



不同氮素形态及其配比对紫苏品质 及矿质元素累积的影响

隋利, 易家宁, 王康才*, 薛启, 梁永富

(南京农业大学 园艺学院, 南京 210095)

摘要:以紫苏幼苗为试验材料, 通过营养液盆栽试验, 在等氮条件下设置 6 种不同氮素形态[NH_4^+-N 、 NO_3^--N 、 $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$]及其配比处理, 测定其采收期前硝酸盐和亚硝酸盐含量的变化以及营养成分和药用成分的含量, 探讨不同氮素形态及其比对紫苏叶片硝酸盐和亚硝酸盐含量的动态变化、营养成分、矿质元素和次生代谢产物含量的影响, 为生产中合理施用氮肥提供理论基础。结果表明, (1) 紫苏叶片中的硝酸盐和亚硝酸盐含量随栽培时间的增加而不断累积, 在采收前, 叶片硝酸盐含量在全铵处理下最低, 亚硝酸盐含量在铵硝比($\text{NH}_4^+-\text{N}/\text{NO}_3^--\text{N}$)为 25 : 75 时最低。(2) 紫苏叶片中的可溶性糖、淀粉含量在全硝态氮处理下最高, 而其游离氨基酸和维生素 C 含量在酰胺态氮处理时达到最大值; 紫苏叶片中 P、K、Ca 累积量在铵硝比为 50 : 50 时最高, Zn、Fe、Mn 元素的含量在全铵态氮处理下最高, 而 Mg 元素含量在全硝态氮处理下含量最高。(3) 紫苏叶片中的总黄酮含量、挥发油含量以及迷迭香酸含量均随着铵硝比的增加呈现先升高后降低的趋势, 并在铵硝比为 25 : 75 时最高; 紫苏叶片中花色苷相对含量在酰胺态处理下达到最大值。研究表明, 在紫苏的栽培生产中, 铵硝比为 25 : 75 更有利于提高其药用品质和营养品质, 并且能降低其亚硝酸盐含量。

关键词: 紫苏; 氮素形态; 硝酸盐; 营养品质; 次生代谢产物

中图分类号: Q948.11; S567.2

文献标志码: A

Effect of Different Nitrogen Forms and Ratios on Quality and the Contents of Trace Elements of *Perilla frutescens* (L.) Britt

SUI Li, YI Jianing, WANG Kangcai*, XUE Qi, LIANG Yongfu

(College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: We conducted pot culture experiment to study the effect of different nitrogen forms[NH_4^+-N , NO_3^--N , $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$] and ratios on the changes in nitrate and nitrite contents, the contents of nutrients and medicinal ingredients of *Perilla frutescens* (L.) Britt seedlings. We studied the impact of different nitrogen forms and ratios on the *P. frutescens* which mainly includes dynamic changes of nitrate and nitrite contents, nutritional components, mineral elements and secondary metabolites, in order to provides a theoretical basis for the rational application of nitrogen fertilizer in *P. frutescens* cultivation and production. The results showed that: (1) the contents of nitrate and nitrite in *P. frutescens* leaves accumulates with the time proceeding. Before harvesting, nitrate content reaches the lowest point when $\text{NH}_4^+-\text{N}/\text{NO}_3^--\text{N}$ was 100 : 0, the content of nitrite reaches the lowest point when $\text{NH}_4^+-\text{N}/\text{NO}_3^--\text{N}$ was 25 : 75. (2) The

收稿日期: 2018-04-01; 修改稿收到日期: 2018-06-08

基金项目: 全国中药资源普查项目[财社(2017)66号]

作者简介: 隋利(1993—), 女, 在读硕士研究生, 主要从事药用植物栽培与生理的研究。E-mail: 2015104133@njau.edu.cn

* 通信作者: 王康才, 硕士研究生导师, 主要从事药用植物栽培与生理的研究。E-mail: wangkc@njau.edu.cn

contents of soluble sugar and starch achieved the highest level when $\text{NH}_4^+-\text{N}/\text{NO}_3^--\text{N}$ was 0 : 100, but the contents of free amino acid and Vc achieved the highest level under amide-nitrogen treatment; The contents of P, K and Ca had their maximum values when $\text{NH}_4^+-\text{N}/\text{NO}_3^--\text{N}$ was 50 : 50, the contents of Zn, Fe and Mn had their maximum values when $\text{NH}_4^+-\text{N}/\text{NO}_3^--\text{N}$ was 100 : 0, and the content of Mg was peaked when $\text{NH}_4^+-\text{N}/\text{NO}_3^--\text{N}$ was 0 : 100. (3) The contents of total flavonoids, volatile oil and rosmarinic acid firstly increased and then declined constantly along with the increase of $\text{NH}_4^+-\text{N}/\text{NO}_3^--\text{N}$ ratio, and these contents peaked when $\text{NH}_4^+-\text{N}/\text{NO}_3^--\text{N}$ was 25 : 75; The relative content of anthocyanin achieved the highest level under amide-nitrogen treatment. In the cultivation and production of *P. frutescens*, when the $\text{NH}_4^+-\text{N}/\text{NO}_3^--\text{N}$ ratio of 25 : 75, we can get the best medicinal quality and nutritional quality, and control the content of nitrite.

