

## 电刺激改善牛肉嫩度的蛋白质组学研究

沈瑾 (山东省新泰市农业局, 山东新泰 271200)

**摘要** [目的]研究电刺激处理对宰后成熟过程中牛肉蛋白质的影响。[方法]利用牛背最长肌双向电泳凝胶体系研究电刺激后牛背最长肌中的差异蛋白质,分析宰后1和3 d时电刺激处理牛背最长肌中有显著降解的差异蛋白点。[结果]与未电刺激样品相比,在宰后1和3 d电刺激处理牛背最长肌中有12个蛋白点表达明显下调,分为9种蛋白质:肌间线蛋白、肌钙蛋白-T、肌球蛋白结合蛋白H;肌酸激酶、磷酸丙糖异构酶;过氧化物氧化还原酶、磷脂酰乙醇胺结合蛋白;组蛋白、甲基转移酶。[结论]电刺激后9种蛋白质通过4条途径影响电刺激后嫩度变化,包括糖酵解代谢途径、钙激活中性蛋白酶途径、溶酶体途径和氧化应激途径。电刺激通过通过4条途径影响嫩度的信号通路表明,牛肉嫩化与氧化、凋亡有密切联系;电刺激在一定程度上抑制增殖,加速氧化和凋亡,加快嫩化。

**关键词** 牛背最长肌;电刺激;嫩度;蛋白质降解;差异蛋白质组

**中图分类号** TS201.2<sup>+1</sup> **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2016)25-112-04

## The Proteomic Analysis of Beef Tenderness after Electrical Stimulation

SHEN Jin (Xintai Agricultural Bureau, Xintai, Shandong 271200)

**Abstract** [Objective] To research the effects of electrical stimulation (ES) on beef protein in the mature process after slaughter. [Method] The differential proteins were identified using the system of two-dimensional electrophoresis gels on muscle longissimus to analysis the relations to tenderness in this system. Differential protein spots with significant degradation during muscle longissimus ES were analyzed after 1 and 3 d of slaughtering. [Result] Compared with no ES samples, twelve protein spots were down-regulated significantly at 1 and 3 d postmortem as a result of electrical stimulation. These proteins were identified as nine types: desmin, troponin T alpha isoform, myosin binding protein H, creatine kinase, triosephosphate isomerase, peroxiredoxin-6, phosphatidylethanolamine-binding protein, histone H3.3-like isoform 2, methyltransferase. [Conclusion] Proteins of nine types affects tenderness as a result of electrical stimulation through four pathways including glycolytic metabolic pathway, calpains pathway, lysosomal pathway, and oxidative stress pathway. These pathways indicate that meat tenderness is closely related to oxidation and apoptosis, electrical stimulation inhibites proliferation, accelerates oxidation and apoptosis and finally accelerates meat tenderization.

**Key words** Muscle longissimus; Electrical stimulation; Tenderness; Protein degradation; Differential proteomics

嫩度是决定牛肉食用品质的最重要指标<sup>[1]</sup>。大量调查表明,消费者可以将不同嫩度的肉区分出来,并愿意以高价购买嫩度较好的牛肉。嫩度的高低在一定程度上决定牛肉食用品质的优劣<sup>[2]</sup>。牛肉的嫩度除受肉牛年龄和品种等生理方面的影响外,还包括牛屠宰后所采取的处理方式,如冷却处理、电刺激处理等。电刺激处理对宰后成熟过程中牛肉蛋白质降解的影响仍是肉品界的研究热点。研究表明,电刺激确实提高了宰后肌肉蛋白质的降解速度,其原因可能是电刺激导致蛋白质的降解。蛋白质组学的核心为双向凝胶电泳和质谱技术,笔者研究电刺激处理对宰后成熟过程中牛肉蛋白质的影响,以期研究牛肉嫩度的改善提供新的思路。

## 1 材料与方 法

**1.1 材料** 选择体重(629.0±50.3)kg、18月龄的杂交黄牛(延边牛×西门塔尔牛)20头,并随机分成2组。肉牛按伊斯兰屠宰流程屠宰。宰后5 min内,对其中一组进行电刺激(EST-601型电刺激仪,电压为42 V,电流为0.7 A,频率为50 Hz,时间为40 s;Electrical stimulation-ES),另一组未电刺激为对照组(No electrical stimulation-NS)。胴体剥皮、劈半后进入成熟车间(0~4℃,湿度90%,风速0.5 m/s)冷却、成熟,宰后1、3 d时在胴体12~13肋骨间取50 g肉块放入液氮内速冻后保存在-80℃,备用。

