

烟草可溶性蛋白提取工艺优化及抗氧化活性研究

王胜优, 孙海峰, 艾仁丽, 胡湘洲, 黄小丽, 罗钰嘉, 谭艾娟*, 范家佑*

(贵州大学生命科学学院/农业生物工程研究院/山地植物资源保护与保护种质创新教育部重点实验室/山地生态与农业生物工程协同创新中心, 贵阳 550025)

摘要: 使用碱溶法对烟草进行处理, 酸沉法沉淀得到可溶性蛋白。以可溶性蛋白提取率为指标, 对蛋白提取条件进行优化, 并对烟草可溶性蛋白抗氧化活性进行测定。结果表明: 通过料液比、提取液、pH、提取时间的单因素试验, 确定了响应面试验的中心点参数, 在此基础上进行响应面优化, 蛋白提取的最佳工艺条件为: 0.05 mol/L 磷酸缓冲液添加 1.1% PVP、料液比 1:10.5 (g/mL)、pH 值 8.6, 此时烟草可溶性蛋白提取率为 84.95%。烟草可溶性蛋白均有 ABTS^{•+} 和 DPPH[•] 自由基清除能力, 在蛋白浓度为 1.0 mg/mL 时可达最大清除率, 分别为 58.57% 和 45.97%。采用响应面法优化后的烟草可溶性蛋白提取率高, 明确了烟草可溶性蛋白的抗氧化活性, 为烟草蛋白的多用途开发利用提供了理论依据。

关键词: 烟草蛋白; 酸沉法; 响应面; 抗氧化

中图分类号: TS41.1

文献标识码: A

文章编号: 2096-5877(2023)04-0122-07

Optimization of Extraction Technology and Antioxidant Activity of Soluble Protein in Tobacco

WANG Shengyou, SUN Haifeng, AI Renli, HU Xiangzhou, HUANG Xiaoli, LUO Yujia, TAN Aijuan*, FAN Jiayou*
(College of Life Sciences, Guizhou University/Institute of Agro-bioengineering/Key Laboratory of Plant Resource Conservation and Germplasm Innovation in Mountainous Region (Ministry of Education)/Collaborative Innovation Center for Mountain Ecology & Agro-Bioengineering (CICMEAB), Guiyang 550025, China)

Abstract: The alkali dissolution method was used to treat the tobacco, and the acid precipitation method was used to precipitate soluble protein. The protein extraction conditions were optimized based on the extraction rate of soluble proteins, and the antioxidant activity of tobacco soluble proteins was determined. The experimental results showed that, through the single factor test of material-liquid ratio, extraction liquid, pH, and extraction time, the center point parameters of the response surface test were determined, and the response surface optimization was carried out on this basis. The optimal process conditions for protein extraction were as follows: 0.05 mol/L phosphate buffer added 1.1% PVP, material-liquid ratio 1:10.5 (g/mL), pH value 8.6, and the extraction rate of tobacco soluble protein is 84.95%. Tobacco soluble proteins exhibited ABTS^{•+} and DPPH[•] free radical scavenging abilities, with maximum scavenging rates observed at a protein concentration of 1.0 mg/mL, which were 58.57% and 45.97%, respectively. The extraction rate of tobacco soluble protein optimized by response surface method is high, which clarifies the antioxidant activity of tobacco soluble protein, and provides a theoretical basis for the multi-purpose development and utilization of tobacco protein.

Key words: Tobacco protein; Alkali-soluble acid precipitation; Response surface; Antioxidant

中国是叶蛋白资源大国, 叶蛋白资源的多用

收稿日期: 2020-04-01

基金项目: 中国烟草总公司贵州省公司科技项目(中烟黔科合重大专项字[2018]3号)

作者简介: 王胜优(1994-), 女, 在读硕士, 主要从事蛋白分离纯化研究。

通讯作者: 谭艾娟, 女, 硕士, 教授, E-mail: 772771868@qq.com
范家佑, 女, 硕士, 教授, E-mail: 365086702@qq.com

途开发、生产是解决人口膨胀导致的食物、饲料行业蛋白质资源急缺的一条重要途径^[1-2]。烟草成分较为复杂, 以蛋白含量最为丰富, 如白肋烟中蛋白质含量高达 20.48%^[3]。烟叶蛋白具有氨基酸含量丰富、适合人体吸收的优点, 烟草可溶性蛋白中还含有宝贵的硒元素, 所以开发利用烟草可溶性蛋白资源尤为重要^[4]。

