之重量百分率都引起差異。

綠蘆筍之色調爲單位面積上投射白光經色素吸收後反射出來的餘色光。因此綠蘆筍嫩莖色調之比較應以對單位面積投射一定強度之白光後測定反射餘光之強度爲最合理。但是技術上以抽出葉綠素加以比色定量最爲方便。

首先應考慮綠蘆筍中葉綠素分佈之情形。從解剖組織學上觀察：如將綠蘆筍切成薄的橫截片，在放大鏡下可以明顯看到葉綠素主要分佈在一層薄的表皮中，一些則在皮層中；由外向內含量遞減，並且只分佈在維管束週圍的細胞中。皮層厚度約爲0.3mm。在中心柱則沒有葉綠素之存在，而蘆筍嫩莖直徑之增大通常爲中心柱之增大。因此嫩莖半徑越大，不含葉綠素之組織越多。假定皮層所含色素之濃度一定，則明顯地可以看出，以重量爲計算基礎時，將會嚴重扭曲事實之眞象，使實驗數值不能正確反映外觀色調之實際視覺。

材料與方法

田間試驗設於彰化縣溪州鄉及屏東縣里港鄉，其詳情見第一報。供試材料採自上述試驗田中。

一、不同部位及粗細嫩莖中葉綠素含量：以各種不同粗細之蘆筍嫩莖，自頂端每4cm切成一段，每支蘆筍共分成四段，分別稱重，測定其直徑（最長及最短徑）及用轆尺測定每段中部之圓周。定量其葉綠素含量。

二、不同產地及各種肥料處理對葉綠素含量之影響：從彰化及屏東各處理區採樣，經測定其圓周後分析其葉綠素含量。

三、光照對葉綠素含量之影響：於七月十二日下午六時及七月十三日上午六時，由試驗田各試驗區採集之，分別測定其葉綠素含量。

四、無機營養對葉綠素合成之效應：從屏東試驗田中於早晨採樣，取回在暗室中使直立於0.1%之NH_4Cl，$(NH_4)_2SO_4$，$CuSO_4$，$FeSO_4$及$MgCl_2$等溶液中使吸收之。過夜後取出，精確沿軸分成兩半。稱量其重量以爲校正均分時之誤差。一半取出，將其切割面置於濕棉花上，使其外表面在陽光下曝光2小時，是爲陽面。另一半未曝光者爲陰面。各分別測定其葉綠素含量，求其曝光與不曝光兩者間葉綠素百分率之比值。

五、葉綠素之定量：根據A.O.A.C.法，用計算量之丙酮使與組織中之水分成80%之水溶液，在$CaCO_3$存在下共研抽出之。爲防止lipoxidase[6] 之氧化褪色，則滴加數滴之triton。經研磨及離心後，取上澄液在660及642.5nm 測定吸光度，依公式：

$$\text{Chlorophyll (mg/L)} = 7.12 \log_{10}\frac{I_0}{I}\ (\text{at } 660\text{nm}) + 16.8 \log\frac{I_0}{I}\ (\text{at } 642.5\text{ nm})$$

計算葉綠素量。

* 台灣大學農化系教授

結果與討論

一、蘆筍嫩莖大小及部位與葉綠素含量之關係：

不同粗細之綠蘆筍任選四支，由頂端開始每4cm 分爲一段，共分頂端，中上部，中下部及基部四段，分別量取其每段中部之圓周長。假定每小段成圓柱形，則其表面積爲圓周與長度之乘積；因長度爲固定，而圓周則爲$2\pi\gamma$，即與半徑成恆比關係。如測量直徑時，因蘆筍嫩莖常不爲正圓，則可以測定最長莖與最短莖之和予以平均做爲直徑之近似值。表一列示任選四支每段之各種測定值及其葉綠素含量各以重量及表面積爲基礎之比值。括弧爲以最粗蘆筍之各種相對值爲100時之指數。

表一　綠蘆筍嫩莖葉綠素含量比值及（指數）（鮮重）（10月）

編號	莖部			中下部			中上部			頂部		
	圓周長 mm	mg/kg	μg/cm²	圓周長 mm	mg/kg	μg/cm²	圓周長 mm	mg/kg	ug/cm²	圓周長 mm	mg/kg	μg/cm²
1	30	24.16 (100)	7.25 (100)	28	38.65 (100)	9.32 (100)	26	68.84 (100)	11.85 (100)	23	157.01 (100)	20.48 (100)
2	28	61.32 (254)	12.23 (168)	25	66.67 (173)	13.33 (143)	24	69.05 (107)	14.24 (120)	19	181.16 (115)	28.60 (140)
3	21	80.52 (333)	8.63 (119)	20	94.20 (244)	9.42 (102)	18	108.70 (168)	12.08 (102)	16	265.70 (169)	24.91 (122)
4	14	101.45 (420)	10.87 (150)	12	152.17 (394)	12.68 (136)	11	165.63 (255)	13.18 (111)	10	—	—

