

綠豆萌發時硝含量的探討 及蘿蔔硝含量的調查

高中組化學第三名

台北市國立師大附中

作者：呂宗學·鄭建浩

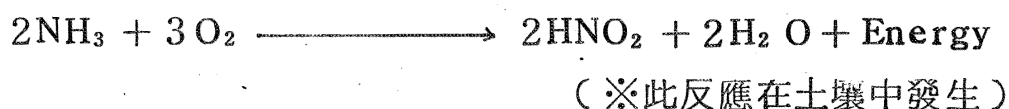
梁君健

指導老師：張 富 雄

壹、前言：

在人口爆炸的 20 世紀，農作物的增產是無可須與遲緩。植物體的含氮有機物，不但含量頗多，而且是生理上酵素、胺基酸、核酸、嘌呤等蛋白的構成要素，爲了增加農作物的生產，瞭解氮的代謝作用是非常重要的。植物吸收各種含氮化合物以供體內之需要，其中以硝酸鹽氮和銨鹽氮爲最主要來源，而在土壤中大部分銨鹽會經硝化反應轉變爲硝酸鹽，再供植物體吸收，其反應如下。

亞硝酸細菌

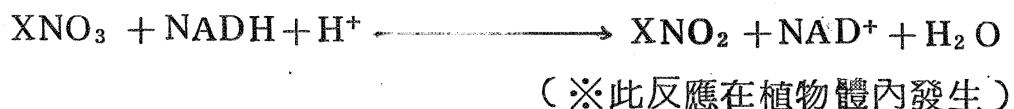


硝酸細菌



植物體吸收硝酸鹽後還要經還原作用經過 NO_2^- 再轉變成 NH_3 以供合成蛋白質之需要，其反應如下：

硝酸還原酶



亞硝酸還原酶



在此二反應中皆有一中間產物 NO_2^- ，據報告（註三） NO_2^- 對植物的毒性極強，且抑制植物的生長，此點引起我們研究之動機。

貳、研究目的：

- (一) 研究萌發時的綠豆（不需養份，只要空氣、水），如果有外加氮化物途徑，會不會發生硝酸還原反應，藉實驗證明。
- (二) 研究 NO_2^- 是否可為豆芽吸收氮化合物的途徑。
- (三) 測定綠豆芽對 NO_2^- 的吸收率及殘餘量。
- (四) 觀察不同氮化合物濃度 NO_2^- 對綠豆芽生長的影響。
- (五) 在此 $\text{NO}_3^- \rightleftharpoons \text{NO}_2^- \rightleftharpoons \text{NH}_3$ 反應中利用改變平衡的因素，希望能尋找出何種因素可使反應的中間生成物 NO_2^- ，殘餘在植物體內的量最少，或存在時間最短，用化學方法測定，並以化學原理來解釋此現象。
- (六) 採集蘿蔔樣本及其土壤，調查其 NO_2^- 含量。

參、實驗器材：

光電比色器，分析天平，電動離心機 3000 rpm，三樑天平，定量瓶，定量管，研鉢及杵，培養皿，滴定管，NO. 5 C 濾紙，pH meter，洗滌瓶，燒杯，漏斗，定溫箱，恒溫槽。

肆、實驗藥品：

KNO_2 ， NaNO_2 ， KNO_3 ， NH_4NO_3 ， $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ， α -
amylase， HgCl_2 (1%)， α -naphthylamine，sulfanilic
acid， HCl ， CH_3COOH ， K_3PO_4 ， K_2HPO_4 ， KH_2PO_4 ，
 H_3PO_4 ， NaOH 。

伍、實驗過程：

- (一) 先將綠豆浸種 11 小時，除去漂浮不能發芽者，再配製 1000 ppm，500 ppm，200 ppm，10 ppm 的 KNO_2 溶液做為綠豆培養液，每組二個重複，放入 25℃ 定溫箱培養 48 小時，再測其 NO_2^- 含量，一共做三次，日期為 1 月 21 日，2 月 14 日，2 月 19 日。
- (二) 配製 1000 ppm，800 ppm，600 ppm，400 ppm，200 ppm，100 ppm KNO_2 Soln，經培養液，每組兩個重複。

每個培養皿各稱5.0克綠豆，定溫25℃培養48小時後，測其生長百分率，實驗日期2月15日，2月20日，2月23日。

(三)配製 KNO_3 ， NH_4NO_3 ， $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 不同溶液，每種溶液又分成1500 ppm，500 ppm，200 ppm，50 ppm不同濃度的培養液，每組兩個重複，25℃培養48小時後測其豆芽含 NO_2^- 量，實驗日期1月26日，2月5日，2月19日。(註四)