目前, 国内关于烟草可溶性蛋白提取利用的

报道较少,未见关于烟草蛋白抗氧化活性测定的报道,烟草蛋白的提取大多采用硫酸铵分段沉淀法提取烟草蛋白质,但是该方法硫酸铵回收成本较高,蛋白纯度低。本研究以新鲜烟草作为原料,采用碱溶酸沉法提取可溶性蛋白质,通过响应面试验优化提取工艺,研究出一套烟草可溶性蛋白最佳提取工艺,并对烟草可溶性蛋白的抗氧化活性进行测定,旨在为烟草可溶性蛋白的开发利用提供技术参数和理论指导。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

云烟 87(旺长期烟叶,2019 年贵州产,由贵州省烟草科学研究所提供,蛋白含量 3.75%),洗净,液氮速冻,-80℃保存。

1.2 主要药品试剂

牛血清白蛋白购自上海源叶生物科技有限公司;福林酚、2,2'-联氮-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸自由基(ABTS)、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼自由基(DPPH)购自索莱宝生物科技有限公司;其余试剂为国产分析纯,购自天津市科密欧化学试剂有限公司。

1.3 主要仪器设备

湘仪离心机(湖南湘仪试验仪器开发有限公司);电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司);pHS-3C 型 pH 计(上海精密科学仪器有限公司);多功能胶体磨(JM-L80,温州昊星机械设备制造有限公司);真空冷冻干燥机(上海皓庄仪器有限公司);721N 可见分光光度计(上海精密科学仪器有限公司)等。

1.4 试验方法

1.4.1 可溶性蛋白提取

烟草加提取液→胶体磨磨浆(10 000 r/min,5 min)→静置浆液→120 目滤布过滤→加等体积提取液洗滤渣→合并滤液硅藻土脱色除杂→1 mol/L HCl 调 pH 至 3.0→离心(3 000 r/min,20 min)→蛋白沉淀于-80℃冷冻→冷冻干燥→烟草可溶性蛋白。

1.4.2 单因素试验

在对不同料液比(1:1、1:2、1:4、1:6、1:8、1:10)(g/mL)进行单因素试验时,固定提取时间 40 min,0.05 mol/L 磷酸缓冲液;对不同提取时间(20、40、60、80 min)进行单因素试验时,料液比固定为 1:8(g/mL)、提取液为磷酸缓冲液+1%PVP;在进行不同提取液(0.05 mol/L 磷酸缓冲液、0.05 mol/L 磷酸缓冲液+1%PVP、0.05 mol/L KOH、0.05 mol/L

NaOH)及 pH(6.5、7.5、8.5、9.5、10.5)单因素试验时,将料液比和提取时间固定为 1:8(g/mL)、60 min。

1.4.3 可溶性蛋白提取率的计算

采用福林酚法,取 14 支试管分成两组,分别加入 0、0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1 mL 牛血清白蛋白标准溶液(250 μg/mL),用超纯水补足到 1 mL,样品测定时取 1 mL 待测样品加入 5 mL 试剂甲,混匀,于 20~25℃放置 10 min,再加入 0.5 mL 试剂乙,立即摇匀,在 20~25℃保温 30 min,然后于 500 nm 处比色。测定光密度值,取两组测定的平均值,以蛋白质浓度为横坐标,光密度值为纵坐标,绘制标准曲线作为定量的依据^[5]。提取率计算公式如下:提取率(%)=(M_1/M_2)×100……………(1)

式中: M_1 为提取出新鲜烟草可溶性蛋白的质量(g); M_2 为新鲜烟草可溶性蛋白的质量(g)。

1.4.4 响应面试验

通过单因素试验确定选取提取液、pH 值和料液比 3 个因素进行响应曲面法研究,根据 Box-Behnken 的中心组合试验设计原理,采用 3 因素 3 水平响应面分析方法,通过试验得到最优工艺参数并进行验证试验。其因素水平编码表见表 1。

表 1 响应面因素水平编码表

因素	代码	水平		
		-1	0	1
PVP 添加量(%)	A	0.5	1	1.5
料液比(g/mL)	C	1:8	1:10	1:12
pH	B	8.0	8.5	9.0