由表一明顯地可以看出，在葉綠素含量表示法上，在此一分析例中，以重量爲基礎之葉綠素表示法，在較大的（1號）嫩莖比較小者（4號）之差異在基部爲420%，在中上部爲255%。若以表一中最小

值 24.2 mg/kg 與最大值 181.2mg/kg 比則相差 7.5倍。以表面積爲基礎表示時，則粗細筍間基部之差異爲 150%，而中上部爲 111%。其最大值 28.6 $\mu g/cm^2$ 比最小值 7.25$\mu g/cm^2$ 相差 4 倍 。假設葉綠素全部分佈於表皮，設其單位面積上含量爲a 時，則全部含量爲： $2\pi\gamma.\ell.a$ ，在此 γ 爲半徑，ℓ 爲筍長，而其全部體積爲： $\pi\gamma^2.\ell$ ，設比重爲 1時，則以重量爲基礎表示時爲：

$$\frac{2\pi\gamma.\ell.a}{\pi\gamma^2.\ell} = \frac{2a}{\gamma}$$

其意義爲，同樣外觀色澤之蘆筍，其葉綠素含量以表面積爲基礎表示時之數值恆爲a 時，若以重量爲基礎表示時，則恆以 $\frac{1}{0.5\gamma}$ 之數變動，即半徑越大，葉綠素之重量含有率越少。事實上，綠蘆筍之葉綠素主要分佈在厚度約爲 3mm 之表皮及皮層之維管束周圍。而以重量爲計算基礎時，將不含葉綠素之中心柱部分予以合併平均，故其表示之數值顯然不能精確反映綠蘆筍之光學性狀。又由表一可以推論，蘆筍之頂端較基部，小筍較大筍含有較多的葉綠素。此可歸因於形態發生學上之原因。因爲較粗大的筍通常爲生長勢較強之嫩莖，其生長迅速。而蘆筍之採收，通常以長達一定長度之嫩莖爲對象。因此，在採收時，細小之嫩莖之年齡實際上較粗大者爲老，在分化上，細小嫩莖之頂端部分已接近開芒之齡；粗細嫩莖間之分化程度不同。但葉綠素含量差異除分化之原因可以考慮外，小嫩莖合成葉綠素之時間及受光照之時間也必定加長葉綠素之含量也因而增高。基部葉綠素含量較少乃因在基部，其組織形成後，仍不分晝夜一直增大成長而此部分之生長通常很大，因而將葉綠素含量相對稀釋。由此觀之，抽出嫩莖中之葉綠素予以定量來做比較必須考慮蘆筍間眞正的對應狀態才有意義。例如取粗細相同之嫩莖截取其中部之對等部位來分析比較較爲恰當。但嫩莖粗細不均等時，則以表面積之葉綠素含量表示法較能符合蘆筍外觀上之光學性質。

二、產地及氮素肥料處理對葉綠素含量之影響：

從彰化縣溪州鄉及屏東縣里港鄉試驗區採集之嫩莖，經分析其葉綠素含量如表二所示。

表二　產地及氮素肥料處理綠蘆筍嫩莖葉綠素含量

處理代號及處理 *		長度 cm	容積 cm^3	表面積 cm^2	葉綠素	
					$\mu g/cm^2$	mg/kg
1	NH_4^+	15	13	68.1	44.5	233.1
2	NH_4^+ + AM	15	13	74.7	40.8	234.4
3	NO_3^-	15	13	72.1	41.5	230.2
4	CK	15	12	70.9	43.4	256.4
屏 2	UF	10	13	75.1	19.7	138.8
屏 3	CDU	10	15	72.8	16.7	81.1
屏 9	UF+AM	10	17	78.0	16.5	75.7
屏 10	CDU+AM	10	17	87.9	15.2	78.6

* 見第一報[2]

表二列示有嫩莖長度，容積及表面積　由此可知溪州產嫩莖較細小而屏東產者較粗大。但表二中兩地出產之嫩莖葉綠素含量有很大差異，除細小及粗大筍間之差異外另一原因爲前者於七月十二日下午六時而後者

於翌日上午六時所採收者。雖然如此，由表三亦可看出不同產地之嫩莖間葉綠素之含量基本上有些差異。此可從其立地及氣象因子進一步尋找原因。例如屏東地區日夜氣溫較高，單位時間生長量較多，因而有較大的稀釋效應。立地條件之影響則於下節中再加以討論。由表二可知，在同一試驗田中，不同肥料處理區之嫩莖中葉綠素含量基本上沒有差異。此可由第一報嫩莖產量統計分析沒有差異之結果推論，因在此試驗之各種肥料處理中，氮不是無機營養之限制因子。

表三　各地綠蘆筍嫩莖之葉綠素含量mg/kg fresh wt.