Key words: *Perilla frutescens* (L.) Britt; nitrogen forms; nitrate; nutritional quality; secondary metabolite

随着人们生活水平的提高,对食品安全的关注度逐渐增加,对蔬菜品质的要求也越来越高,硝酸盐以及亚硝酸盐含量的高低被看作是蔬菜质量的一个重要指标。硝酸盐和亚硝酸盐主要通过食用蔬菜进入人体^[1],亚硝酸盐作为一种有毒物质,在人体食用后会在体内与次级胺结合成亚硝胺,从而诱发各种癌症^[2]。植物中的硝酸盐和亚硝酸盐含量受很多因素影响,其中氮肥的不合理施用必然会加剧植物中硝酸盐的累积。王正银等^[3]研究发现施氮量与小白菜硝酸盐累积量之间有显著关系,并呈现二次回归关系。姜慧敏等^[4]报道,番茄果实的硝酸盐含量随氮肥施用量的增加而增加,两者呈显著的正相关关系。此外,不同的氮素形态也影响着蔬菜中硝酸盐的累积量。硝态氮、铵态氮和酰胺态氮是植物利用吸收氮素的主要形态,谭超等^[5]发现施用硫酸铵、硝酸铵以及混合肥料时,几种蔬菜体内亚硝酸盐的积累有显著性差异。有研究表明,适当增施铵态氮肥可有效降低菠菜茎叶中硝酸盐和亚硝酸盐的累积^[6]。

紫苏是中国较为常见的药食兼用型蔬菜,因其营养成分丰富又可解鱼蟹毒,深受大众的喜爱,但是取食营养器官或贮藏体的叶类蔬菜更容易富集硝酸盐,研究发现,人体内摄取的硝酸盐有 70%~85% 来自于食用蔬菜^[7],所以如何确保其安全性至关重要。本研究通过施用不同形态的氮素试验,观测紫苏生长期硝酸盐和亚硝酸盐含量以及营养指标的动态变化特征,寻求其变化规律,以期控制紫苏硝酸盐含量,提高食用紫苏品质,为紫苏氮肥的合理施用提供理论与实践依据。

1 材料和方法

1.1 试验设计

以产于河北的紫苏种子为供试材料,经南京农

业大学中药材科学系王康才教授鉴定为唇形科紫苏 [*Perilla frutescens* (L.) Britt]。试验在南京农业大学校内实验基地进行,于 2017 年 4 月选择大小一致,长势相同的紫苏幼苗进行水培试验,每盆 3 株,盆高 29 cm × 直径 26 cm,基质为蛭石和珍珠岩按照 5 : 1 比例混合而成。基本营养液配方中大量元素采用霍格兰营养液配方,微量元素采用阿农营养液配方,基本营养液 pH 6.0。试验在总氮量一致 (N 浓度为 15 mmol/L) 的条件下,设计 5 个不同水平的铵硝态氮比例 ($\text{NH}_4^+-\text{N}/\text{NO}_3^--\text{N}$) [100 : 0、75 : 25、50 : 50、25 : 75 和 0 : 100] 处理及 1 组酰胺态氮处理,其中 NH_4^+-N 由 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 提供, NO_3^--N 由 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 提供,酰胺态氮由 $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ 供氮。各处理重复 6 次,并在所有营养液中加入硝化抑制剂二氰胺 (DCD) 7 $\mu\text{mol/L}$ 。每隔 10 d 浇 1 次营养液,每盆每次浇 500 mL。

1.2 测定指标及方法

1.2.1 叶片硝酸盐及亚硝酸盐含量 在 6、7、8 月下旬随机选择各处理植株 3 株,分别采集紫苏顶部第 2—3 节对称叶片,测定其硝酸盐和亚硝酸盐含量。硝酸盐含量用水杨酸-硫酸法测定;亚硝酸盐含量用国家标准 GB 5009.33-2010 的测定标准^[8]。

1.2.2 叶片可溶性糖和淀粉含量 叶片可溶性糖和淀粉含量采用蒽酮比色法测定^[9]。

1.2.3 叶片游离氨基酸、维生素 C 和营养元素含量 叶片游离氨基酸含量采用茚三酮显色法测定^[9];维生素 C (Vc) 含量采用比色法^[9]测定;Fe、Mg、Zn、Ca、K、N、Cu 含量用 ICP-MS 法测定。

1.2.4 叶片总黄酮含量 将采收的紫苏叶片烘干粉碎,过 4 号筛,准确称取 0.100 0 g 粉末于试管中,加入 70 % (体积分数) 乙醇 10 mL,在一定温度下超声处理 1 h 后过滤,减压抽滤,所得滤液定容至 25

mL,作为待测液。取 2 mL 滤液于试管中,加入 0.5 mL 5% 的亚硝酸钠溶液,静置 6 min,再加入 0.5 mL 100 g/L 的硝酸铝溶液,摇匀并静置 6 min,加入 4 mL 40 g/L 的氢氧化钠溶液,最后用 70 %乙醇定容至 10 mL,摇匀,静置 15 min,在 510 nm 波长下比色,测定吸光值。以芦丁为对照品绘制标准曲线。