(四)利用 H_3PO_4 ， K_2HPO_4 ， KH_2PO_4 ， K_3PO_4 配製 Buffer Solution，再以 pHmeter 用 HCl, NaOH 調至 pH 為 3.0, 5.0, 7.0, 9.0, 10.0 的溶液，再以 KNO_3 ， NH_4NO_3 ， $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 500 ppm 溶液在上述 pH 值環境中作為綠豆培養液，測其豆芽生長百分率及其 NO_2^- 含量實驗日期 2 月 14 日，2 月 20 日 2 月 23 日。(註五)

(五)綠豆以 NH_4NO_3 ， $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ， KNO_3 500 ppm 溶液為培養液接受光照分為 0hr，6hr，12hr，24hr，36hr，48hr，25℃培養48小時後測其 NO_2^- 含量，實驗日期，1月21日，2月15日，2月19日。

(六)綠豆以 NH_4NO_3 ， $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ， KNO_3 溶液 500 ppm 為培養液在 10℃，20℃，25℃，30℃下培養，測其 NO_2^- 含量，實驗日期 2 月 14 日，2 月 20 日。

(七)以蒸餾水培養綠豆，培養時間分為 0hr，2hr，4hr，8hr，16hr，32hr，48hr 測其 NO_2^- 含量，實驗日期 2 月 20 日 3 月 8 日。

(八)採樣記錄如下：

編號	採樣地點	施用肥料	日期	備註
R ₁	樓厝村(蘆州)(一)	台肥五號	68. 2. 6.	
R ₂	樓厝村(蘆州)(二)	台肥五號	68. 2. 6.	
R ₃	竹北鄉 大義村(一)	台肥一號	68. 2. 12.	水田種80天

R ₄	竹北鄉	大義村(一)	台肥一號	68. 2. 12.	河牀地
R ₅	竹北鄉	大義村(三)	台肥一號	68. 2. 12.	
R ₆	竹北鄉	崇義村	台肥一號 硫酸銨	68. 2. 12.	水田地 70 天
R ₇	竹北鄉	崇義村 拔仔窟(一)	尿 素 硫 酸 銨	68. 2. 12.	旱 地
R ₈	竹北鄉	崇義村 拔仔窟(二)	尿 素 硫 酸 銨	68. 2. 12.	
R ₉	竹北鄉	白地村(一)	台肥一號 硫酸銨	68. 2. 12.	
R ₁₀	竹北鄉	白地村(二)	無 施 肥	68. 2. 12.	

(九)綠豆含 NO₂⁻ 之測定：

取 5 克綠豆加 5 ml 1%昇汞溶液用研鉢磨碎，再用濾紙過濾二次，再稀釋至 50 ml，取 10 ml 加 sulfanilic acid 4 ml 再加 α -naphthylamine 4 ml (顯光劑) 避光靜置 30 min，再用濾紙過濾，得其濾液用光電比色器測其吸光度。(註六)

(十)蘿蔔含 NO₂⁻ 之測定：

取 5 克蘿蔔加水磨碎，分兩次用離心機分離，取其上層液再用濾紙過濾，稀釋至 25 ml 取 10 ml 同上法加顯光劑，測其吸光度。

(十一)用分析天平 (10⁻⁴ gm) 稱乾燥後的 KNO₂，依實驗需要配製不同濃度的標準溶液，加入同體積顯光劑，測其吸光度，劃出標準曲綫，求出其方程式。

陸、實驗結果：

(一)以下所列之實驗數據皆以最後一次實驗結果為主。

(二)標準溶液測定結果：

濃度 conc. 單位 ($10^{-5}M$)	0.1	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0	2	3	4	5
濃度 conc. 單位 (ppm)	46	92	184	276	368	460	920	1380	1840	2300
吸光度 abs. (10gT%)	0.025	0.048	0.091	0.119	0.184	0.226	0.345	0.598	0.639	0.927

(三)不同濃度 NO_2 培養之綠豆含 NO_2 之結果：

培養液濃度 (conc.)	吸光度(1) (abs.)	吸光度(2) (abs.)	平均值	殘餘量 ($10^{-6}M$)	殘餘量 (ppm)	吸收倍率
1000 ppm	0.053	0.049	0.051	1.46	67.2	0.07
500 ppm	0.048	0.046	0.047	1.24	57.1	0.12
200 ppm	0.034	0.040	0.045	1.13	52.0	0.26
10 ppm	0.039	0.042	0.038	0.75	34.5	3.45