採樣時間 \ 產地	屏東[4]		台南[2]		台中	新竹[3]	台北[1]	
	屏東1	屏東2	南北向	東西向			台北1	台北2
4～5月	—	42	25.5	20.2	—	—	—	—
6～7月	95	73	15.7	15.8	230	—	—	—
10～11月	70-150	62	53.2	48.0	70-260	—	24-170	—
—	—	—	—	—	—	100.3	—	34.3-264.2

三、光照對葉綠素含量之影響：

檢查各試區之上午六時及下午六時採集之嫩莖，上午所採收者平均含13.8$\mu g/cm^2$之葉綠素而下午採收者平均含 33.8ug/cm^2 ，相差約 2.5 倍。

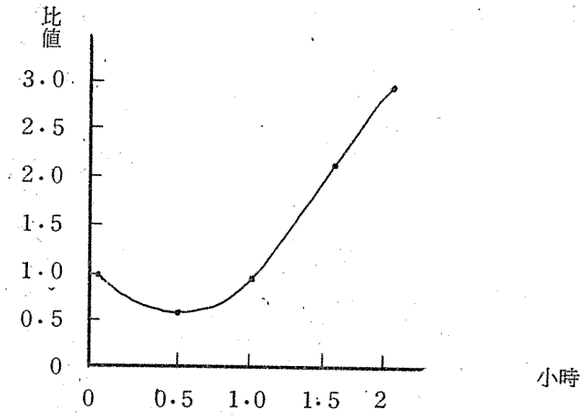
首先應考慮光照對葉綠素形成之影響。由文獻可知，葉綠素之形成[8] 在做成 protoporphyrin 時需有Mg^{++}始能完成。由 Protochlorophyllid a 還原成 7,8-dihydroprotochlorophyllid 之反應有兩型：一爲需 635 nm 之光照射者；一爲不必光照射者。鑑於遮光可生產白蘆筍，可知其遺傳因子屬前一種類型。由7,8-dihydrochlorophyllid與 phytol 藉 chlorophyllase 合成葉綠素時須經 675nm 光之照射。因此葉綠素之形成除取決於製造 porphyrin 需Mg^{++}金屬離子之外，尙須有 635nm及 675nm 光之照射。由此可以理解，早晨所採收嫩莖葉綠素含量低之原因。因爲假定第一天白天形成之葉綠素全部保存，到夜間因嫩莖繼續生長而被稀釋。但不必光之各種生化系統在夜間必仍照常工作；即在嫩莖中，由 δ-amino-laevulinic acid 合成之葉綠素前驅物（precursor ）例如 porphobilinogen 在夜間一直蓄積，須俟第二天照光後始能最後合成葉綠素。由此可以推斷，氣溫高，蘆筍不分晝夜迅速生長時，其葉綠素含量必定相對減少，尤其清早時採收者爲然。此可由表三中看出；晚秋嫩莖葉綠素含量最高而盛夏產者則較低。這也是台灣產蘆筍嫩莖受生長環境之限制，色澤較淡之主因。爲解決此一缺憾，有兩種提議：畦向採南北向以增加嫩莖之受光率或於經照射日光相當時間後採收。如考慮前者：假定南北畦向可增加嫩莖之受光率因而改善葉綠素之形成爲可行，而事實上現有實驗資料中顯示這種方法可增加嫩莖中之葉綠素含量。此結果意味着一事的兩面性：嫩莖受光率之增加之另一面表示植株受光率之減低，因爲南北畦向之植株前後株間互相遮蔭增多，其結果，理論上嫩莖必因而減產。惟此一推論有待進一步之試驗觀察。另一途徑之問題爲：應於照光多少後採收？由文獻可知，在小麥之試驗[5] 中需照日光 9 小時後葉綠素之前驅物始趨衰竭。比較王氏之試驗數據可知，直至下午三時，嫩莖中葉綠素仍一直顯著增加，尤其中段之情形爲然。故如考慮採收，集貨及運輸到加工之互相配合問題，則以傍晚採收綠蘆筍嫩莖爲宜。尤其夏天時爲然。

四、無機營養對蘆筍嫩莖中葉綠素消長之效應：

由表二及表三中易於察覺，屏東地區之綠蘆筍一般葉綠素含有量較低，導致這種現象之原因，除上述氣象因子之外，無機營養之影響應一併予以探討。比較第一報中屏東及彰化兩試驗地之土壤和土壤化學性狀可知，屏東土壤爲很砂性的土壤，有效性營養分較低，鎂之含量尤低。在這樣立地生長的蘆筍嫩莖可能會缺乏某些要素到足以影響代謝樣式之程度。因此這些蘆筍嫩莖適於做無機營養反應之生物試驗。爲檢討