1.2.5 叶片挥发油含量 将阴干后的紫苏叶片粉碎过 20 目筛,称取粉末 50 g,置于 1 000 mL 圆底烧瓶中,按《中国药典》2015 年版方法提取挥发油 5 h,读取挥发油体积,加适量无水硫酸钠对挥发油进行干燥,求其得油率。

1.2.6 叶片迷迭香酸含量 参照黄亮辉等^[10]的方法进行。将采收的紫苏叶片烘干粉碎,过 4 号筛,精确称取 0.5 g 细粉于具塞锥形瓶中,精密加入 80% 甲醇 50 mL,密塞,称重,超声 45 min,放冷,再称重,用 80% 甲醇补足减少的重量,摇匀,滤液用微孔滤膜(0.2 μm)过滤,滤过即得。实验仪器为 LC-20AT 岛津高效液相色谱仪,色谱条件:Diамonsil C18(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相为甲醇-1% 磷酸(39 : 61),检测波长 330 nm,流速 1.0 mL/min,柱温 25 ℃。

1.2.7 叶片花色苷含量 选取 1% 盐酸甲醇作为提取液,用电子天平准确称取 1.0 g 叶片,剪碎加入 5 mL 提取液研磨成匀浆,用 1% 盐酸甲醇定容至 10 mL,离心,上清液供测定用。将上述提取液用紫外可见分光光度计测定 530 和 657 nm 处的吸光度值 OD₅₃₀ 和 OD₆₅₇。花青苷含量的计算根据 Rabino 等^[11]的方法,公式为 $A = (OD_{530} - 0.25 OD_{657}) / g$,式中 A 为花色苷相对含量(色素单位)。

1.3 数据处理

试验数据采用 Excel 2007 和 SPSS 20.0 软件进

行统计分析,LSD 法检验差异显著性。

2 结果与分析

2.1 氮素形态及其配比对紫苏叶片硝酸盐和亚硝酸盐积累的影响

如表 1 所示,随着紫苏的生长,不同氮素形态及配比处理紫苏叶片中的硝酸盐含量均不断增加。其中,在 6 和 7 月份,紫苏叶片中硝酸盐含量均随着硝态氮比例的增加呈现出先增加后减少的趋势,均在全铵处理(NH₄⁺-N/NO₃⁻-N=100 : 0)最低,但两月份分别在 NH₄⁺-N/NO₃⁻-N 为 50 : 50 和 25 : 75 时达到最大值,且显著高于其余配比和酰胺态氮(CO(NH₂)₂)处理($P < 0.05$);而在采收期前(8 月份),紫苏叶片中硝酸盐含量随着硝态氮比例的增加而逐渐增加,在全硝处理(NH₄⁺-N/NO₃⁻-N=0 : 100)时达到最高,并显著高于其余配比和酰胺态氮处理。在整个生育期内,紫苏叶片硝酸盐含量在单一氮素形态处理下均表现为全铵处理显著最低,而酰胺态氮处理在 6 月份显著最高,全硝处理(NH₄⁺-N/NO₃⁻-N=0 : 100)在 7、8 月份显著最高。

同时,不同的氮素形态及其配比处理对紫苏叶片中的亚硝酸盐含量也影响显著(表 1)。在整个生育期内,紫苏叶片中亚硝酸盐含量逐步累积。在 6 月份,紫苏叶片中亚硝酸盐含量在全硝处理下最高(0.36 mg/kg),在 NH₄⁺-N/NO₃⁻-N 为 75 : 25 时含量最低(0.21 mg/kg),但与全铵和酰胺态氮处理无显著差异;从 7 月份开始,紫苏叶片亚硝酸盐含量均以 NH₄⁺-N/NO₃⁻-N 为 50 : 50 处理最高并与其他处理差异显著,又均以 NH₄⁺-N/NO₃⁻-N 为 25 : 75 处理最低,并与全铵和酰胺态氮处理大多差异显著。在采收前,酰胺态氮处理和全铵处理的紫苏

表 1 不同氮素形态及其配比下紫苏叶片中硝酸盐积累的变化
Table 1 The nitrate accumulation in *P. frutescens* leaves under different nitrogen forms and ratios($\bar{x} \pm s, n=3$)

| 处理 Treatment | | 硝酸盐含量 Nitrate content/(mg/kg) | | | 亚硝酸盐含量 Nitrite content/(mg/kg) | | |
|---|---------|-------------------------------|------------|-------------|--------------------------------|------------|-------------|
| | | 6 月 June | 7 月 July | 8 月 August | 6 月 June | 7 月 July | 8 月 August |
| NH ₄ ⁺ -N /NO ₃ ⁻ -N | 100 ∶ 0 | 0.78±0.01e | 1.76±0.03e | 2.38±0.08e | 0.28±0.02b | 0.35±0.01d | 0.47±0.02d |
| | 75 ∶ 25 | 0.99±0.01bc | 1.75±0.02e | 3.14±0.04cd | 0.21±0.02c | 0.39±0.01c | 0.53±0.01c |
| | 50 ∶ 50 | 1.14±0.02a | 1.83±0.02d | 3.53±0.10c | 0.33±0.01a | 0.53±0.01a | 0.72±0.02a |
| | 25 ∶ 75 | 1.05±0.04b | 2.28±0.03a | 4.10±0.26b | 0.25±0.02b | 0.33±0.02d | 0.42±0.02e |
| | 0 ∶ 100 | 0.84±0.04d | 2.15±0.01b | 5.11±0.66a | 0.36±0.01a | 0.48±0.01b | 0.64±0.01b |
| CO(NH ₂) ₂ | | 0.99±0.03c | 1.94±0.03c | 2.70±0.16de | 0.27±0.03b | 0.39±0.00c | 0.50±0.03cd |