1.4.5 抗氧化活性测定

1.4.5.1 清除 ABTS⁺·的能力

将 7 mmol/L ABTS⁺·和 2.45 mmol/L 过硫酸钾溶液等体积混合,置于暗处室温反应 12~16 h。然后将混合溶液用无水乙醇稀释,使其在波长 734 nm 处的吸光度为 0.7±0.02(用无水乙醇调零)^[6]。将配置好的 ABTS⁺·自由基工作液准确吸取 3.9 mL 与 1 mL 样品溶液(0.01、0.02、0.04、0.06、0.08、0.1 mg/mL)混合,快速振荡使其充分混合,静置 6 min,测定在波长 734 nm 处的吸光度。用蒸馏水代替样品作为空白组测定其吸光度,选择抗坏血酸作为阳性对照。样品的抗氧化能力值计算公式如下:

$$Y = \frac{A_0 - A_i}{A_i} \times 100\% \dots\dots\dots (2)$$

式中:Y 为样品对 ABTS⁺·自由基清除率; A_0 为样品组吸光度值; A_i 为空白组吸光度值。

1.4.5.2 清除 DPPH•的能力

称取 0.008 g DPPH, 用无水乙醇溶解并定容至 100 mL, 存于棕色瓶备用。准确移取 2 mL DPPH 乙醇溶液和 2 mL 样品 (0.01、0.02、0.04、0.06、0.08、0.1 mg/mL) 于带有塞子的试管中, 震荡混匀, 置于暗处室温条件下反应 30 min 后, 无水乙醇和蒸馏水作为空白对照, 测定其在波长 517 nm 处的吸光度, 平行试验 3 次取平均值, 选择抗坏血酸作为阳性对照^[7], 样品的 DPPH 清除率计算公式如下:

$$Y = \left(1 - \frac{A_i - A_{ii}}{A_0} \right) \times 100\% \dots\dots\dots (3)$$

式中: Y 为样品对 DPPH 自由基清除率; A_i 为 2 mL DPPH 乙醇溶液和 2 mL 样品; A_{ii} 为 2 mL 无水乙醇和 2 mL 样品; A_0 为 2 mL DPPH 乙醇溶液和 2 mL 蒸馏水。

2 结果与分析

2.1 单因素试验

2.1.1 料液比对提取率的影响

由图 1 可以看出, 新鲜烟草可溶性蛋白提取率随料液比的增加而增加, 当料液比为 1:10 时, 烟草蛋白提取率最高为 73.35%, 当料液比继续增加到 1:12 时, 蛋白提取率降低为 73.29%, 蛋白提取率随料液比增加呈现先增后减的变化, 可能是一定的料液比有利于蛋白在提取液中的充分溶解, 超过该范围后, 其他物质溶出反过来抑制了烟叶可溶性蛋白的溶解, 随着料液比增加对于后期脱色除杂等工艺工作量的增加, 试验损耗相应增多, 因此料液比的设定不宜过大。

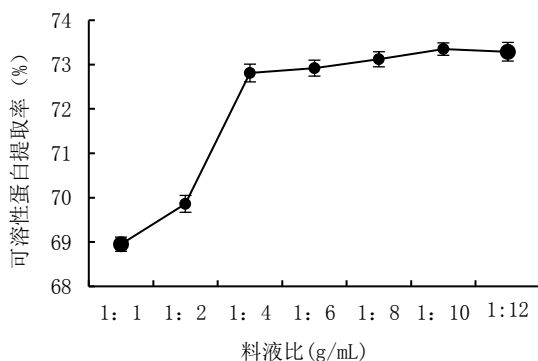


图 1 料液比对新鲜烟草可溶性蛋白提取率的影响

2.1.2 提取时间对提取率的影响

由图 2 可以看出, 新鲜烟草可溶性蛋白提取率随提取时间的延长而提高, 当提取时间为 60 min 时, 烟草蛋白提取率最高为 80.95%。时间为 80 min 时提取率降低, 可能因为提取时间过长导

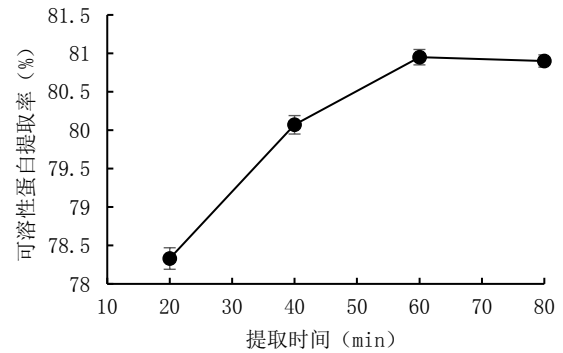


图 2 提取时间对新鲜烟草可溶性蛋白提取率的影响

致部分不稳定的烟草蛋白降解从而降低蛋白提取率, 使得蛋白品质降低^[8], 所以响应面试验提取时间设置以 60 min 为宜。

2.1.3 提取液和 pH 值对提取率的影响

图 3 结果表明, 提取液的种类及 pH 值对烟草可溶性蛋白提取率表现出极大的影响, 当使用氢氧化钾作为提取液时, 在 pH=9.5 时, 提取率最高为 81.05%。0.05 mol/L 磷酸缓冲液加入 1%PVP 后提取率大幅提升, 且在 pH=8.5 时烟草可溶性蛋白提取率即可达到最高为 80.53%, 可能是 PVP 作为一种乳化剂、助溶剂, 增加了蛋白在提取液中的溶解性^[9], 且在 pH 为 8.5 时大多能达到最大提取率, 超过该值后提取率降低, 可能是在过碱性溶液中, 蛋白易变性而在脱色时被脱色除杂滤去^[10]。所以在响应面试验时选择 0.05 mol/L 磷酸缓冲液加入 1%PVP 作为提取液。