葉綠素形成較少之原因，乃將於清晨採收之嫩莖在暗室中豎立於表四中所列各種培養液中使其吸收，同時在室溫下保溫培養 24 小時。此時某一原先在臨界點以下之元素所支配或活化之製造葉綠素前驅物之酵素系必能獲得充足之條件而進行工作以蓄積葉綠素之前驅物，將這些組織予以曝光時，能迅速合成葉綠素。但考慮個別樣品間原先葉綠素含有量之差異，如單測定經過曝光處理與未曝光處理樣品之葉綠素含量，難以保證結果之正確性。唯一可行之方法即比較同一嫩莖之 陽面/陰面 之葉綠素含量比值，如此其結果與樣品本身之形性無關，因而可以從任意樣品獲得葉綠素在曝光前後之變動情形之眞象。

圖一　綠蘆筍嫩莖曝光後 陽面/陰面 葉綠素含量比值之因時變化



圖一系經鎂離子處理之綠蘆筍嫩莖 陽/陰 兩面葉綠素比值與曝光時間之關係。由圖一可知，如有葉綠素之前驅物存在時，在曝光後經半小時之遲滯現象後即能迅速合成葉綠素。經2小時之曝光，其比值物3。此顯示，當葉綠素前驅物存在時，在光照下合成葉綠素之速度很快。在檢定曝光之生化反應時，2小時以上之曝光足可以研判曝光對葉綠素合成之效應，如嫩莖經某一元素處理後，曝光效應越大，表示與該元素之關係越密切或原先該元素在嫩莖組織中處於臨界濃度之下。因此由表四可知，在所試驗元素中，以鎂之效應最顯著。考慮屏東試驗田土壤之特性，其綠蘆筍缺乏鎂之可能性很大，因經鎂處理之嫩莖對曝光有很大的反應爲證。王氏[1]在台北對綠蘆筍施用白雲石時可增高綠蘆筍之葉綠素含量，準此則北部地區栽培蘆筍之土壤亦可能比較缺乏鎂。陳[2]氏在台南之試驗，鎂鐵等皆無顯著之效應，而台中地區之蘆筍葉綠素含量通常較高，可能中南部地區蘆筍之無機營養較爲和諧，在目前的栽培狀況下，不致導致要素之缺乏。表四中其他要素都無顯著促進葉綠素光合成之效果。在文獻中，錳與鋅[7]可增進葉綠素之合成，仍需進一步加以研究。

表四　經各種培養液處理之綠蘆筍嫩莖之 陽/陰 兩面葉綠素比值

培養處理	陽面／陰面
NH_4Cl	0.5-1.5
$(NH_4)_2SO_4$	1.2-1.3
$CuSO_4$	0.3-1.8
$FeSO_4$	0.5-2.2
$MgCl_2$	2.5-8.8

參考文獻

1. 王進生：綠蘆筍葉綠素形成影響因子之研究
   Ⅰ. 中國園藝 18，13-17(1972)。Ⅱ. 19，30-34(1973)
   Ⅲ. 20，300-304(1974)
2. 陳榮五、吳雪珍：施用微量元素對綠蘆筍嫩莖，葉綠素形成之影響研究。蘆筍栽培試驗研究報告 pp.40-43(1973)
3. 陳培昌、李窓明：綠蘆筍採收期留莖方式試驗，同2，pp. 28-30(1973)
4. 陳富英：綠蘆筍肥料試驗，同2，pp.46-49(1973)
5. Duysen, M.E. T. P. Freeman. Effect of moderate water deficit (stress) on wheat seedling growth and plastid pigment development physiol. plant. 31,262－266 (1974)。
6. Holden M. Chlorophyll bleaching system in leaves. Phytochem. 9，1771－1777 (1970)
7. Kalekenov. D. K., I. N. Titov. Effect of trace elements on the pigment systems of plants. Biol. Nanki 53－58 (1971)
8. Richter, G. "Stoffwechselphysiologie der pflanze" Georg-Thieme Verlag, Stattgart, pp 388 ff.

Summary

1. Considering that the distribution of chlorophyll is localized mainly in the epidermis and cortex in the spears of asparagus, an expression of the content with respect to surface area was suggested, which can better reflect the optical reality of apparagus.
2. The difference of chlorophyll content between large and small spears is due to the different growth stage, that the small one is more aged and more differentiated, thus contains more chlorophyll.
3. Considering that the illumination is essential factor for the chlorophyll formation and that the growth of spears during the night may dilute the chlorophyll content, it was proposed to excute the harvest in the late afternoon.
4. An simple contrast comparison method to evaluate probable deficiency of a nutrient was proposed.