注:同列数据后不同字母表示处理间差异达 5% 显著水平。下同
Note : Values followed by different letters in a column are significant different among treatments at the 5% level. The same as follows

叶片亚硝酸盐含量较低,较最高组(50 : 50)分别显著降低了 30.56%、34.72%。

以上结果说明,硝态氮有助于增强硝酸还原酶活性,促进硝酸盐还原成亚硝酸盐。

2.2 氮素形态及其对比对紫苏叶片中可溶性糖、淀粉、游离氨基酸和维生素 C 含量的影响

由表 2 可知:紫苏叶片中可溶性糖和淀粉含量均在全硝处理时达到最大值,全硝处理可溶性糖分别约为全铵处理和酰胺态氮处理的 1.22 倍和 1.38 倍,淀粉含量分别为全铵处理和酰胺态氮处理的 1.09 倍和 1.14 倍,且三者之间存在显著性差异;紫苏叶片中可溶性糖和淀粉含量均在铵硝比为 50 : 50 时最低,并与其他处理差异显著;随着硝态氮比例的增加,各硝铵氮配比处理紫苏叶片中游离氨基酸含量呈现降低的趋势,在全硝处理下含量最低,用酰胺态氮处理时,游离氨基酸含量显著高于所有硝铵氮配比处理,约为全铵和全硝处理的 1.05 倍和 1.84 倍。此外,紫苏叶片中含有丰富的水溶性维生素 C (Vc),其含量在酰胺态氮处理下最高,其次是全硝处理和铵硝比为 50 : 50 的处理,并且二者差异不显著,但其在全铵处理下含量最低,且与其余处理差异

显著。可见,硝态氮更有利于可溶性糖和淀粉的积累,而酰胺态氮更有利于游离氨基酸和维生素 C 含量的积累。

2.3 氮素形态及其对比对紫苏叶片中矿质元素含量的影响

表 3 显示,紫苏叶片中 P 和 K 元素含量表现出一致的变化趋势,都是在铵硝态氮比为 50 : 50 时最高,在酰胺态氮处理时含量最低。除了 K 元素,紫苏叶片中 Ca 元素的含量较高,并且较高的硝态氮比例更有利于 Ca 的积累,同时,酰胺态氮与全硝态氮处理、铵硝比为 25 : 75 处理以及铵硝比为 50 : 50 处理之间的差异并不显著。紫苏叶片中 Mg 的含量随着硝态氮含量的增加大致呈现增加的趋势,并在全硝态氮处理下达到最大值(3.91 mg · g⁻¹),为全铵态氮处理的 1.46 倍。此外,相比较而言,紫苏叶片中 Zn、Fe、Mn 和 Cu 元素的含量较低。其中紫苏叶片中 Cu 元素含量在各处理间差异并不显著,而叶中 Zn、Fe、Mn 元素含量变化规律大致相同,都是随着硝态氮比例的增加出现先降低后升高的趋势,并且都在全铵态氮处理下达到最大值。以上结果说明不同矿质元素的累积与氮素形态有关,

表 2 不同氮素形态及其配比下紫苏叶片中可溶性糖、淀粉、游离氨基酸和维生素 C 含量的变化

Table 2 The contents of soluble sugar, amylum, amino acids and Vc in *P. frutescens* leaves under different nitrogen forms and ratios ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

| 处理 Treatment | | 可溶性糖含量 Soluble sugar content /(mg · g ⁻¹) | 淀粉含量 Amylum content /(mg · g ⁻¹) | 游离氨基酸含量 Amino acids content /(mg · g ⁻¹) | 维生素 C 含量 Vc content /(mg · 100g ⁻¹) |
|---|---------|---|--|--|---|
| NH ₄ ⁺ -N /NO ₃ ⁻ -N | 100 ∶ 0 | 0.09±0.01b | 0.46±0.02b | 0.75±0.01b | 17.42±0.18e |
| | 75 ∶ 25 | 0.08±0.01c | 0.44±0.01c | 0.65±0.01c | 21.43±0.83d |
| | 50 ∶ 50 | 0.04±0.00d | 0.36±0.00e | 0.62±0.01c | 27.13±0.12b |
| | 25 ∶ 75 | 0.06±0.01c | 0.42±0.01d | 0.55±0.03d | 25.47±0.67c |
| | 0 ∶ 100 | 0.11±0.01a | 0.50±0.02a | 0.43±0.01e | 27.33±0.30b |
| CO(NH ₂) ₂ | | 0.08±0.00c | 0.44±0.00cd | 0.79±0.01a | 28.40±0.48a |