**1.2 样品处理** 取冷冻肌肉组织100 mg,加入1 mL裂解液孵化40 min,裂解液含8 mol/L尿素、2 mol/L硫脲、2%

CHAPS、65 mmol/L DTT、1%两性电解质(pH 3~10)。12 000 r/min离心60 min,取上清,使用2D quant kit定量试剂盒进行蛋白浓度定量,分装到离心管,保存于-80℃备用。

**1.3 双向电泳** 将含有400 μg样品的再水化液加到24 cm IPG胶条中,过夜使胶条再水化。再水化液包括8 mol/L尿素、0.5% CHAPS、0.28% DTT、1% IPG buffer(pH 3~10)、10%甘油、溴酚蓝,等电聚焦条件为50 V水化12 h,100 V 2 h,200 V 1 h,500 V 30 min,1 000 V 20 min,3 000 V 20 min。等电聚焦后,在10 mL含50 mmol/L Tris-HCl(pH 8.8)、6 mol/L尿素、2% SDS、20%甘油、溴酚蓝、5 mmol/L TBP的平衡液中平衡IPG胶条,然后将平衡后的IPG胶条转移到12.5% SDS凝胶上,进行第二向十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE),最初使用每块胶10 mA 1 h,待蛋白质样品在SDS-PAGE凝胶的浓缩胶上浓缩成一条线后,开始使用每块胶20 mA,直至溴酚蓝到达底部边缘时停止电泳。凝胶在含考马斯亮蓝G-250、95%乙醇、85%磷酸的染色液中染色,摇床振荡30 min,使用超纯水脱色2 h。电泳图谱染色完毕后,采用扫描仪对双向电泳凝胶图进行扫描分析,分辨率为300 dpi。采用凝胶图像分析软件PDQuest7.0分析图像,对双向电泳凝胶上的差异蛋白点进行检测分析,考染后有2倍以上差异的蛋白点被鉴定出来,最后对差异蛋白点进行质谱分析。

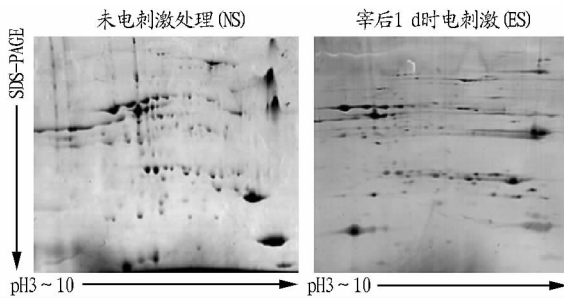
## 2 结果与分析

经考马斯亮蓝染色的双向电泳凝胶通过计算机辅助图像软件的分析,检测到650~669个点。宰后1和3 d时电刺

**作者简介** 沈瑾(1983-),女,山东新泰人,农艺师,博士,从事食品科学研究。

**收稿日期** 2016-07-20

激处理样品的双向电泳凝胶图谱见图 1、2。



注:蛋白质上样量为 400  $\mu\text{g}$ ,胶条 pH 3 ~ 10,胶条长度 24 cm,SDS 凝胶为 12.5%。

Note:Protein(400  $\mu\text{g}$ ) was loaded and separated in the IPG 3 - 10 strip(24 cm) and an SDS gel(12.5% T).

图 1 宰后 1 d 时电刺激与未电刺激处理牛背最长肌蛋白质表达的比较

Fig. 1 Comparative analysis of the expressed protein patterns between no simulated group and 1 d post-ES group

对宰后 1 和 3 d 时 ES 和 NS 处理样品经双向电泳并对凝胶染色后,使用 PDQuest2D 软件对不同凝胶重复性进行分析,发现有 6 个蛋白质点的蛋白丰度差异达 2 倍以上。对双向电泳后得到的显著差异蛋白质点进行质谱分析,得

表 1 宰后 1 d 时电刺激处理牛背最长肌样品中鉴定的差异蛋白点

Table 1 Identified differential proteins from muscle longissimus of Chinese Yellow crossbred bulls in 1 d post-ES samples

