

基于液相色谱-串联质谱肽组学技术鉴定 鲣鱼的多肽组成

管晶晶¹, 冯勇强², 易佳雯¹, 罗东辉^{1,3}, 周春霞², 陈金¹, 蒋桂丽^{1*}

(1. 广东海洋大学食品科学与工程学院, 广东阳江 529500) (2. 广东海洋大学食品科技学院, 广东湛江 524088) (3. 化学与精细化工广东省实验室潮州分中心(韩江实验室), 广东潮州 521000)

摘要: 该文研究了鲣鱼酶解产物的各组分的多肽组成, 并采用 LC-MS/MS 肽组学技术鉴定了肽段长度。结果表明: 三个组分共鉴定出 2 395 条肽段, 其中 3~7 肽与 8~25 肽中分别鉴定出来 266 条、1 342 条肽段, 鉴定出来的肽段大部分集中在 8~18 肽。3~7 肽的离子得分在 -0.207~207 分, 多数集中在 20.7~124 分; 8~25 肽中多肽离子得分在 29~517 分, 多数集中在 29~224 分, 各组分相互的相关性均大于 0.8, 表明相关性较强。谷氨酸为鲣鱼酶解液中多肽含量最高的氨基酸。贡献肽段数量最多的蛋白质是肌球蛋白重链。蛋白质丰度相对较高的蛋白是肌球蛋白重链、 α -肌动蛋白。对多肽离子得分较高的部分肽段进行呈味肽预测, 鲜味氨基酸片段出现最高的是 LVEEELD, 出现频率是 1.428 6, 其中包含 D、E、EE、EEE、EL、EEL、VE 多个活性片段, 滋味丰度也较高; 部分苦味氨基酸是鲜味肽的组成成分, 酸味氨基酸、甜味氨基酸对鲜味也有帮助; 最后, 将鲣鱼酶解液添加到其他调味产品中发现其对呈味有一定的作用。以上研究可为鲣鱼相关调味品的开发提供理论依据。

关键词: 鲣鱼; 酶解; 多肽; 呈味

文章编号: 1673-9078(2024)12-377-385

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.12.0956

Peptide Composition in Skipjack Tuna Identified Using LC-MS/MS Peptidomics

GUAN Jingjing¹, FENG Yongqiang², YI Jiawen¹, LUO Donghui^{1,3},

ZHOU Chunxia², CHEN Jin¹, JIANG Guilil^{1*}

(1. College of Food Science and Engineering, Guangdong Ocean University, Yangjiang 529500, China) (2. College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China) (3. Chaozhou Branch of Chemistry and Chemical Engineering Guangdong Laboratory (Hanjiang Laboratory), Chaozhou 521000, China)

Abstract: The polypeptide compositions of three enzymatic hydrolysis products of skipjack tuna were studied, and the peptide segment length was identified using liquid chromatograph-tandem mass spectrometry peptidomics. The results revealed 2 395 peptide segments identified from three components, among which 266 and 1 342 peptides were identified from peptides consisting of 3~7 and 8~25 amino acids, respectively. Most identified peptides contained 8~18 amino acids. The ion scores of peptides with 3~7 amino acids were -0.207~207, whereas the most scores were in the range of 20.7~124. The

引文格式:

管晶晶,冯勇强,易佳雯,等.基于液相色谱-串联质谱肽组学技术鉴定鲣鱼的多肽组成[J].现代食品科技,2024,40(12):377-385.

GUAN Jingjing, FENG Yongqiang, YI Jiawen, et al. Peptide composition in skipjack tuna identified using lc-ms/ms peptidomics [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(12): 377-385.

收稿日期: 2024-07-06

基金项目: 广东省科技创新专项资金(“大专项+任务清单”)项目(SDZX2022038; SDZX2023029)

作者简介: 管晶晶(1989-),女,硕士,助教,研究方向:调味品加工与应用,E-mail: gjj@gdou.edu.cn

通讯作者: 蒋桂丽(1993-),女,硕士,助理实验师,研究方向:微生物发酵与应用,E-mail: jgl@gdou.edu.cn

ion scores of peptides with 8~25 amino acids ranged from 29 to 517, with the majority between 29 and 224. The correlation between each component was greater than 0.8, indicating a strong correlation. Glutamate acid showed the highest polypeptide content in the enzymatic hydrolysate of skipjack tuna. Myosin heavy chain contributed the largest number of peptide segments. Myosin heavy chain and α -actin exhibited a relatively high protein abundance. Flavor prediction was performed for some peptide segments with high ion scores. LVEEELD was the most frequently detected umami amino acid fragment, with a frequency of 1.428 6. This fragment contained multiple active segments, such as D, E, EE, EEE, EL, EEL, and VE, and had high taste richness. Some bitter amino acids were constituents of umami peptides, whereas sour and sweet amino acids also contributed to the umami taste. Finally, adding the enzymatic hydrolysate of skipjack tuna to other seasoning products influenced the flavor. These results provide a theoretical basis for the development of seasonings related to skipjack tuna.