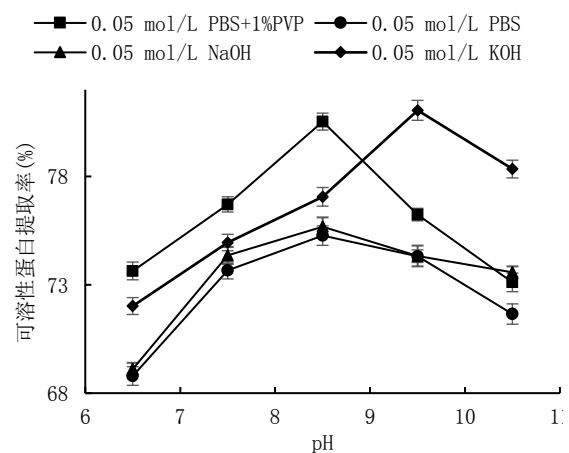


图 3 提取液和 pH 值对烟草可溶性蛋白提取率的影响

2.2 响应面试验设计试验

2.2.1 响应面试验设计及结果

根据单因素试验结果选择提取液、pH 值和料液比 3 个因素进行响应曲面法试验, 根据 Box-Benhnken 的中心组合试验设计原理, 采用 PVP 添加量(A)、pH 值(B)、料液比(C)3 因素 3 水平的响应

面分析方法优化试验的工艺参数^[11-14],共有 17 个试验点,试验设计方案和结果如表 2 所示。

表 2 响应面分析方案及试验结果

试验号	A: PVP 添加 量(%)	B: pH	C: 料液比 (%)	可溶性蛋白 提取率(%)
1	0	-1	-1	85.23
2	0	0	0	77.87
3	0	0	0	82.90
4	1	-1	0	85.35
5	1	1	0	81.44
6	0	0	0	80.19
7	0	1	-1	79.76
8	0	1	1	79.42
9	-1	-1	0	78.17
10	1	0	1	85.18
11	0	0	0	84.84
12	1	1	0	80.37
13	1	0	1	79.42
14	0	0	0	74.52
15	-1	0	1	85.74
16	1	0	1	79.46
17	0	-1	1	78.22

2.2.2 响应面试验模型的建立与方差分析

利用 Design-Expert 软件对表 2 试验结果进行二次多元回归拟合,并进行方差分析,结果见表

3。对响应值与 PVP 添加量(A)、pH 值(B)、料液比(C)进行回归拟合后,得到烟草蛋白质提取率对编码自变量的回归模型(去掉不显著项)表达式公式:

$$y=85.27+1.12A+0.75B+1.24C-0.16AB-0.83AC-0.13BC-4.35A^2-1.63B^2-0.22C^2 \dots\dots\dots (4)$$

模型失拟项 $P<0.000\ 1$, 差异非常显著,说明该回归模型对试验结果拟合较好, $R^2=0.982\ 5$, 说明 98.25% 可用此模型来解释各试验因素与蛋白提取率之间的关系^[15], 具有实际意义。PVP 添加量和料液比的二次项 (A^2 、 C^2) 达到非常显著差异 ($P<0.001$), PVP 添加量(A)、料液比的一次项(C)和二次项 (A^2 、 C^2)、pH 的二次项 (B^2) 均对蛋白提取率影响达到极显著水平 ($P<0.01$), pH 的一次项 B 及 PVP 添加量和料液比的交互项 (AC) 对蛋白提取率影响达到显著水平 ($P<0.05$), 其他项不显著^[16-18]; 因此可利用该回归模型对试验结果进行分析, 并确定新鲜烟草可溶性蛋白质的最优提取工艺。表 3 方差分析 F 值表明, 各因素对蛋白提取率的影响顺序由大到小为: 料液比(C)>PVP 添加量(A)>pH 值(B)。