(四)不同濃度 NO_2 對生長倍率影響之結果：

不同濃度之 NO_2 (ppm)	1000	800	500	400	200	100
綠豆原重 (gm)	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
培養後重 (gm) (一)	6.2	6.2	6.6	8.6	7.5	9.6
培養後重 (gm) (二)	6.9	7.2	7.3	8.6	8.3	9.1
平均	6.5	6.7	7.0	8.6	7.9	9.4
生長百分率	130 %	134 %	140 %	172 %	158 %	188 %

(五)不同濃度 NH_4NO_3 , KNO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 培養出綠豆的含
 NO_2^- 量結果：略

培養液 濃 度 (ppm)	1 NH_4NO_3				2 KNO_3				3 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$			
	50	200	500	1500	50	200	500	1500	50	200	500	1500
abs (→)	0.043	0.043	0.137	0.250	0.037	0.368	0.335	0.481	0.038	0.033	0.026	0.031
abs (←)	0.071	0.040	0.122	0.291	0.040	0.349	0.333	0.413	0.034	0.054	0.054	0.082
平均值	0.052	0.041	0.129	0.270	0.038	0.358	0.334	0.447	0.036	0.043	0.040	0.056
conc (10^{-6} M)	1.51	0.94	5.77	13.52	0.75	18.36	17.01	23.20	0.64	1.04	0.86	1.76
conc (ppm)	69.7	43.2	256.6	622.0	34.8	844.4	782.5	1068.1	29.3	48.2	39.4	81.1

(六)以 500 ppm 之 KNO_3 , NH_4NO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 在不同 pH 值
 下培養出的綠豆的 NO_2^- 含量及生長百分率，結果：略

培養液 pH 值	KNO ₃ (500 ppm)					NH ₄ NO ₃ (500 ppm)				
	3.0	5.0	7.0	9.0	10.0	3.0	5.0	7.0	9.0	10.0
abs. (←)	0.025	0.025	0.012	0.030	0.021	0.000	0.004	0.005	0.008	0.005
abs. (→)	0.018	0.039	0.039	0.056	0.019	0.001	0.008	0.006	0.046	0.004
平 均 值	0.021	0.032	0.026	0.042	0.020	0.000	0.006	0.005	0.028	0.004
conc. (10 ⁻⁶ M)	0.06	0.41	0.08	0.96	0.05	0.00	0.00	0.00	0.19	0.00
conc. (ppm)	2.7	19.2	4.0	44.9	2.3	0.0	0.0	0.0	9.0	0.0
原 重 (gm)	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
培養後重(←) (gm)	8.7	7.9	6.9	7.5	6.7	8.9	9.0	8.4	7.4	7.3
培養後重(→) (gm)	8.5	9.3	7.5	7.5	7.0	8.8	9.2	9.1	8.2	6.9
平 均	8.6	8.6	7.2	7.5	6.8	8.8	9.1	8.7	7.6	7.1
生長百分率	172%	172%	144%	150%	136%	176%	182%	174%	152%	142%

培養液 pH 值	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$				
	3.0	5.0	7.0	9.0	10.0
abs. (→)	0.028	0.040	0.005	0.024	0.027
abs. (←)	0.036	0.014	0.006	0.026	0.021
平均值	0.032	0.027	0.005	0.025	0.024
conc. (10M)	0.41	0.14	0.00	0.08	0.05
conc. (ppm)	19.2	6.5	0.0	4.0	2.3

	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$				
	3.0	5.0	7.0	9.0	10.0
原重 (gm)	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
培養後重(→) (gm)	9.3	8.9	8.3	8.3	7.9
培養後重(←) (gm)	9.0	8.5	8.6	7.3	7.2
平均值	9.2	8.7	8.5	7.8	7.5
生長倍率	184%	174%	170%	156%	150%

(七)不同溫度對 500 ppm, KNO_3 , NH_4NO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 溶液培養綠豆的含量的影響結果:

培養液溫度	KNO_3 (500 ppm)				NH_4NO_3 (500 ppm)				$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (500 ppm)			
	10℃	20℃	25℃	30℃	10℃	20℃	25℃	30℃	10℃	20℃	25℃	30℃
abs. (→)	0.013	0.021	0.057	0.054	0.021	0.014	0.035	0.023	0.014	0.021	0.031	0.041
abs. (←)	0.001	0.024	0.053	0.049	0.013	0.010	0.021	0.025	0.010	0.034	0.027	0.027
平均值	0.007	0.023	0.054	0.051	0.017	0.012	0.028	0.024	0.012	0.027	0.029	0.034
conc. 10^{-6} M	0.00	0.20	1.62	1.46	0.10	0.08	0.22	0.20	0.08	0.21	0.22	0.52
conc. ppm	0.0	9.2	74.8	67.2	4.6	3.6	10.1	9.2	3.6	9.6	10.1	24.3