Key words: skipjack tuna; enzymatic hydrolysis; polypeptides; flavor

鲣鱼作为金枪鱼类的一种, 捕捞量大, 成本相对较低, 且高蛋白低脂肪, 富含多种不饱和脂肪酸、必需氨基酸等, 营养价值丰富^[1-3]。目前, 国外的鲣鱼产品丰富, 国内市场相对低迷, 消费者热情不高, 加上鲣鱼本身口感一般, 因此相关研究较少, 整体利用率极低, 多数用来制作罐头、柴鱼等低附加值产品, 因此, 鲣鱼高值化利用产业的开发迫在眉睫^[4]。

呈味肽通常由氨基酸合成或从高蛋白食品原料中酶解制备得到, 通常具有良好的加工特性, 部分还具备一定的生物活性, 具有非常高的营养、保健功效^[5]。呈味肽能够提供风味前体物质或通过美拉德反应产生芳香类物质, 增强食品风味和食品品质, 是天然复合调味品的重要基料, 广泛应用于预制食品、调味料、肉制品等加工中, 可降低盐的咸感、味精的干涩感, 增强产品的鲜味、丰味, 增强各种味道的协调性^[6,7]。同时, 呈味肽符合现代食品发展潮流, 具备较高的利用价值和非常好的开发背景。

蛋白质水解会产生小分子肽、游离氨基酸等物质, 他们会对食品鲜味的产生有一定的贡献。鲜味肽有明显的鲜味特征, 对鲜味物质的呈味起着重要作用, 可以让食物具有良好的口感。鲣鱼酶解液中含有许多苦味肽, 在一定程度上限制了其在食品领域的发展, 鲜味肽可以通过和其他呈味物质的协同作用, 增强鲜味, 降低苦味程度^[8,9]。Park 等^[10]从鱼露中分离鉴定出 17 种肽, 它们自然条件下表现出苦味、酸味等各种不同的味道, 但是, 在加入 0.3% 的 NaCl 后, 大部分的多肽都具有咸鲜味, 说明了鲜味肽的协同作用。温泽华等^[11]对蟹肉酶解产物进行多肽组学研究, 经过质谱检测和鲜味预测筛选, 筛选出 14 种具有潜在鲜味物质的肽, 可进一步通

过分子对接、合成肽等手段对蟹肉酶解物的鲜味肽进行优化。

经文献调研, 高效液相色谱-串联质谱联用法 (LC-MS/MS) 日益成熟, 在确定蛋白质、多肽等的分子量、氨基酸的序列等方面具有显著优势^[12], 未有结合 LC-MS/MS 联用技术和多肽组学检测鲣鱼中的多肽组成的报道。本研究通过对经超滤分级的鲣鱼肽进行多肽组学分析, 探究其多肽数目、长度、评分、蛋白来源等, 研究鲣鱼肽的多肽特性, 并对鲣鱼的呈味特性进行预测, 旨在为鲣鱼调味品的开发利用、鲣鱼多肽的研究提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 原料

冷冻鲣鱼购自广西北海渔港; 超滤后的鲣鱼酶解液。

1.2 仪器与设备

ACQUITY™ 超高效液相色谱, Waters 公司; Q Exactive HF-X 质谱仪, Thermo Fisher Scientific; 0.15 mm×150 mm RP-C18 液相色谱柱, Column Technology Inc.。

1.3 实验方法

1.3.1 原料制备

按优化后的鲣鱼最佳酶解工艺制备鲣鱼肽, 最佳酶解工艺为: 加酶量的质量分数为 0.33%, 酶解时间 4.37 h, 料液比 1:4.19; 对优化后的酶解液进行超滤处理, 过 3 000、5 000、10 000 Da 的薄膜, 保留 3 000、3 000~5 000、5 000~10 000 Da 三个组分, 三个组分脱盐后, 进行质谱检测。

1.3.2 色谱分离

参照杨梅等^[13]的色谱分离方法,液相所用的A液为体积分数为0.1%的甲酸水溶液,B液为体积分数为0.1%的甲酸乙腈水溶液(乙腈体积分数为84%)。

液相色谱柱以体积分数为95%的A液进行平衡,样品由自动进样器上样到Zorbax 300SB-C18 peptide traps (Agilent Technologies, Wilmington, DE),再经过液相色谱柱分离,相关液相梯度设置如下:0~50 min, B液线性梯度从4%~50%; 50~54 min, B液线性梯度从50%~100%; 54~60 min, B液维持在100%。

1.3.3 质谱鉴定

参照杨梅等^[13]的质谱鉴定方法,酶解产物经毛细管高效液相色谱分离后用Q Exactive HF-X质谱仪进行质谱分析,分析时长:60 min。检测方式:正离子。多肽和多肽的碎片的质量电荷比按照下列方法采集:每次全扫描(full scan)后采集10个碎片图谱(MS2 scan)。

1.3.4 多肽呈味活性预测

参考何颖等^[14]的方法,运用BIOPEP数据库中的“Sensory peptides and amino acids”板块,预测鳀鱼多肽的呈味活性。活性片段计算公式为:

$$A = a/N \quad (1)$$

式中:

A——肽序列中活性片段的数量。

a——肽序列中具有特定味觉活性片段的数量;

N——肽段中含有的氨基酸残基数。

1.3.5 感官评定

表1 滋味评定标准

Table 1 Taste evaluation criteria

名称	分数 B				
	0 ≤ B ≤ 2	2 < B ≤ 4	4 < B ≤ 6	6 < B ≤ 8	8 < B ≤ 10
鲜味	略有	较弱	一般	偏重	很重
咸味	略有	较弱	一般	偏重	很重
苦味	略有	较弱	一般	偏重	很重
酸味	略有	较弱	一般	偏重	很重
甜味	略有	较弱	一般	偏重	很重