表 3 不同氮素形态及其配比下紫苏叶片中矿质元素含量的变化

Table 3 The contents of mineral elements in *P. frutescens* leaves under different nitrogen forms and ratios($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

| 处理 Treatment | 磷 P /(mg · g ⁻¹) | 锌 Zn /(mg · g ⁻¹) | 铁 Fe /(mg · g ⁻¹) | 锰 Mn /(mg · g ⁻¹) | 镁 Mg /(mg · g ⁻¹) | 钙 Ca /(mg · g ⁻¹) | 铜 Cu /(mg · g ⁻¹) | 钾 K /(mg · g ⁻¹) | |
|---|---------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|--------------|
| NH ₄ ⁺ -N /NO ₃ ⁻ -N | 100 ∶ 0 | 3.31±0.04d | 0.12±0.00a | 0.62±0.00a | 0.32±0.00a | 2.67±0.02d | 18.47±0.20b | 0.02±0.00a | 42.25±0.79b |
| | 75 ∶ 25 | 3.99±0.20c | 0.09±0.00c | 0.48±0.01b | 0.25±0.01b | 2.87±0.13c | 19.19±0.98b | 0.02±0.00a | 41.34±1.93bc |
| | 50 ∶ 50 | 4.96±0.20a | 0.10±0.00b | 0.37±0.02d | 0.19±0.01d | 3.18±0.15b | 22.31±1.18a | 0.02±0.00b | 46.98±1.74a |
| | 25 ∶ 75 | 4.65±0.13b | 0.09±0.00c | 0.37±0.00d | 0.17±0.00e | 3.08±0.06b | 21.75±0.65a | 0.01±0.00c | 42.33±0.52b |
| | 0 ∶ 100 | 4.43±0.07b | 0.10±0.00bc | 0.62±0.01a | 0.23±0.00c | 3.91±0.01a | 22.17±0.33a | 0.02±0.00a | 41.25±0.49bc |
| CO(NH ₂) ₂ | 3.99±0.12c | 0.07±0.01d | 0.45±0.01c | 0.17±0.00e | 3.07±0.08b | 21.15±0.45a | 0.02±0.00ab | 39.59±1.01c | |

表 4 不同氮素形态及其配比下紫苏叶片中次生代谢产物含量的变化
Table 4 The contents of secondary metabolite in *P. frutescens* leaves under different nitrogen forms and ratios($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

| 处理 Treatment | | 总黄酮含量 Total flavonoids content ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) | 挥发油含量 Content of oil/(%) | 迷迭香酸含量 Rosmarinic acid content/($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) | 花色苷相对含量 Content of anthocyanins/(g^{-1}) |
|---|---------|--|-----------------------------|--|---|
| NH_4^+-N / NO_3^--N | 100 : 0 | 19.85 \pm 0.72d | 0.57 \pm 0.02c | 3.60 \pm 0.06b | 6.15 \pm 0.22c |
| | 75 : 25 | 20.89 \pm 0.90d | 0.53 \pm 0.02c | 3.39 \pm 0.09c | 7.56 \pm 0.46b |
| | 50 : 50 | 22.96 \pm 0.90c | 0.63 \pm 0.03b | 2.56 \pm 0.04d | 4.21 \pm 0.17d |
| | 25 : 75 | 28.93 \pm 0.98a | 0.74 \pm 0.03a | 4.04 \pm 0.11a | 8.35 \pm 0.11a |
| | 0 : 100 | 25.20 \pm 1.19b | 0.67 \pm 0.01b | 2.68 \pm 0.08d | 8.04 \pm 0.11a |
| $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ | | 26.66 \pm 0.95b | 0.67 \pm 0.04b | 3.65 \pm 0.06b | 8.47 \pm 0.16a |

并且不同氮素形态配比 Fe、Mn、Zn 元素的影响较大。

2.4 氮素形态及其对比对紫苏叶片中次生代谢产物的影响

不同氮素形态及其对比对紫苏叶片中次生代谢产物总黄酮、挥发油和迷迭香酸含量的影响也较大(表 4)。随着硝态氮比例的增加,紫苏叶片中总黄酮和挥发油的含量均先升高后降低,并均在 $\text{NH}_4^+-\text{N}/\text{NO}_3^--\text{N}$ 为 25 : 75 时达到最大值,且显著高于酰胺态氮和其余铵硝氮配比处理,其总黄酮含量分别为全铵态氮处理、全硝态氮处理和酰胺态氮的 1.46、1.15 和 1.09 倍,挥发油含量分别为和全铵态氮处理、全硝态氮处理和酰胺态氮处理的 1.29、1.10 和 1.10 倍;全硝态氮和酰胺态氮处理间的总黄酮和挥发油的含量均无显著差异,但均显著高于全铵态氮处理。同时,紫苏叶片中迷迭香酸含量随着硝态氮比例的增加呈现先降低后升高再降低的变化趋势,同样在 $\text{NH}_4^+-\text{N}/\text{NO}_3^--\text{N}$ 为 25 : 75 处理下显著高于其他处理,较全铵处理、全硝处理以及酰胺态处理分别显著提高了 10.89%、33.66% 和 9.65%,而全铵态氮处理与酰胺态氮处理之间无显著差异。另外,紫苏叶片中花色苷相对含量以酰胺态处理最高,其次为 $\text{NH}_4^+-\text{N}/\text{NO}_3^--\text{N}$ 为 25 : 75 和全硝态氮处理的处理,三者间无显著差异,但三者显著高于其余处理。以上结果说明 $\text{NH}_4^+-\text{N}/\text{NO}_3^--\text{N}$ 为 25 : 75 更有利于紫苏次生代谢产物的积累。