(八)綠豆萌發時接受不同照光時數對NO₂含量的影響結果：

	KNO ₃ (500 ppm)					
日照時間	0 hr	2 hr	4 hr	12 hr	36 hr	48 hr
abs. (→)	0.271	0.263	0.301	0.311	0.353	0.349
abs. (←)	0.323	0.244	0.293	0.288	0.312	0.347
平均值	0.297	0.253	0.297	0.299	0.332	0.348
conc. (10 ⁻⁶ M)	14.9	12.5	14.9	15.1	16.9	17.7
conc. (ppm)	688.0	579.0	688.0	695.3	778.0	817.0

(九)用 dist water 培養綠豆含 NO₂ 測定結果

用水培養 經過時間	0 hr	2 hr	4 hr	8 hr	16 hr	36 hr	48 hr
abs. (→)	0.023	0.115	0.101	0.139	0.078	0.090	0.036
abs. (←)	0.022	0.057	0.231	0.089	0.044	0.089	0.041
平均值	0.022	0.086	0.166	0.114	0.061	0.089	0.038
conc. (10 ⁻⁶ M)	0.1	3.4	7.7	4.9	2.0	3.5	0.8
conc. (ppm)	4.6	155.6	254.2	226.0	92.0	163.2	36.8

(+) 蘿蔔附帶土壤含 NO₂ 量之調查結果：

編號	E ₁	E ₂	E ₃	E ₄	E ₅	E ₆	E ₇	E ₈	E ₉	E ₁₀
abs. (→)	0.314	0.136	0.229	0.037	0.142	0.124	0.021	0.074	0.062	0.144
abs. (←)	0.268	0.147	0.207	0.033	0.149	0.099	0.023	0.068	0.062	0.142
平均值	0.291	0.141	0.218	0.035	0.145	0.111	0.022	0.071	0.062	0.143
conc. (10 ⁻⁶ M)	14.6	6.4	10.6	0.6	6.6	4.8	0.1	2.7	2.1	6.5
conc. (ppm)	678.3	411.0	489.0	26.7	304.0	220.8	4.6	122.8	95.0	299.7

PS : E₁ 為 R₁ 所附帶之土壤。

(-) 蘿蔔含 NO₂ 量之調查結果：

編號	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	R ₈	R ₉	R ₁₀
abs. (→)	0.088	0.054	0.055	0.056	0.057	0.044	0.065	0.040	0.063	0.068
abs. (←)	0.076	0.052	0.066	0.051	0.060	0.059	0.072	0.051	0.074	0.065
平均值	0.082	0.053	0.060	0.054	0.058	0.051	0.068	0.045	0.068	0.065
conc. (10 ⁻⁶ M)	3.2	1.5	1.9	1.6	1.8	1.5	2.4	1.2	2.4	2.2
conc. (ppm)	145.0	72.2	91.2	74.8	84.9	68.5	111.4	53.3	111.4	102.6
對土壤之吸收百分率	21.3%	17.5%	18.6%	28%	27%	31%	24%	45%	117%	34%