参考李自会等^[15]的感官评定方法,选用市面上销售两种酱油产品,与鳀鱼酶解液进行对比,分析其五味的区别;将鳀鱼酶解液加入鱼酱油产品中,

分析其滋味变化。五味标准品分别为酸(质量分数为0.025%柠檬酸)、甜(质量分数为0.5%的蔗糖)、鲜(质量分数为0.25%的味精)、咸(质量分数为0.5%的氯化钠)、苦(质量分数为0.05%的咖啡因)。

1.3.6 数据分析

采用Excel、SPSS 20.0软件进行统计分析,以Origin 8.0绘图。

2 结果与讨论

2.1 鳀鱼酶解产物多肽指纹图谱的分析比较

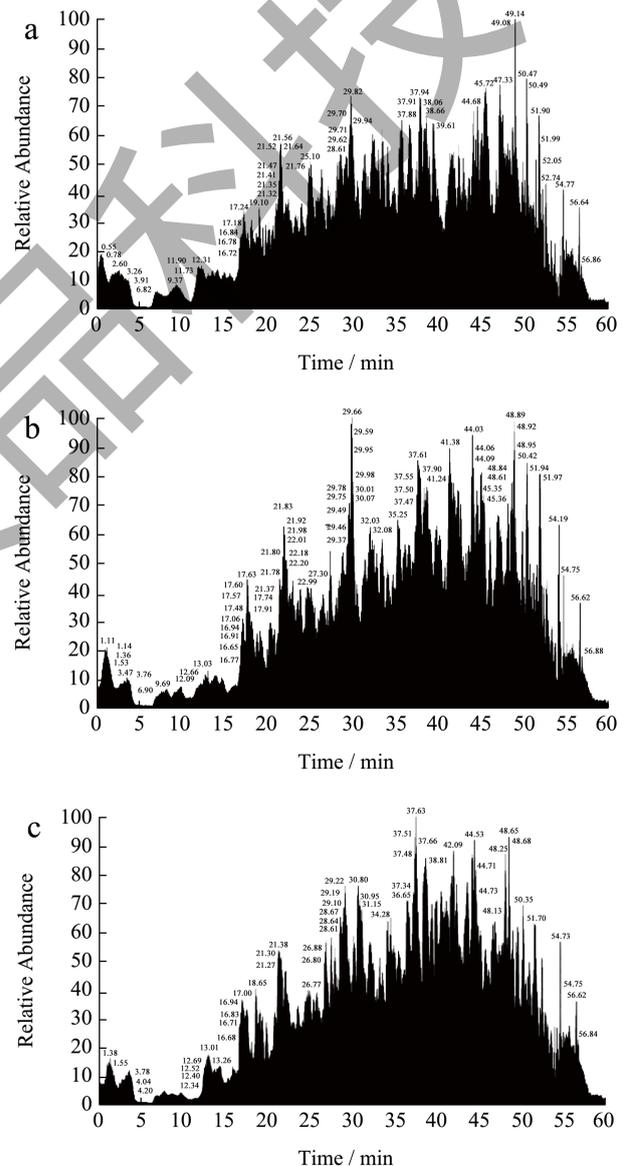


图1 LC-MS/MS分析不同组分鳀鱼酶解产物的总离子流图
Fig.1 Total ion current plots of the enzymatic hydrolysis products of different Skipjack fractions analyzed by LC-MS/MS
注:(a) < 3 kDa ; (b) 3~5 kDa ; (c) 5~10 kDa。

图1的a、b、c三个图分别代表鳕鱼酶解产物三种组分的总离子流图，横坐标为洗脱时间、纵坐标为峰强度。通过总离子流图可以比较直接的看出各组分的肽段丰度情况。

质谱的多肽序列如图2所示，根据质谱数据，可以分析质谱图所代表的多肽。解析序列为ISEELDH的肽，通过其特征谱峰代表的相对分子质量，找到对应的b、y离子以及其他离子，y1=(m/z=156.08)、y2=(m/z=271.10)、y3=(m/z=384.19)、y4=(m/z=513.23)、y5=(m/z=642.27)、y6=(m/z=729.31)、b1=(m/z=201.12)、b2=(m/z=459.21)等，可以推测出该质谱图对应的肽段为ISEELDH，肽段序列的评分为155.88。

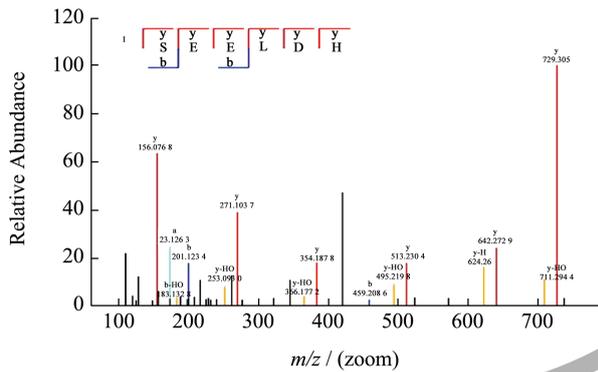


图2 酶解产物的多肽组成示例图

Fig.2 Example diagram of the polypeptide composition of the enzymatic hydrolysis product

2.2 肽段数量

各组分肽段数目如表2所示，检测肽段长度为3~25肽。小于3、3~5、5~10 kDa三个组分肽段数量分别为2 045、2 041、1 860，其中，3~7肽的数量分别为402、367、348，8~25肽的数量为1 643、1 674、1 512。在图3a中，三组分在3~7肽中共同鉴定出266条肽段，有53、28、43条肽段分别在对应组分中被鉴定出来；在图3b中，8~25肽中共有1 342条肽段被共同鉴定出来，仅有55、78、57条肽段在对应组分中被鉴定。综合来说，3 kDa组分与3~5 kDa组分鉴定出来的肽段总数相近，5~10 kDa数目最少。但是，3 kDa在3~7肽中有更多的数目，鲜味肽分子量一般为1 000 Da以下的小分子肽^[16]，因此可推测3 kDa组分含有独特的鲜味肽。