2.2.3 响应面分析

根据二次回归方程, 通过响应曲面分析法建立各因素与响应值之间的响应立体图, 可以直观地反映局部参数值和整体响应值之间的交互对应

表 3 二次回归方程模型的方差分析

方差来源	平方和	自由度	均方	F	P	显著性
回归模型	169.67	9	18.15	43.66	<0.000 1	***
A	10.02	1	10.02	23.21	0.001 9	**
B	4.46	1	4.46	10.33	0.014 8	*
C	12.30	1	12.30	28.49	0.001 1	**
AB	0.10	1	0.10	0.24	0.641 2	-
AC	2.73	1	2.73	6.32	0.040 1	*
BC	0.067	1	0.067	0.15	0.706 8	-
A ²	79.82	1	79.82	184.84	<0.000 1	***
B ²	11.24	1	11.24	26.03	0.001 4	***
C ²	36.52	1	36.52	84.58	<0.000 1	***
残差	3.02	7	0.43			
失拟项	2.60	3	0.87	8.22	0.034 8	
纯误差	0.42	4	0.11			
总和	172.69	16				
R ²	0.982 5					
R ² ADJ	0.960 0					
Adeq Precision	20.812					

注:“***”为极显著 ($P<0.001$); “**”为非常显著 ($P<0.01$); “*”为显著 ($P<0.05$); “-”为不显著

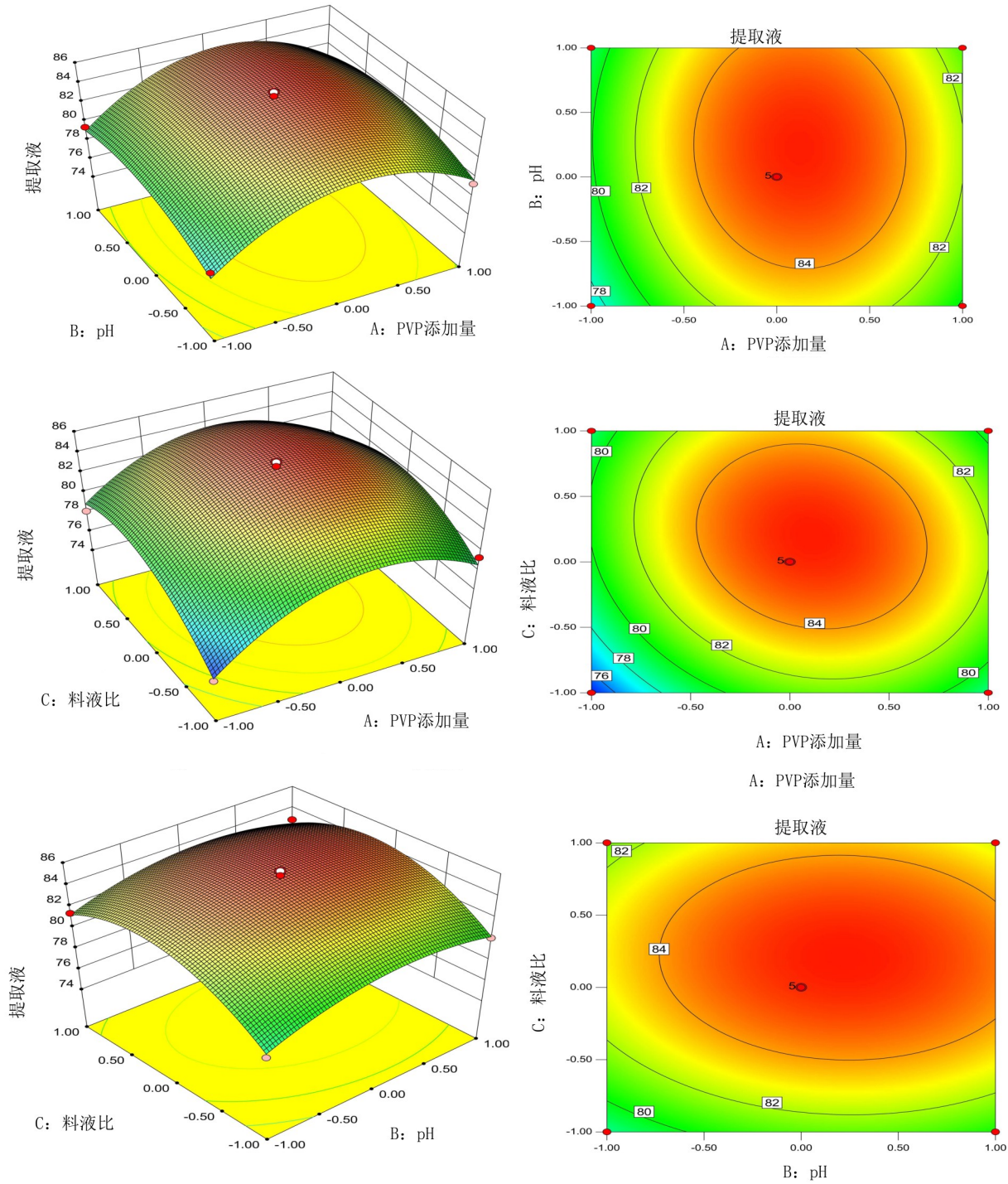


图4 两因素交互作用的响应面图及等高线图

关系。根据回归方程绘制响应面和等高线图,结果如图4所示,PVP添加量(A)和pH(B)的响应面图呈拱形,说明二者的交互作用影响不显著,但是等高线图密度较高,且在方差分析表中得知两者的交互作用二次项P值接近0.05,说明二者交互作用的影响在实际提取时也应该考虑。PVP添加量(A)与料液比(C)的响应面图曲度较大,呈圆拱形,且等高线图的密度较高,说明交互关系对烟草蛋白提取率有较大影响。其pH(B)和料液比