3 讨 论

3.1 氮素形态及其配比与紫苏叶片中硝酸盐、亚硝酸盐积累的关系

在实际栽培生产中氮肥的不合理施用有可能引起植物硝酸盐和亚硝酸盐含量超标。对于绿叶蔬

菜,其安全性评价主要集中在硝酸盐和亚硝酸盐的积累以及农药残留上。根据世界卫生组织和联合国粮农组织的规定,硝酸盐、亚硝酸盐的日允许摄入量分别为 3.6 mg/(kg·d⁻¹)和 0.13 mg/(kg·d⁻¹)。本实验中紫苏叶片硝酸盐和亚硝酸盐含量最高分别为 5.11 mg/kg 和 0.72 mg/kg,远远低于 432 mg/kg和 15.6 mg/kg(按平均体重 60 kg,日食蔬菜鲜重 0.5 kg 计算)^[12]。说明合理的施用氮肥并不会引起硝酸盐和亚硝酸盐含量的超标,但在实际生产中还需科学施肥,尽量降低植物体内的硝酸盐和亚硝酸盐的积累。

侯迷红等^[13]通过对白菜、油麦菜和生菜的研究发现,随着硝铵比的减小,各蔬菜的硝酸盐含量逐渐减少,并在全硝态氮处理下达到最大值。许自成等^[14]也发现随着硝态氮比例的增加,鲜烟叶中硝酸盐含量不断上升。同时,氮肥与有机肥配合能够降低黄瓜硝酸盐含量,交互作用极显著^[15]。本研究结果表明:不同的氮素形态及其对比对紫苏叶片硝酸盐和亚硝酸盐含量影响显著。随着栽培时间的增加,叶片硝酸盐含量随硝态氮含量的增加而不断累积,在采收前(8 月份)全铵态氮处理的硝酸盐含量最低;而 8 月份时亚硝酸盐含量在 $\text{NH}_4^+-\text{N}/\text{NO}_3^--\text{N}$ 为 25 : 75 时最低。说明施用硝态氮会增加植物硝酸盐的积累,可能是因为底物浓度高而导致硝酸盐含量增加。也有研究表明铵态氮可以抑制根系对硝态氮的吸收,从而来降低硝酸盐的积累^[16]。适当比例的铵硝配施有利于降低紫苏叶片亚硝酸盐含量,可能是因为硝态氮诱导了硝酸还原酶活性增强,使硝酸盐转化为亚硝酸盐,亚硝酸盐被亚硝酸还原酶还原为铵根离子,一定程度上抑制了硝酸根的还原。同时蔬菜中的硝酸盐和亚硝酸盐含量还受施肥时间和收获时间的影响,一般叶类蔬菜硝酸盐含量的高

峰期在施肥后 10 d 左右出现^[17]。在实际生产中,对紫苏的追肥应该避开采收期进行,以减少其亚硝酸盐的累积。

3.2 氮素形态及其配比与紫苏叶片营养品质的关系

紫苏作为一种药用芳香蔬菜,营养丰富。蔬菜的营养品质指标有纤维素、维生素、氨基酸、糖、蛋白质以及矿质元素等因子。其中维生素 C 作为人体内必需的营养物质,人体不能合成,而需要从食物中摄取。本试验发现,酰胺氮态处理下紫苏叶片维生素 C 含量最高,其次是全硝处理和铵硝比为 50 : 50 处理。说明施用硝态氮和酰胺态氮更有利于维生素 C 的形成,这与杨月英等^[18]在番茄上的研究结果相似。不同氮素形态对紫苏叶片的可溶性糖含量、淀粉含量以及游离氨基酸含量也影响显著。紫苏叶片可溶性糖和淀粉含量随着供硝比例的升高而呈现先降低后升高的趋势,并在全硝处理下达到最大值。说明硝态氮处理更有利于可溶性糖和淀粉的积累,可能是因为硝态氮有利于碳水化合物的合成、分解代谢和运输,对植物光合碳同化的促进作用大于铵态氮^[19]。另外,紫苏叶片中游离氨基酸含量在酰胺态氮处理下最高,可能是由于不同氮素形态在作物体内代谢途径差异较大造成的。

张富仓等^[20]发现适宜的氮素形态和比例,不仅能够促进白菜生长和品质的提高,还能增加其对水分和养分的吸收和利用,硝态氮的吸收有利于促进阳离子的吸收。本研究结果表明:紫苏叶片中 Fe、Mg、Ca 和 Cu 含量都在全硝处理下最高,K、P 和 Ca 含量在铵硝比为 50 : 50 时最高。发生这种现象的原因可能是因为一方面植物吸收硝态氮和铵态氮后,根系 pH 发生变化,影响其对矿质元素的吸收,进而影响其含量;另一方面铵根离子可能与阳离子有竞争作用。其机理还有待进一步探讨。在中国人体中,钙是缺失最严重的营养元素之一,不足营养协