三组鳕鱼的样品鉴定出的所有肽段长度和分子量如图4所示，鉴定出来的肽段分布在3肽、6~25肽，多肽大部分集中在8~18肽。鉴定肽段

的相对分子量均在3 000 Da以下，富含各种生物功能活性和呈味特性，有利于后续对鳕鱼肽的呈味研究。此外，肽段鉴定未鉴定出四肽、五肽，推测可能是鳕鱼物种特殊，或者测定前多肽流失，无法被鉴定到。

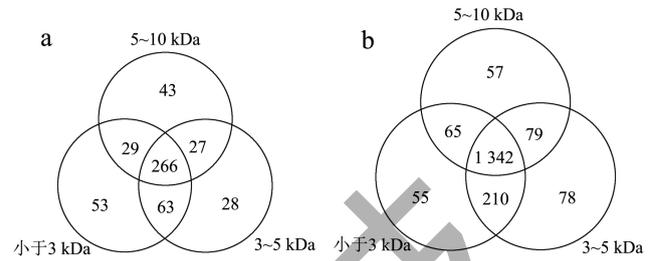


图3 所有样本组间鉴定到的多肽 Venn 图

Fig.3 Venn diagram of peptides identified between all sample groups

注：(a) 3~7肽；(b) 8~25肽。图4、5、7、8、10同。

表2 鉴定与定量结果统计表

Table 2 Statistical table of identification and quantification results

组别	Peptide Count
小于 3 kDa	2045
3~5 kDa	2041
5~10 kDa	1860

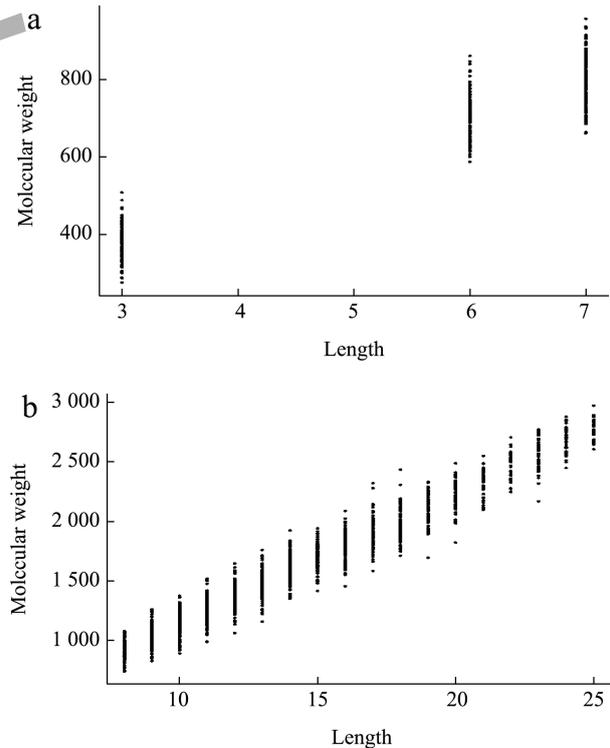


图4 多肽长度以及分子量分布图

Fig.4 Peptide length and molecular weight distribution

图5为多肽离子得分图,如图所示,在图5a中,3~7肽的离子得分从-0.207到207,其中(-0.207, 20.7)有89条,占比17.48%,在离子评分(20.7, 41.3)、(41.3, 62)、(62, 82.6)、(82.6, 103)、(103, 124)等的多肽数量分别为67、69、83、65、61等,占比为13.16%、13.55%、16.31%、12.77%、11.98%等,是3~7肽主要分布的离子得分区间。在图5b中,多肽离子得分在29~517,其中,8~25肽多数集中在29~224分,仅有少数在224~517分。根据离子得分结果可以判断出多肽越长,其离子得分普遍越高,推测可能是肽段变长,含有各种功能活性的氨基酸变多或者是某种重要蛋白质的前体肽段,从而使得多肽离子得分更高。

图6为鳀鱼酶解液各组分的相关性分析图,其中,各组分相互的相关性均大于0.8,说明相关性较强。小于3 kDa组分与3~5 kDa、5~10 kDa组分的相关性程度为0.893 4、0.890 7,3~5 kDa组分与5~10 kDa组分的相关性程度为0.834 1,各组分均有强相关性,3~5 kDa组分与5~10 kDa组分相关性较低的原因可能是两组分含有的多肽结构、功能、蛋白质来源等的不同。