(C)交互影响从曲面图及等高线疏密度来看影响稍低,在一个因素固定时,另一变量变化趋势平缓,说明两者交互作用不显著。

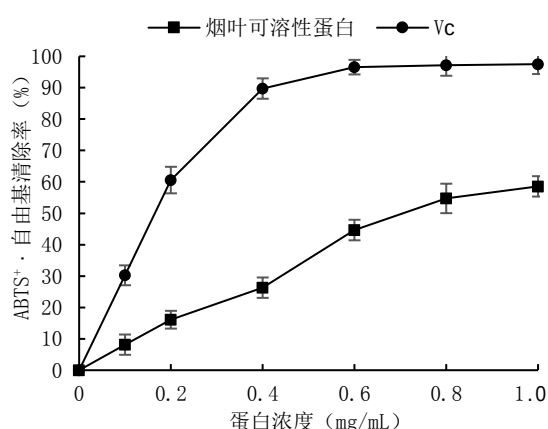
2.2.4 验证性试验

通过二次回归预测,得出烟草蛋白最佳提取工艺参数为:1.11%PVP、pH值8.6、料液比1:10.44,此时烟草蛋白的提取率为85.5263%,为了检验Design-Expert分析的可靠性,考虑到实际操作性及便捷性,将最优参数校正为:1.1%PVP、pH

值8.6、料液比1:10.5,根据最优参数进行试验,重复3次取平均值,测定得到烟草蛋白提取率为84.95%,验证试验结果与理论预测值相差不大,表明响应面优化工艺参数具有可靠性。

2.3 抗氧化活性测定

由图5可以看出,在 ABTS^+ 和 $\text{DPPH}\cdot$ 自由基清除试验中烟叶蛋白对自由基的清除率随蛋白浓度增加而增加,其自由基清除率变化规律相似^[19],



且都在烟叶蛋白浓度为1.0 mg/mL时达到自由基最大清除率,但是两种方法的清除率有所不同,清除率分别为58.57%、45.97%,清除率均低于同等浓度Vc,说明烟叶蛋白具有一定的抗氧化活性。其抗氧化活性可能与其氨基酸组成有关,已有文献报道认为甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸,尤其是谷氨酸等都对增强抗氧化活性起重要作用。

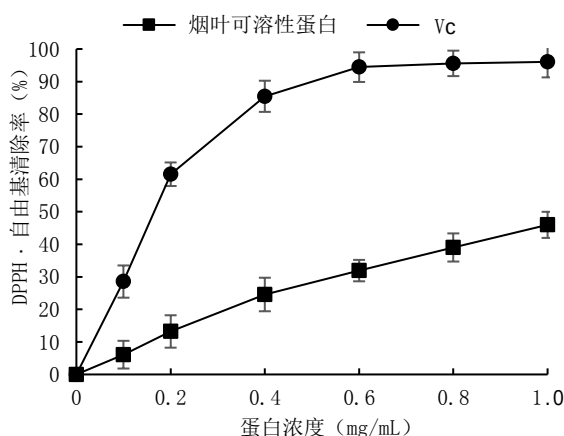


图5 两种方法测定烟草蛋白抗氧化活性

3 讨论

利用响应面法优化新鲜烟草可溶性蛋白提取率达84.95%,优化效果较好,高于饶国华等^[20]的烟叶蛋白提取率76.62%,说明本试验采用响应面法优化的提取工艺是可行的。在对烟叶蛋白使用 ABTS^+ 和 DPPH 法对抗氧化活性测定时,烟叶蛋白有一定的自由基清除率,说明烟叶可溶性蛋白具有抗氧化活性,可作为新型抗氧化蛋白开发利用。