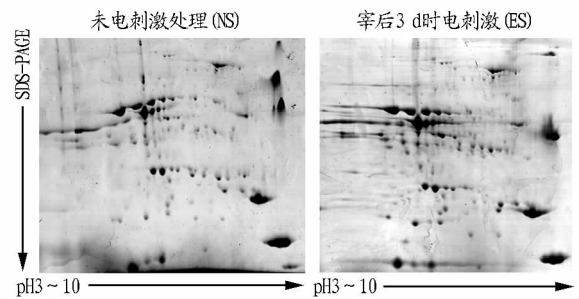
种类 Species	编号 Code	蛋白质名称 Protein name	NCBI 序列号 NCBI serial number	PMF (MS) 得分 PMF (MS) score	序列覆盖率 Coverage of serials//%	理论分子量 Theoretical molecular weight
细胞骨架蛋白 Cytoskeletal protein	3610	Desmin	gi12959452	276	49	5.21/52 530
	6310	Troponin T alpha isoform	gi11352725	195	35	9.53/27 793
激酶抑制蛋白 Kinase inhibitor protein	2207	phosphatidylethanolamine - binding protein	gi1259913	277	73	6.96/20 973
代谢酶 Metabolic enzyme	4312	Creatine kinase M chain	gi14838363	166	22	6.63/42 944
过氧化物氧化还原酶 Peroxi-redoxin	5316	Peroxi-redoxin - 6	gi15902790	231	50	6.00/25 051
	6301	Peroxi-redoxin - 6	gi15902790	294	47	6.00/25 051

表 2 宰后 3 d 时电刺激处理牛背最长肌样品中鉴定的差异蛋白点

Table 2 Identified differential proteins from muscle longissimus of Chinese Yellow crossbred bulls in 3 d post-ES samples

种类 Species	编号 Code	蛋白质名称 Protein name	NCBI 序列号 NCBI serial number	PMF (MS) 得分 PMF (MS) score	序列覆盖率 Coverage of serials//%	理论分子量 Theoretical molecular weight
细胞骨架蛋白 Cytoskeletal protein	6703	myosin binding protein H	gi1296479376	144	50	5.82/53 686
	6705	histone H3.3 - like isoform 2	gi1296202278	54	38	11.58/13 636
代谢酶 Metabolic enzyme	3703	creatine kinase M - type	gi160097925	194	61	6.63/43 190
	4306	triosephosphate isomerase	gi161888856	210	82	6.45/26 901
	5310	triosephosphate isomerase	gi161888856	127	75	6.45/26 901
甲基转移酶 Methyltransferase	3302	methyltransferase	gi1116248579	80	35	6.23/24 793

由表 1、2 可知,与未电刺激样品相比,在宰后 1 和 3 d 电刺激处理牛背最长肌中有 12 个蛋白点表达明显下调,分为 9 种蛋白质:肌间线蛋白(Desmin)、肌钙蛋白 - T(Troponin T alpha isoform)、肌球蛋白结合蛋白 H(Myosin binding protein H);肌酸激酶(Creatine kinase, 2 个)、磷酸丙糖异构酶(Triosephosphate isomerase, 2 个);过氧化物氧化还原酶(Peroxi-redoxin - 6, 2 个)、磷脂酰乙醇胺结合蛋白(Phosphatidylethano-



注:蛋白质上样量为 400  $\mu\text{g}$ ,胶条 pH 3 ~ 10,胶条长度 24 cm,SDS 凝胶为 12.5%。

Note:Protein(400  $\mu\text{g}$ ) was loaded and separated in the IPG 3 - 10 strip(24 cm) and an SDS gel(12.5% T).

图 2 宰后 3 d 时电刺激与未电刺激处理牛背最长肌蛋白质表达的比较分析

Fig. 2 Comparative analysis of the expressed protein patterns in between no simulated group and 3 d post-ES group

到肽质量指纹图谱(PMF)。以 MASCOT 离子搜索模式,检索 NCBI 真核生物的蛋白质数据库,共成功鉴定出 12 个蛋白点。其中,细胞骨架蛋白 4 个,激酶抑制蛋白 1 个,代谢酶 4 个,过氧化物氧化还原酶 2 个,甲基转移酶 1 个(表 1、2)。

lamine - binding protein);组蛋白(Histone H3.3 - like isoform 2)、甲基转移酶(Methyltransferase)。