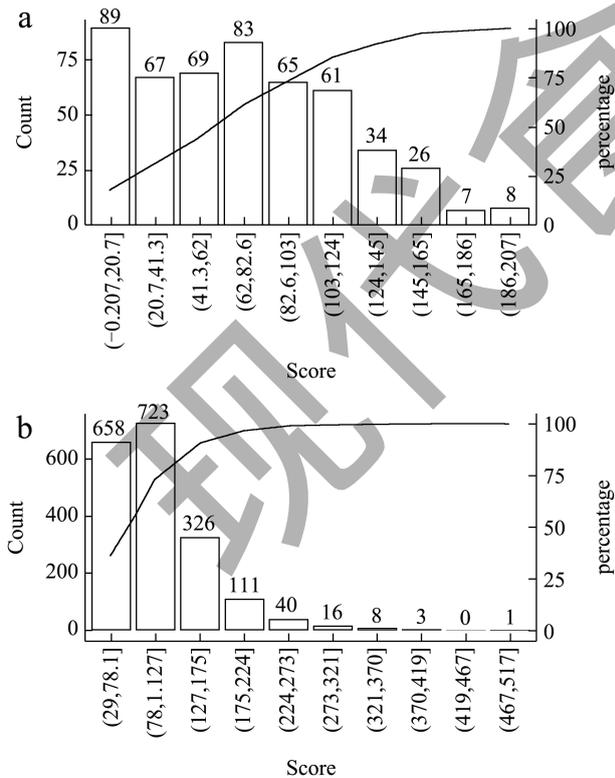


图5 多肽离子得分图
Fig.5 Peptide ion score plot

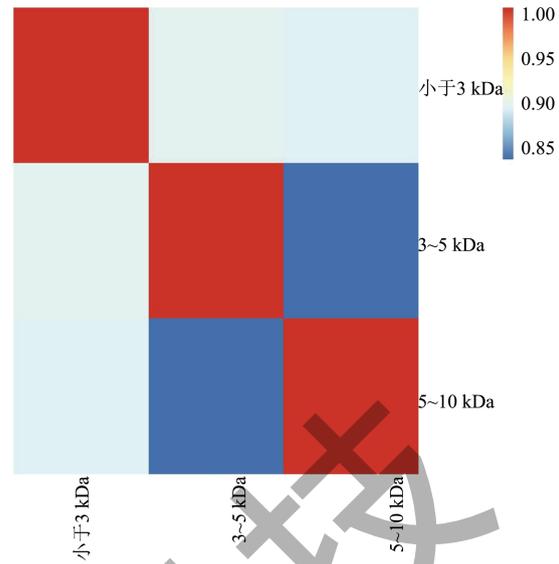


图6 各组分相关性分析
Fig.6 Correlation analysis of components

2.3 多肽的蛋白质来源

大部分的多肽来自于蛋白质的消化降解。对多肽的蛋白来源分析及比较,对于追溯多肽的功能、评价多肽制备工艺等具有意义价值。

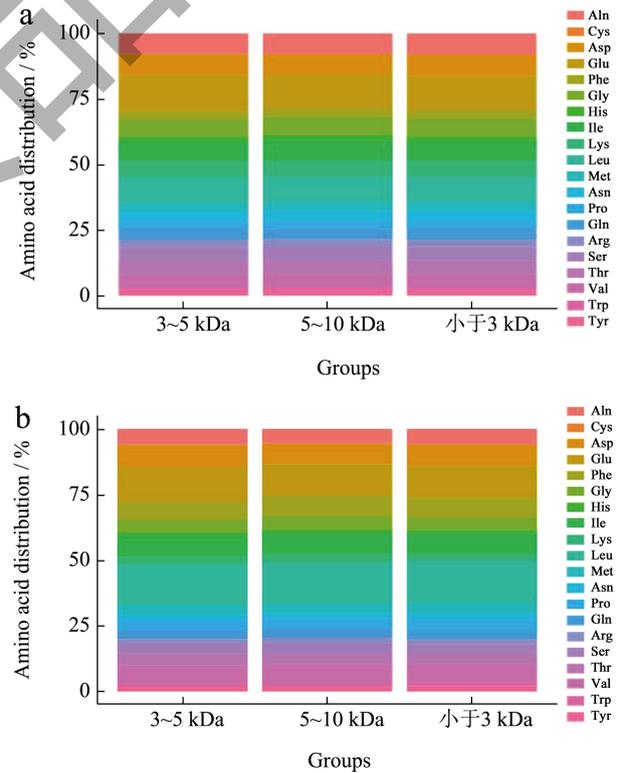


图7 各组样本的多肽氨基酸组成比例图
Fig.7 Proportional plots of peptide amino acid composition of samples from each group

2.3.1 多肽氨基酸组成比例分析

鳀鱼酶解液多肽氨基酸占比如图 7 所示，共有 20 种氨基酸，其中，谷氨酸为鳀鱼酶解液多肽含量最高的氨基酸，在图 7a (3~7 肽) 中，小于 3、3~5、5~10 kDa 三个组分占比分别为 12.20%、13.58%、12.19%，在图 7b (8~25 肽) 中占比 13.12%、13.66%、12.86%。3~25 肽是小于 3 kDa 的小分子肽，而鲜味肽主要分布在小于 1 kDa 的范围内，因此，三种组分谷氨酸含量较高。此外，亮氨酸的含量也很高，它在 3~7 肽中含量为 15.97%、15.51%、15.73%，大于谷氨酸在图 7a (3~7 肽) 中的含量，在图 7b (8~25 肽) 中亮氨酸含量为 9.47%、9.70%、9.70%，亮氨酸是人体的必需氨基酸之一，有促进生长发育、提高免疫力等功效。其次占比较高的是天冬氨酸、异亮氨酸、苯丙氨酸、缬氨酸，天冬氨酸与谷氨酸为鲜味特征氨基酸，它们含量高则说明鳀鱼酶解液鲜味好；异亮氨酸、苯丙氨酸和缬氨酸是人体的必需氨基酸之一，而其他必需氨基酸例如色氨酸等含量均较高，说明鳀鱼酶解产物营养价值较高，是作为海鲜调味料的优质原料；此外，苯丙氨酸还是芳香族氨基酸，在较低浓度时可以增强产物的鲜味与甜味^[17]。