本试验在酸沉时设定pH 3.0作为沉淀参数,参数的设定是根据饶国华等^[20]的方法确立,在pH下调过程中提取液pH接近甚至高于绝大多数可溶性蛋白等电点,蛋白颗粒因为失去表面电荷变得不稳定从而沉淀下来,且提取液处于过酸pH下可溶性蛋白也会因为空间结构被破坏而变性沉淀。所得可溶性蛋白颜色为浅黄色,可能是硅藻土未把多余色素蛋白吸附除尽,张劲松等^[21]认为烟叶蛋白与多酚类物质尤其是绿原酸的不可逆结合使得蛋白颜色较深,所以在后期试验中将对脱色方法、多酚类物质去除进行试验,以期获得高品质蛋白,并对烟叶可溶性蛋白中的FI蛋白进行分离纯化及营养价值研究,为烟叶蛋白的多用途开发利用提供一定的理论依据。我国对于烟草蛋白的研究起步晚,因为试验工艺烦琐,提取时需要低温高速离心、超滤等设备,成本增加,难以适

应大规模生产,本试验提取工艺简单,不需要专业设备,操作都在室温下进行,成本较低,耗时短等优点均利于大规模工业化生产。据报道烟叶可溶性蛋白含有人体所需的全部必需氨基酸,其发泡性、乳化性均优于酪蛋白(牛奶的主要蛋白成分)。从营养价值和食品角度来评价,烟叶可溶性蛋白属于优质利用蛋白。中国作为烟草种植大国,其种植面积和产量均居世界第一,除用于卷烟生产外,大量烟叶因为无法充分开发利用而被舍弃,不仅导致大量资源浪费,且有环境污染的风险。深入研究与开发利用烟叶蛋白资源对于提高烟草的综合利用价值,为烟草行业去库存,稳种植,增加烟农收入,进而促进我国烟草行业可持续发展和产业结构调整均具有重要意义。

4 结论

响应面法优化的新鲜烟草可溶性蛋白最佳提取工艺为:0.05 mol/L磷酸缓冲液添加1.1% PVP、料液比1:10.5(g/mL)、pH值8.6,此时烟叶可溶性蛋白的提取率为84.95%。新鲜烟草可溶性蛋白浓度为1.0 mg/mL时,对 ABTS^+ 和 $\text{DPPH}\cdot$ 自由基的清除率为58.57%、45.97%,新鲜烟草可溶性蛋白具有较强的抗氧化活性,为烟草蛋白的多用途开发利用提供数据参考。

参考文献:

- [1] 饶国华,赵谋明,林伟锋,等.中国低次烟叶资源综合利用研究[J].资源科学,2005,27(5):120-127.
- [2] 勾 华,刘建程.废弃烟叶的综合利用[J].江苏农业科学,2014,42(2):220-223.
- [3] 张启东,李 鹏,柴国璧,等.烟叶蛋白研究进展[J].化学通报,2013,76(7):605-611.
- [4] 卫 青,吴平艳,段 孟,等.再造烟叶浓白水中蛋白质提取工艺的优化研究[J].安徽农业科学,2016,44(30):67-69.
- [5] 陈复生,郭兴风.蛋白质化学与工艺[M].郑州:郑州大学出版社,2012:70-71.
- [6] 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,2001:267-269.
- [7] X. H. 波钦诺克(著),荆家海(译).植物生物化学分析方法[M].北京:科学出版社,1981:90-100.
- [8] 王承福,赵 爽,葛永辉,等.烟草综合利用及研究进展[J].贵州农业科学,2016,44(11):37-41.
- [9] 栾倩倩.鲜烟草中有效成分的分离纯化研究[D].大连:大连理工大学,2018.
- [10] 董二慧,谭 红,何锦林,等.响应曲面法优化低次烟叶可溶性蛋白提取工艺[J].江苏农业科学,2013,41(2):235-238.
- [11] 于士婷,尹翌秋,孙天霞,等.响应面法优化枸杞水溶性蛋白提取工艺[J].食品研究与开发,2017,38(9):79-84.
- [12] 宋思圆,苏 平,王丽娟,等.响应面试验优化超声提取黄秋葵花果胶多糖工艺及其体外抗氧化活性[J].食品科学,2017,38(2):283-289.
- [13] 王广慧,李士慧,梁 婷,等.响应面优化超声波辅助复合酶法提取香菇黄嘌呤[J].东北农业科学,2018,43(1):45-50.
- [14] 黄 威,李倬林,岳玉兰,等.超声辅助法提取刺玫籽油工艺优化[J].东北农业科学,2016,41(5):107-112.
- [15] 何 超,索绪斌,张 涵,等.响应曲面法优化鲜地龙可溶性蛋白提取工艺[J].中成药,2015,37(4):758-762.
- [16] Silva Coelho T L, Silva Braga F M, Caldas Silva N M. Optimization of the protein extraction method of goat meat using factorial design and response surface methodology[J]. Food chemistry, 2019, 281(30): 63-70.
- [17] 闫家玮,姜晓坤.罗汉果甜苷提取工艺优化及天然利咽喉保健糖果的开发[J].东北农业科学,2019,44(5):116-122.
- [18] Szedljak I, Szentai-K hegyi K J, Kosry J. Study of tobacco plant as a possible nutritive protein source [J]. Acta Alimentaria, 2010, 39(2): 149-156.
- [19] 曾 桥,韦承伯,韩国锋,等.桑叶茯砖茶总黄酮提取工艺优化及抗氧化活性[J].食品科技,2018,43(6):221-230.
- [20] 饶国华,赵谋明,林伟锋,等.低次烟叶蛋白质提取工艺研究[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2005,33(11):67-72.
- [21] 张劲松,高学云,黄 镇,等.沉淀pH值对烟草 Rubisco 结晶的影响[J].中国烟草学报,1997(2):3-7.