会推荐的日摄入量的 50%,本研究发现紫苏叶片中 Ca 含量丰富,可以作为补钙蔬菜进行推广。同时,本次试验中紫苏叶片矿质元素含量均符合国家标准。

3.3 氮素形态及其配比与紫苏叶片次生代谢产物含量的关系

紫苏叶片中总黄酮、挥发油、迷迭香酸和花色苷都是其次生代谢产物,同时也是主要的药用成分。氮素是影响植物生长和次生代谢的主要外界因素。不同的氮素形态可能通过影响植物体内的 C/N 代谢,进而影响其次生代谢产物的含量。本研究中紫苏叶片总黄酮含量随铵硝比的增加而呈现先升高后降低的趋势,这可能是因为铵态氮有利于可溶性糖等光合产物的积累,而黄酮类化合物在植物体内合成代谢的起初源就为光合产物^[21]。但花色苷作为一种类黄酮化合物,是由花色素与糖结合而生成的,这可能也是紫苏叶片花色苷与可溶性糖含量都在 $\text{NH}_4^+ \text{-N}/\text{NO}_3^- \text{-N}$ 为 50 : 50 时最低的原因。紫苏叶片中挥发油含量变化趋势与其总黄酮含量变化趋势相似,这与苏芸芸等^[22]在藿香上的研究结果一致。于曼曼等^[23]发现夏枯草果穗中的迷迭香酸含量随铵态氮比例的降低而先减小后增加,在 $\text{NH}_4^+ \text{-N}/\text{NO}_3^- \text{-N}$ 为 25 : 75 时含量最高,本实验结果也与之相同。无论是外界刺激或植物本身,都可能因其生境改变而不同程度地刺激或抑制自身次生代谢物的形成。

综上所述,不同氮素形态及配比对紫苏叶片的硝酸盐积累、营养成分以及主要化学成分的含量均有不同程度的影响。适当的氮素形态及配比比较单一的氮素形态更有利于降低其亚硝酸盐含量,并且 $\text{NH}_4^+ \text{-N}/\text{NO}_3^- \text{-N}$ 为 25 : 75 的处理能有效提高叶片中总黄酮、挥发油以及迷迭香酸的含量,可以将其作为药用植物的施用指标。而酰胺态氮可以提高紫苏叶片维生素 C 和游离氨基酸的含量,可以将其作为叶类蔬菜的施用指标。

参考文献:

[1] SANTAMARIA P, ELIA A, PARENTE A, *et al.* Fertilization strategies for lowering nitrate content in leafy vegetables: chicory and rocket salad cases[J]. *Journal of Plant Nutrition*, 1998, **21**(9): 1 791-1 803.

[2] 赵 静,王 娜,冯叙桥,等. 蔬菜中硝酸盐和亚硝酸盐检测方法的研究进展[J]. *食品科学*, 2014, **35**(8): 42-49.

ZHAO J, WANG N, FENG X Q, *et al.* Advances in detection methods for nitrate and nitrite in vegetables[J]. *Food Science*, 2014, **35**(8): 42-49.

[3] 王正银,李会合,李宝珍,等. 氮肥、土壤肥力和采收期对小白菜体内硝酸盐含量的影响[J]. *中国农业科学*, 2003, **36**(9): 1 057-1 064.

WANG Z Y, LI H H, LI B Z, *et al.* Influence of nitrogen rates, soil fertility and harvest time on nitrate in Chinese Cabbage [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2003, **36**(9): 1 057-1 064.

[4] 姜慧敏,张建峰,杨俊诚,等. 不同氮肥用量对设施番茄产量、品质和土壤硝态氮累积的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2010, **29**(12): 2 338-2 345.