2.3.2 多肽的蛋白质来源分析

图 8、9 分别为蛋白对应多肽数量和多肽数量占比图，结果可知，图 9a1 (小于 3 kDa 组分，3~7 肽) 中贡献肽段数量最多的是肌球蛋白重链-2，占比 47.11%，其次是 α -肌动蛋白，占比 11.01%；图 9b1 (8~25 肽) 中，贡献最大的是肌球蛋白重链-1，占比 36.75%，其次是 α -肌动蛋白和原肌球蛋白，占比分别为 22.75% 和 7.15%。其他两个组分贡献多肽数量蛋白结果相似，说明对鳀鱼酶解产物多肽数量贡献最大的是肌球蛋白重链，它们是构成肌球蛋白的基本成分，此外还含有细胞色素、酶蛋白、肌红蛋白等蛋白，他们共同构成了鳀鱼的肌肉组织。有研究表明^[18]，动物肌肉组织中含有肌肉蛋白，肌肉蛋白主要包括肌球蛋白、肌动蛋白等，它们对肉类风味有着重要的影响。可以与香气成分相互作用，影响香气成分的保留或释放^[19]，还可以通过降解的氨基酸发生美拉德反应产生各种挥发性物质^[20]。因此，

可推测肌球蛋白重链、 α -肌动蛋白和原肌球蛋白等对鳀鱼酶解产物的风味产生较大的贡献。而甘瑞卿等^[21]研究的罗非鱼副产物蛋白水解肽的呈味分析中，胶原蛋白、肌浆蛋白以及肌原纤维蛋白是罗非鱼副产物酶解液滋味活性肽的重要味觉活性前体，蛋氨酸在罗非鱼酶解液的鲜味形成中起重要贡献。

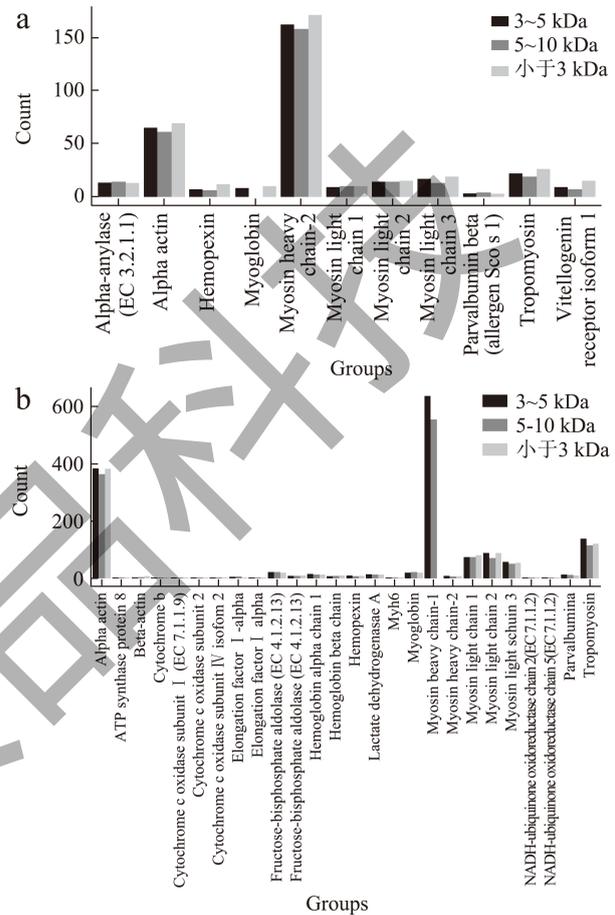


图 8 蛋白对应多肽数量柱状图

Fig.8 Bar graph of the number of peptides corresponding to the protein

图 10 为蛋白对应多肽丰度图，结果可知，各蛋白强度值均较高，即丰度较高，丰度相对较高的蛋白是肌球蛋白重链、 α -肌动蛋白，这两种蛋白的数量较高，是鳀鱼肌肉蛋白的重要组成蛋白。不同的肌肉蛋白在氨基酸组成和结构上会有差异，它们与风味物质的结合能力也不同。而鳀鱼酶解产物蛋白种类多，强度较平均，可与各种风味物质结合。此外，也可通过改变部分蛋白质的种类以及浓度，对鳀鱼酶解液制备海鲜调味品的风味以及口感进行有效调控^[18]。