(责任编辑:王 昱)

(上接第81页)花生皮等比例混合的基质在产量和大薯产量及保水性方面都不如蛭石,原因在于花生皮作为基质时,自身结构过于疏松且不吸水,需要进一步研究。

吉薯1号以玉米秸秆为基质时产量和粒数达到最大为1 661.5 g和365粒;尤金用花生壳与玉米秸秆混合基质时产量和粒数达到最大为1 158.48 g和497粒;费乌瑞它用玉米秸秆为基质时产量和粒数达到最大为793.29 g和378粒。

吉薯1号在25株/箱的密度下产量和粒数达到最大为1 278.49 g和377粒;尤金在30株/箱的密度下产量和粒数达到最大为804.3 g和470粒;费乌瑞它在30株/箱的密度下产量和粒数达到最大为831.1 g和376粒。

参考文献:

- [1] 吕典秋,李学湛,何云霞,等.马铃薯脱毒原种栽培基质筛选和栽培技术研究[J].杂粮作物,2002,22(1):46-47.
- [2] 赵海红.基质对不同马铃薯品种微型薯形成的影响[J].中国种业,2015(5):51-52.
- [3] 关欢欢,许华民,李寿如,等.蛭石基质中马铃薯疮痂病防治后可培养菌群的变化分析[J].东北农业科学,2020,45(5):57-61.
- [4] 苏丽影,宋述尧,赵春波,等.玉米秸秆混合基质对甜瓜穴盘苗生长的影响[J].北方园艺,2013(12):28-30.
- [5] 李 娇.不同基质配比对马铃薯微型薯氮磷钾吸收的影响[D].长春:吉林农业大学,2017.
- [6] 白金达.马铃薯脱毒苗基质栽培与雾化栽培繁育技术研究[D].雅安:四川农业大学,2010.
- [7] 李 爽.玉米秸秆基质对马铃薯原种繁育的影响[D].长春:吉林农业大学,2016.
- [8] Abdunnour J, Roy G, Desjardins Y. Effect of supplemental lighting, substrate (potting mix) volume and plant densities on potato minituber production during winter greenhouse culture in Quebec[J]. Acta Horticulturae, 2003, 619: 53-58.
- [9] 李 闯,张海燕,谭 化,等.马铃薯新品种‘吉薯1号’茎尖脱毒及组培快繁研究[J].东北农业科学,2019,44(6):62-64,73.
- [10] 刘中良,焦 娟,张艳艳,等.二季作区早熟马铃薯的氮磷钾肥料效应试验研究[J].东北农业科学,2018,43(2):35-39.
- [11] Bates R M. Plant Production in Containers II[J]. HortScience: a publication of the American Society for Horticultural Science, 2004, 39(5): 1155.
- [12] 王玉娥,牛美颖,刘俊珍.马铃薯脱毒微型种薯生产技术的研究[J].西北农业学报,1992,1(2):89-91.
- [13] 刘 勇,郝兴顺,陈 进,等.不同基质对脱毒马铃薯穴盘扦插苗成活率及生长发育的影响[J].陕西农业科学,2009,55(5):21-22.
- [14] 郝兴顺,吴玉红,刘 勇,等.改良型新基质对彩色马铃薯脱毒微型薯繁育的影响[J].陕西农业科学,2015,61(12):14-16.
- [15] 屈冬玉,庞万福,谢发成,等.松针土作基质生产脱毒微型薯试验研究[J].中国马铃薯,1999(1):16-17.
- [16] 黄 永,柳福刁,张金龙,等.脱毒马铃薯原种无土栽培基质的探索分析[J].南方农业,2016,10(12):9-10.

(责任编辑:刘洪霞)