七、討論結果：

- (一)由圖三中發現溶液中 NO_2^- 濃度愈高，豆芽中 NO_2^- 的含量也愈高這點合乎擴散原理，可是濃度增加的程度並不成正比，如果用勒沙特列原理來解釋，因為濃度增大所以 NO_2^- 會儘可能的還原成 NH_3 或氧化成 NO_3^- 向抵消此因子的方向移動，所以使 NO_2^- 的濃度降低。
- (二)在圖四中我們很驚訝發現，豆芽在 10 ppm 的培養液中本身含 NO_2^- 的濃度竟為培養液的 3.4 倍，我們想到可能是濃縮（因為液體的蒸發）或是主動運輸，後來在圖(五)中發現水栽培的豆芽，因為子葉胚乳的蛋白質分解供胚芽發育，（註七）也會產生 NO_2^- ，而我們實驗結果培養在水中 48 小時的豆芽，其 NO_2^- 含量也可達到 36.8 ppm，所以我們可以解釋此現象為其豆芽之本性。
- (三)在圖(五)中可發現 500 ppm 以上濃度會嚴重影響其生長，在 1000 ppm 以上綠豆甚至根本連種皮都無法突破，這可證明 NO_2^- 對豆芽是有毒害的。
- (四)在圖(六)中可明顯地比較出 NH_4^+ 可被植物直接吸收而直接變成 NH_3 ，所以不需要有 NO_2^- 中間生成物的產生，而 NO_3^- 在植物體內却一定要有還原反應，又 NH_4^+ ， NO_3^- 同時存在時因為 NH_4^+ 可被植物直接利用，所以就不需要 NO_3^- 的還原。
- (五)在圖(七)及圖(八)中以 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 的結果較有價值，我們發現在酸性範圍中 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 溶液的綠豆幾乎不含 NO_2^- 且其生長百分率也是最高，此現象可用化學平衡的共同離子效應解釋。
- 因為銨塩在水中解離 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \rightleftharpoons 2\text{NH}_4^+ + \text{SO}_4^{2-}$ 同時水溶液中 $\text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{OH}^- + \text{H}^+$ ，此時 OH^- 與 NH_4^+ 結合成 NH_4OH ，而氫氧化銨又容易分解為 NH_3 和水 $\text{NH}_4\text{OH} \rightleftharpoons \text{H}_2\text{O} + \text{NH}_3$ ，如此增加了游離銨的濃度，所以容易被氧化為 NO_2^- ，同時也使溶液的「銨張力」增高，而顯出毒害作用，所以在酸性情況下，因共同離子效應便可抑制 NH_4OH 的生成，所以可以減少

- NH_4^+ 轉為 NH_3 再轉為 NO_2^- 的機會，同時也有利於植物的生長。
- (六)圖(九)所顯示的溫度效應大略可解釋 NO_2^- 的含量隨著溫度的升高而增加，但在生化反應中溫度的因素是非常重要的，我們可發現在 25°C 左右(豆芽萌發最佳溫度)的 NO_2^- 含量還是最高。
- (七)豆芽萌發本是不需要光的，但是我們還是考慮了此因素，結果非常令人滿意，我們發現豆芽萌發如果接受光照便會產生葉綠素，而葉綠素也是一種蛋白，所以增加了N元素的需求，所以隨著光照時間的增加而使 NO_2^- 之含量增高。
- (八)我們區域性調查蘿蔔 NO_2^- 的含量發現蘿蔔 NO_2^- 含量很平均，大約都在 100 ppm 左右，且對土壤中 NO_2^- 的吸收率也大約都在 $20\sim 30\%$ 左右，在此僅提供我們的調查報告供大家參考。

八、歸納結論：

- (一)以綠豆和蘿蔔含 NO_2^- 量來比較，綠豆算是比較清潔，再加上其生長必需條件少又非常迅速，實在可為高中生研究生理反應很好的材料。
- (二)由以上討論可發現，在反應速率快的情況下(如環境溫度升高，培養液濃度增大(exp. 1)，或生成物需要量增大(如接受光照)等便可使 NO_2^- 的殘存量增加。
- (三)而根據以上討論，我們建議外加物(如施肥)最好以銨鹽為主但濃度最好在 1000 ppm 以下，以免造成銨害，最好是能讓銨鹽處在酸性狀況下最能減少 NO_2^- 含量，又能提高生長率。
- (四)在 NO_2^- 含量的測定過程中，我們學習到一點經驗，經過研磨後的豆芽液，不可放置隔日，否則 NO_2^- 含量增大，同時加入 sulfanilic acid 及 α -naphthyl amine 以後也不宜隔日，否則顏色會褪掉且發生沉澱而無法測定，提供此意見供大家參考。
- (五)這次的實驗使我們體會到，生理反應不像一般高中生印象中的高不可及，有許多現象還是可用我們現在所學的知識來解釋，這是這次實驗最大的收穫。

九、參考資料：

註一：土壤微生物學 藍夢九著 台灣中華書局印行

註二：植物生理學 譯者劉賢祥 徐氏基金會出版

註三：「植物體中的氮的新陳代謝與自然界中的氮的循環」
譯者于景讓

註四：「櫻桃蘿蔔水溶液栽培技術之研究」 李伯年著

註五：大學化學 3rd edition 鮑林原著 陶金華等譯 東華書
局印行

註六：食品化學實驗法（上册） 吳又成編著 復文書局

科學發展月刊 第三卷 第一期 p21~27

第六卷 第二期 p155~p163

註七：「土壤中氮素之損失」 譯者王接皇