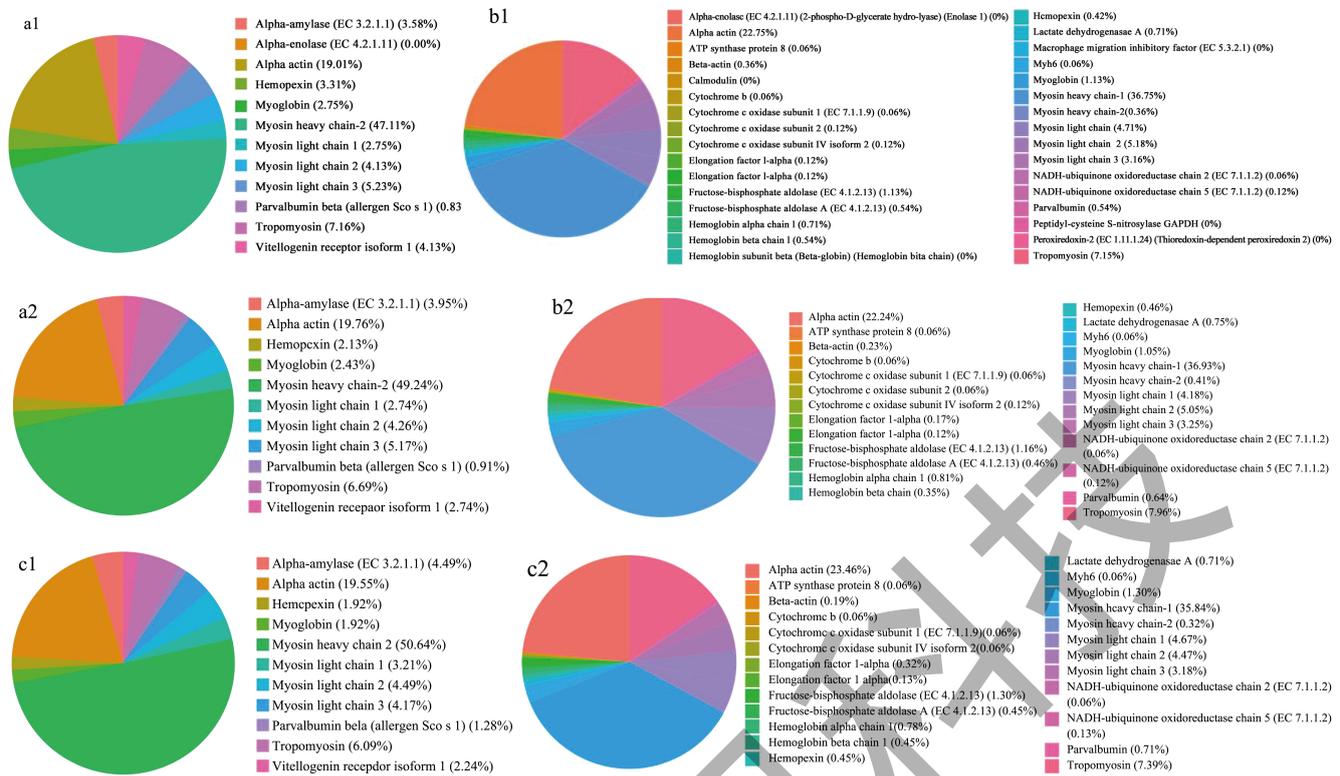


图9 各组蛋白贡献的多肽数量占比饼状图

Fig.9 Pie chart of the proportion of the number of peptides contributed by each group of proteins

注: a1: 3~7 肽 (<3 kDa); a2: 8~25 肽 (<3 kDa); b1: 3~7 肽 (3~5 kDa); b2: 8~25 肽 (3~5 kDa); c1: 3~7 肽 (5~10 kDa); c2: 8~25 肽 (5~10 kDa)。

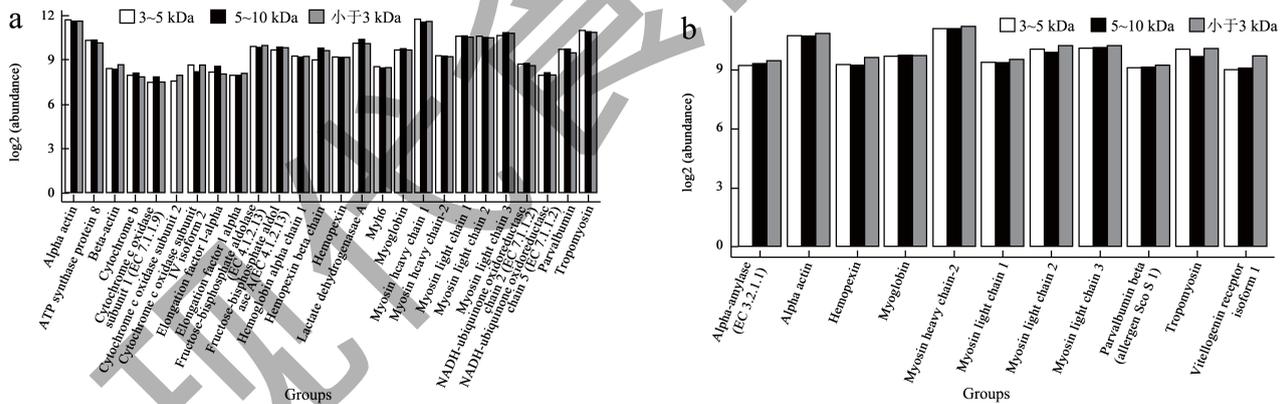


图10 蛋白对应多肽丰度柱状图

Fig.10 Bar graph of the abundance of corresponding peptides for proteins

2.4 呈味肽的预测

表3为部分多肽序列中味觉活性片段出现概率图,对多肽离子得分较高的部分肽段进行呈味肽预测,分析其味觉活性。由表可知,鲜味氨基酸片段出现最高的是LVVEELD,鲜味出现频率为1.4286,其中包含D、E、EE、EEE、EL、EEL、VE多个活性片段,且其滋味丰度很高,含

有五种味觉特性。其次是LAEIEEL、QLEDDL、NEELEAM,鲜味出现概率为1.0000,含有AE、E、EE、EA、DD等多个鲜味片段。苦味肽出现概率最高的也是LVVEELD,其次是LAEIEEL,它们鲜味出现概率高,苦味也高,根据BIOPEP数据库发现,许多鲜味氨基酸片段也是苦味氨基酸片段,例如VE、EE、EL等,也有研究发现一些苦味的氨基