### 3 讨论

3.1 电刺激通过糖酵解代谢途径影响嫩度 动物屠宰后,肌肉中的能量代谢系统从有氧代谢转为无氧代谢,ATP 主要来源于糖原降解为乳酸及磷酸肌酸中磷酸转移给 ADP<sup>[3]</sup>。肌酸激酶能够催化 ATP 与 ADP 间磷酸基团的可逆转移。研

究表明,电刺激能够加速宰后的糖酵解<sup>[4-6]</sup>,且发现有些代谢酶因为电刺激而导致表达改变<sup>[7]</sup>。另外,在糖酵解及糖异生过程中,磷酸丙糖异构酶(TIM)发挥了作用,催化3-磷酸甘油醛与磷酸二羟丙酮<sup>[8]</sup>间的转换。磷酸丙糖异构酶已被用作药物设计的一个靶目标<sup>[9]</sup>。屠宰后糖酵解酶的增加有可能是为了增加糖酵解速率,以维持ATP的生成。因此,电刺激后代代谢酶Creatine kinase和Triosephosphate isomerase表达下调,表明电刺激加快糖酵解途径,Creatine kinase和Triosephosphate isomerase快速消耗,防止肌肉快速冷却时的冷收缩,使胴体内能量大量消耗,ATP转化ADP为磷酸盐,释放出钙离子,乳酸积累,形成高温低pH环境,嫩度提高。

**3.2 电刺激通过钙激活中性蛋白酶途径影响嫩度** 研究表明,细胞骨架蛋白Titin、Nebulin、Desmin和Troponin-T的降解使肌原纤维发生一系列的物理、化学和结构的变化,导致肌纤维小片化,破坏了肌纤维结构的完整性,并最终改善了肉嫩度<sup>[10-11]</sup>。电刺激电流通过神经系统或直接使肌膜去极化引起肌肉收缩,使肉的糖酵解速率提高,肉胴体温度升高,pH迅速降低,进而影响Calpain/Calpastatin的比例<sup>[12]</sup>,也可能是肌浆钙离子浓度较高激活Calpains蛋白酶体系,蛋白质降解加速,并最终导致肉快速嫩化。电刺激后骨架蛋白Desmin、Troponin T alpha isoform、Myosin binding protein H表达下调,表明电刺激激活Calpains蛋白酶体系,加速降解骨架蛋白Desmin、Troponin T alpha isoform、Myosin binding protein H,剪切力降低,嫩度提高。

**3.3 电刺激通过溶酶体途径影响嫩度** 溶酶体内的酶均属于酸性水解酶,反应的最适pH为5.0左右,溶酶体膜有质子泵,将H<sup>+</sup>泵入溶酶体,使其pH降低。如果细胞pH下降至5.0左右,会导致酸性水解酶活化,水解溶酶体膜,最终导致溶酶体膜裂解,溶酶体酶释放,使细胞、组织自溶。当细胞中pH接近中性时,Peroxiredoxin-6在肌浆中发挥过氧化物氧化还原酶活性,当细胞中pH为5.0左右时,Peroxiredoxin-6在溶酶体发挥Ca<sup>2+</sup>依赖的磷脂酶A<sub>2</sub>活性,利用溶酶体途径来调控肉类中骨架蛋白的降解<sup>[13-14]</sup>。电刺激后Peroxiredoxin-6表达下调,表明电刺激后pH不断下降,直到pH为5.4左右,肌浆中Ca<sup>2+</sup>浓度升高,Peroxiredoxin-6主要发挥Ca<sup>2+</sup>依赖的磷脂酶A<sub>2</sub>活性,导致溶酶体膜破裂,溶酶体内的水解酶释放,使肌肉蛋白水解,嫩度提高。

**3.4 电刺激通过氧化应激途径影响嫩度** Peroxiredoxin是近年来发现的可以保护机体细胞免受氧化剂损伤的蛋白质家族,可以清除机体内的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>和烷基过氧化物,通过其过氧化物酶活性,保护细胞免受氧化损伤。Peroxiredoxin-6是一个双功能蛋白,具有过氧化物酶和磷脂酶A<sub>2</sub>双重活性。Peroxiredoxin-6在pH接近中性时,发挥过氧化物氧化还原酶活性,通过p38 MAPK级联途径刺激增殖和抑制细胞凋亡<sup>[15-17]</sup>。电刺激后Peroxiredoxin-6表达下调,表明电刺激后pH不断下降,直至pH为5.4左右,肌浆中Ca<sup>2+</sup>浓度升高,Peroxiredoxin-6主要发挥Ca<sup>2+</sup>依赖的磷脂酶A<sub>2</sub>活性,通过溶酶体途径使肌肉蛋白水解,在一定程度上抑制了p38