- JIANG H M, ZHANG J F, YANG J C, *et al.* Effects of different treatments of nitrogen fertilizer on yield, quality of tomato and soil NO_3^- -N accumulation in vegetable-greenhouse [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2010, **29** (12): 2 338-2 345.
- [5] 谭 超, 颜嘉雯, 何 牧, 等. 不同施肥种类与加工方法对蔬菜亚硝酸盐含量变化的影响[J]. 云南农业大学学报, 2010, **25** (3): 398-402.
- TAN C, YAN J W, HE M, *et al.* Effect of different fertilizer types and processing methods on the nitrite content of vegetables[J]. *Journal of Yunnan Agricultural University* (Natural Science), 2010, **25** (3): 398-402.
- [6] 张英鹏, 徐旭军, 林咸永, 等. 氮素形态对菠菜可食部分硝酸盐和草酸累积的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2006, **12** (2): 227-232.
- ZHANG Y P, XU X J, LIN X Y, *et al.* Effects of nitrogen forms on nitrate and oxalate accumulation in edible parts of spinach[J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2006, **12** (2): 227-232.
- [7] SANTAMARIA P, ELIA A, PARENTE A, *et al.* Fertilization strategies for lowering nitrate content in leafy vegetables; chicory and rocket salad cases[J]. *Journal of Plant Nutrition*, 1998, **21** (9): 1 791-1 803.
- [8] 中华人民共和国卫生部. 中华人民共和国国家标准 GB5009. 33-2010 食品中亚硝酸盐与硝酸盐的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010.
- [9] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000.
- [10] 黄亮辉, 苏 琪, 张新新, 等. 不同采收期的紫苏叶和白苏叶中迷迭香酸的含量测定[J]. 药物分析杂志, 2012, (10): 1 753-1 755.
- HUANG L H, SU Q, ZHANG X X, *et al.* Determination of rosmarinic acid in leaf of *Perilla frutescens* (L.) Britt. var. *typica* (Makino) Makino and *Perilla frutescens* (L.) Britt. Var. *acuta* (Thunb.) Kudo at different harvest time points [J]. *Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis*, 2012, (10): 1 753-1 755.
- [11] RABINO I, MANCINELLI A L. Light, temperature, and anthocyanin production [J]. *Plant Physiology*, 1986, **81**: 922-924.
- [12] 段云晶, 王康才, 李 柯, 等. 氮素形态配比对桔梗硝酸盐和亚硝酸盐动态积累及营养品质的影响[J]. 西北植物学报, 2016, **36** (4): 738-744.
- DUAN Y J, WANG K C, LI K, *et al.* Nitrate and nitrite accumulation and nutritional quality of *Platycodon grandiflorum* with different nitrogen forms and ratios [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2016, **36** (4): 738-744.
- [13] 侯述红, 李玉明, 姚锦秋, 等. 不同氮素形态及其配比对叶类蔬菜生长和品质的影响[J]. 内蒙古民族大学学报(自然汉文版), 2016, **31** (2): 137-140.
- HOU M H, LI Y M, YAO J Q, *et al.* Effects of different N form and NH_4^+ -N/ NO_3^- -N ratio on growth and quality of leafy vegetable[J]. *Journal of Inner Mongolia University for Nationalities* (Natural Sciences), 2016, **31** (2): 137-140.
- [14] 许自成, 张会芳, 张 莉, 等. 不同氮素形态和用量对烤烟硝酸盐和亚硝酸盐含量的影响[J]. 郑州轻工业学院学报(自然科学版), 2005, **20** (2): 4-7.
- XU Z C, ZHANG H F, ZHANG L, *et al.* Effects of nitrogen form and rate on nitrate and nitrite content in flue-cured tobacco [J]. *Journal of Zhengzhou Institute of Light Industry*, 2005, **20** (2): 4-7.
- [15] 王立河, 赵喜茹, 王喜枝, 等. 有机肥与氮肥配施对日光温室黄瓜和土壤硝酸盐含量的影响[J]. 土壤通报, 2007, **38** (3): 472-476.
- WNAG L H, ZHAO X R, WANG X Z, *et al.* Effect of co-application of organic and nitrogen fertilizer on nitrate content of cucumber and soil in greenhouse [J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2007, **38** (3): 472-476.
- [16] 陈龙正, 梁 亮, 徐 海, 等. 铵态氮影响小白菜硝酸盐积累及其机制研究[J]. 华北农学报, 2010, **25** (6): 221-224.
- CHEN L Z, LIANG L, XU H, *et al.* Effects of NH_4^+ -N on nitrate accumulation and its mechanism of pak-choi[J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2010, **25** (6): 221-224.
- [17] 王 庆, 王 丽, 赫崇岩, 等. 过量氮肥对不同蔬菜中硝酸盐积累的影响及调控措施研究[J]. 农业环境科学学报, 2000, **19** (1): 46-49.
- WANG Q, WANG L, HE C Y, *et al.* Study on accumulation effect and control measure of nitrate with application of excessive nitrogenous fertilizer for different vegetables[J]. *Agro-Environmental Protection*, 2000, **19** (1): 46-49.
- [18] 杨月英, 张福漫, 乔晓军. 不同形态氮素对基质培番茄生育、产量及品质的影响[J]. 华北农学报, 2003, **18** (1): 86-89.
- YANG Y Y, ZHANG F M, QIAO X J. Effect of nitrogen forms on growth development, yield and fruit quality of tomato in media culture[J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2003, **18** (1): 86-89.
- [19] 师进霖, 姜跃丽, 陈恩波. 氮素形态对黄瓜幼苗光合特性及碳水化合物代谢的影响[J]. 江西农业学报, 2009, **21** (10): 57-58.
- SHI J L, JIANG Y L, CHEN E B. Effects of nitrogen forms on photosynthetic characteristics and sugar metabolism of cucumber seedlings[J]. *Acta Agriculturae Jiangxi*, 2009, **21** (10): 57-58.
- [20] 张富仓, 康绍忠. 氮素形态对白菜硝酸盐累积和养分吸收的影响[J]. 园艺学报, 2003, **30** (1): 93-94.
- ZHANG F C, KANG S Z. Effect of nitrogen forms on nitrate accumulation and nutrient absorption in cabbage[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2003, **30** (1): 93-94.
- [21] 程水源, 顾曼如, 束怀瑞. 银杏叶黄酮研究进展[J]. 林业科学, 2000, **36** (6): 110-115.
- CHENG S Y, GU M R, SHU H R. Advances in research on flavonoids in *Ginkgo Biloba* leaf [J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 2000, **36** (6): 110-115.
- [22] 苏芸芸, 王康才, 薛 启. 氮素形态对藿香光合作用、氮代谢及品质的影响[J]. 南京农业大学学报, 2016, **39** (4): 543-549.
- SU Y Y, WANG K C, XUE Q. Effects of nitrogen form on photosynthesis, nitrogen metabolism and quality of *Agastache rugosa* [J]. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2016, **39** (4): 543-549.
- [23] 于曼曼. 氮磷钾对夏枯草生长及其药材品质的影响[D]. 南京: 南京农业大学, 2010.

(编辑: 裴阿卫)