MAPK级联途径,抑制增殖,加速氧化凋亡,嫩度提高。

哺乳动物中的PEBP具有双重作用,包括脂质结合及使丝氨酸蛋白酶受到抑制<sup>[18]</sup>。牛屠宰后胴体内产生活性氧,激活Ras-MAPK级联途径,PEBP与Raf-1相互起作用,抑制Ras-MAPK信号转导途径。电刺激后PEBP表达下调,表明电刺激加速PEBP抑制Ras-MAPK级联途径,抑制增殖,加速氧化凋亡,嫩度提高。PI3K/Akt信号转导通路诱导细胞的增殖,避免细胞发生凋亡,且能够激活甲基转移酶MT<sup>[19-20]</sup>。而MT表达越低,甲基化水平越低,凋亡越快。电刺激后组蛋白和甲基转移酶下调,表明甲基转移酶表达降低,组蛋白甲基化水平降低,加速凋亡,在一定程度上抑制PI3K/Akt信号转导通路,抑制增殖,加速氧化凋亡,嫩度提高。

电刺激后Peroxiredoxin-6、PEBP、Histone、MT表达下调,表明电刺激通过抑制p38 MAPK级联途径、Ras-MAPK级联途径和PI3K/Akt信号通路,抑制增殖,加速氧化凋亡,嫩度提高。

#### 4 结论

该研究运用蛋白质组学方法研究了电刺激宰后1和3d牛背最长肌中降解的蛋白质。利用双向电泳技术和软件分析鉴定,确定在电刺激宰后1和3d牛背最长肌中有12个蛋白点表达明显下调,分为9种蛋白质:肌间线蛋白(Desmin)、肌钙蛋白-T(Troponin T alpha isoform)、肌球蛋白结合蛋白H(Myosin binding protein H);肌酸激酶(Creatine kinase,2个)、磷酸丙糖异构酶(Triosephosphate isomerase,2个);过氧化物氧化还原酶(Peroxiredoxin-6,2个)、磷脂酰乙醇胺结合蛋白(Phosphatidylethanolamine-binding protein,PEBP);组蛋白(Histone H3.3-like isoform 2)、甲基转移酶(Methyltransferase)。分析电刺激处理后的差异蛋白质影响嫩度的作用机制表明,电刺激处理后鉴定的9种差异蛋白质主要通过4条途径影响嫩度变化,分别为糖酵解代谢途径、钙蛋白酶途径、溶酶体途径、氧化应激途径。电刺激通过氧化应激途径影响嫩度的信号通路表明,牛肉嫩化与氧化、凋亡有密切联系;电刺激在一定程度上抑制增殖,加速氧化和凋亡,加快嫩化。具体机制还需要进一步试验验证。

该研究鉴定出的代谢酶为进一步研究成熟嫩化、氧化和凋亡提供了新思路,如对牛肉中基因进行分离及遗传效应分析,基因的敲除或者过表达,启动子克隆和转录因子的研究,可以进行基因结构、时空表达谱、多态性及性状关联分析等方面的研究,建立与嫩度的关系,从而指导生产。从基因水平上,进一步研究代谢通路及基因网络具有重要的理论意义。

#### 参考文献

- [1] SHACKELFORD S D, WHEELER T L, MEADE M K, et al. Consumer impressions of Tender Select beef[J]. Journal of animal science, 2001, 79: 2605-2614.
- [2] BOLEMAN S J, BOLEMAN S L, MILLER R K, et al. Consumer evaluation of beef of known categories of tenderness[J]. J Anim Sci, 1997, 75: 1521-1524.
- [3] POSO A R, PUOLANNE E. Carbohydrate metabolism in meat animals[J].

- Meat science,2005,70(3):423-434.
- [4] DAVEY C L,GILBERT K V,CARSE W A. Carcass electrical-stimulation to prevent cold shortening toughness in beef[J]. New Zealand journal of agricultural research,1976,19(1):13-18.
- [5] SMULDERS F J M,EIKELENBOOM G,VANLOGTESTIJN J G. The effect of electrical stimulation on the quality of 3 bovine muscles[J]. Meat science,1986,16(2):91-101.
- [6] EILERS J D,TATUM J D,MORGAN J B, et al. Modification of early post-mortem muscle pH and use of postmortem aging to improve beef tenderness[J]. Journal of animal science,1996,74(4):790-798.
- [7] MARTIN A H,MURRAY A C,JEREMIAH L E, et al. Electrical stimulation and carcass aging on beef carcass in relation to postmortem glycolysis rate[J]. Journal of animal science,1983,57:1456-1462.
- [8] BAUMAN D E,DEKAY D E,INGLE D L, et al. Effect of glycerol and glucose additions on lipogenesis from acetate in rat and cow mammary tissue[J]. Comparative biochemistry and physiology part B: Comparative biochemistry,2002,43:479-486.
- [9] ENRIQUEZ-FLORES S, RODRIGUEZ-ROMERO A, HERNANDEZ-ALCANTARA G, et al. Species-specific inhibition of *Giardia lamblia* triose-phosphate isomerase by localized perturbation of the homodimer[J]. Molecular and biochemical parasitology,2008,157:179-186.
- [10] HO C Y,STROMER M H,ROBSON R M. Effect of electrical stimulation on postmortem titin,nebulin,desmin,and troponin-T degradation and ultrastructural changes in bovine longissimus muscle[J]. J Anim Sci,1996,74:1563-1575.
- [11] HUFF-LONERGAN E,ZHANG W,LONERGAN S M. Biochemistry of postmortem muscle -Lessons on mechanisms of meat tenderization[J]. Meat science,2010,86(1):184-195.
- [12] KOOHMARAI E M,SEIDEMAN S D,SCHOLLEMEYER J E, et al. Effect of post-mortem storage on  $Ca^{2+}$ -dependent proteases,heir inhibitor and myofibrile fragmentation[J]. Meat Sci,1987,19(3):187-196.
- [13] FISHER A B. Peroxiredoxin 6: A bifunctional enzyme with glutathione peroxidase and phospholipase A activities[J]. Antioxid Redox Signal,2011,15:831-844.
- [14] FISHER A B,DODIA C. Role of phospholipase A<sub>2</sub> enzymes in degradation of dipalmitoyl phosphatidyl choline by granular pneumocytes[J]. J Lipid Res,1996,37(5):1057-1064.
- [15] NICK J A,YOUNG S K,BROWN K K. Role of p38 mitogen-activated protein kinase in a murine model of Pulmonary inflammation[J]. J Immunol,2000,164(4):2151-2159.
- [16] SETERNES O M,JOHANSEN B,HEGGE B. Both binding and activation of p38 mitogen activated protein kinase (MAPK) play essential roles in regulation of the nucleocytoplasmic distribution of MAPK activated protein kinase 5 by cellular stress[J]. Mol Cell Biol,2002,20:6931-6945.
- [17] NEW L,JIANG Y,HAN J. Regulation of P38 MAPK subcellular location by P38 MAPKs[J]. Mol Biol Cell,2003,14:2603-2616.
- [18] LI F F,SONG S J,ZHANG R N. Phosphatidylethanolamine-binding protein (PEBP) in basic and clinical study[J]. Sheng Li Ke Xue Jin Zhan,2009,40(3):214-218.
- [19] OSAKI M,OSHIMURA M,ITO H. PI3K-Akt pathway: Its functions and alterations in human cancer[J]. Apoptosis,2004,9(6):667-676.
- [20] SONG G,OUYANG G,BAO S. The activation of Akt/PKB signaling pathway and cell survival[J]. J Cell Mol Med,2005,9(1):59-71.

(上接第 82 页)

烟原料基地要求;第 2 组 38 个基地单元包括 JD02、JD06、JD08、JD10、JD12、JD14、JD16、JD18、JD19、JD23、JD25、JD29、JD48~JD59、JD65、JD66、JD68、JD70、JD71、JD75、JD76,烟叶化学成分较协调,隶属度值较高,总体更接近高 3 类卷烟要求;第 3 组 17 个基地单元包括 JD01、JD05、JD09、JD15、JD24、JD28、JD30~JD32、JD34、JD41、JD42、JD44、JD46、JD64、JD73、JD74,烟叶化学成分协调性相对稍差,低于其他类卷烟但高于较低类别;第 4 组 2 个基地单元包括 JD33、JD67,烟叶化学成分协调性差,隶属度值很低,属于较低类别卷烟原料基地。基地单元之间的烟叶化学成分有一定区别,烟叶品质符合度各组间明显不同,这与平均符合度分析结果总体一致。

### 3 结论

(1) 云南中烟 76 个基地单元烟叶总氮、烟碱、总糖、还原糖、钾、氯、氮碱比、糖碱比、糖差、钾氯比 10 项都符合云南省优质烟叶的要求。

(2) 烟叶总糖、还原糖、钾,  $G_1 > G_2$ , 分别高 38.1%、2.27%、7.34%;而烟叶总氮、氯,  $G_2 > G_1$ , 分别高 4.69% 和 11.11%;烟碱,则两大集团相近。各品牌烟叶,总氮 H3 与 H4 有显著差异,而总糖、还原糖、总氮、烟碱、钾、氯含量, H2 与 H3、H2 与 H4 均差异不显著。除 H1 品牌烤烟原料总氮略偏高 12.08%, H4 品牌烤烟原料总糖、两糖差分别比优质烟叶高 0.76%、10.3% 外, H1、H2、H3 和 H4 品牌烤烟原料总体符合云南优质烟叶指标。

(3) 云南中烟基地单元卷烟化学成分质量符合度较优。高三类卷烟的累积百分率占 63.2%。达一、二类卷烟要求的占 30.3%;达高三类卷烟占 32.9%。一、二类卷烟基地占比,  $G_2(32.26%) > G_1(28.89%)$ , 而高三类卷烟基地占比及其累积百分率占比,则  $G_1(40%, 68.89%) > G_2(22.58%, 54.84%)$ 。

(4) 云南中烟 76 个基地单元可分为 4 组。第 1 组 18 个基地单元烟叶内化学成分协调,隶属度值高,属于一、二类卷烟原料基地;第 2 组 39 个基地单元烟叶内化学成分较协调,隶属度值较高,总体接近高三类卷烟;第三组 17 个基地单元烟叶内化学成分协调性较差,低于其他类卷烟但高于较低类别;第四组 2 个基地单元属于较低类别卷烟原料基地。

(5) 云南中烟在滇基地单元的烟叶与品牌的卷烟常规化学成分指标符合度为 38%~100%,均值为 82.09%。氯变异最大,两糖差符合度变异系数(70.2%)较大,而其余各项符合度变异均  $< 45%$ ,烟叶氯、总氮符合度较为一致,其余各项仍存在较大的地域差异。各基地单元原料差别在于总糖和烟碱,而其他则差异较小。在生产过程中可以根据原料特点进行叶组配方,也可根据卷烟品牌要求进行生产措施的调整。

### 参考文献

- [1] 刘国顺.烟草栽培学[M].北京:中国农业出版社,2003.
- [2] 胡国松,赵元宽,曹志洪,等.我国主要产烟省烤烟元素组成和化学品质评价[J].中国烟草学报,1997,3(3):36-44.
- [3] 阎克玉,陈鹏,刘晓晖.烤烟 40 级制烟叶主要化学成分分析研究[J].郑州轻工业学院学报,1993,8(2):35-39.
- [4] 徐兴阳,罗华元,饶智,等.应用隶属函数模型评价烟叶常规化学成分的方法[J].山地农业生物学报,2015,34(3):19-23.
- [5] 杜文,张其龙,易建华,等.烟叶间可替代性的多元统计检测评价[J].烟草科技,2011(9):50-53.
- [6] 耿宗泽,李东亮,戴亚,等.基于化学成分指标的烤烟产区广义灰色关联分析[J].中国烟草学报,2010,16(3):12-16.
- [7] 薛超群,尹启生,王信民,等.模糊综合评判在化学成分评价烟叶可用性中的应用[J].烟草科技,2007(4):62-64.
- [8] 薛超群,刘迎昌.模糊概率值法在烤烟品种(系)综合评价中的应用探讨[J].烟草科技,2000(4):37-38.
- [9] 谭仲夏,秦西云.灰色关联分析方法在烟草内在质量评价上的应用[J].安徽农业科学,2006,34(5):924,971.
- [10] 刘国顺.国内外烟叶质量差距分析和提高质量技术途径探讨[J].中国烟草学报,2003(S1):54-58.