酸是鲜味肽的组成成分，例如精氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸等^[22]。甜味氨基酸如甘氨酸、丙氨酸等也对甜味有帮助^[23]。此外，酸味氨基酸也是甜味的重要刺激物质，且在鲜味肽序列中经常能找到酸味氨基酸^[24]，在 BIOPEP 数据库中，D、E、DD、VE 等活性片段既是鲜味氨基酸片段，也是酸味氨基酸片段，因此，不能仅凭活性片段判断肽的味觉活性，需要综合考虑。其中，LVEEELD、LAEIEEL、QLEDDL 和 NEELEAM 含有较多的鲜味活性片段，可能有较强的鲜味。

2.5 感官评定

如图 11 所示，共有 A（鳀鱼酶解液）、B（酱油 1，选用李锦记蒸鱼豉油）、C（酱油 2，选用凤球唛鱼

露调味汁）、D（酶解液 + 酱油 1）、E（酶解液 + 酱油 2）五个样品。其中 A、B、C 三个样品中，鳀鱼酶解液的鲜味比酱油 2 好，比酱油 1 略差；在苦味方面，酶解液相较两种酱油较苦，可能与鳀鱼酶解产物的苦味肽、苦味氨基酸等物质有关；B、C 为酱油产品，鳀鱼酶解液的咸味、酸味相对较低；甜味方面 B > A > C。在 D、E 两个样品中，添加了鳀鱼酶解液的酱油 1 与酱油 2 鲜味均有所增强，说明鳀鱼酶解液对酱油的鲜味有促进作用；由于鳀鱼酶解液的咸味、酸味较低，因此可以一定程度地降低酱油产品的咸味、酸味；美中不足的是，鳀鱼酶解液的苦味较大，会提高酱油的苦味，有待进一步研究优化；两种产品的甜味的变化不大，可通过对鳀鱼酶解液的复配，增强其甜味。

表 3 部分多肽序列中味觉活性片段出现频率

Table 3 Frequency of gustatory active fragments in partial polypeptide sequences

肽段序列	活性片段出现概率				
	苦味	酸味	咸味	甜味	鲜味
ELL	1.666 7	0.666 7	/	/	0.666 7
DLE	1.000 0	0.666 7	0.333 3	/	0.666 7
DLR	1.000 0	0.333 3	0.333 3	/	0.333 3
LQL	1.000 0	/	/	/	/
LLK	1.333 3	0.333 3	/	0.333 3	/
LVEEELD	1.142 9	0.857 1	0.428 6	0.285 7	1.285 7
VITIGNE	0.428 6	0.142 9	/	0.285 7	0.142 9
SMFEQSQ	0.142 9	0.142 9	/	/	0.142 9
LAEIEEL	1.000 0	0.571 4	0.142 9	0.285 7	1.000 0
ELEEISE	0.714 3	0.714 3	0.142 9	0.142 9	0.857 1
IIIADLE	0.857 1	0.285 7	0.142 9	0.142 9	0.428 6
NLTEEM	0.333 3	0.333 3	0.166 7	0.166 7	0.666 7
QLEDDL	0.833 3	0.833 3	0.833 3	/	1.000 0
SILEEEC	0.571 4	0.428 6	0.285 7	0.142 9	0.714 3
NEELEAM	0.714 3	0.571 4	0.142 9	0.285 7	1.000 0
HIEEEI	0.500 0	0.500 0	0.333 3	0.166 7	0.833 3
ITTNPY	0.333 3	/	/	0.166 7	0.166 7
NLEVSV	0.833 3	0.333 3	/	0.500 0	0.333 3
NWGEGW	0.666 7	0.166 7	/	0.333 3	0.333 3
LTEEMA	0.333 3	0.333 3	0.166 7	0.333 3	0.666 7
KLEQQVDDLEGSLEQEK	0.823 5	0.588 2	0.176 5	0.235 3	0.647 1
EKSEYKMEIDDLSSNMEAVAK	0.523 8	0.476 2	0.142 9	0.285 7	0.476 2
SSSLEKSYELPDGQVITIGNERF	0.608 7	0.304 3	0.043 5	0.217 4	0.304 3
AASSSSLEKSYELPDGQVITIGNER	0.480 0	0.280 0	0.040 0	0.320 0	0.280 0
NLQQEISDLTEQIGETGK	0.388 9	0.277 8	0.055 6	0.166 7	0.333 3

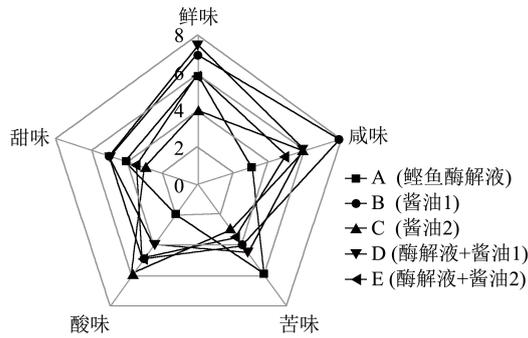


图 11 鳀鱼酶解液与其他酱油产品的感官评定

Fig.11 Sensory evaluation of skipjack fish enzymatic hydrolysate compared with other soy sauce products

3 结论

本实验采用 LC-MS/MS 肽组学技术鉴定了鳀鱼酶解产物不同组分的肽序列, 从多肽数量、多肽分子量、多肽氨基酸占比、多肽蛋白来源、呈味肽的预测方面进行了分析, 检测肽段长度为 3~25 肽, 在 3~7 肽、8~25 肽中分别鉴定出 266 条肽段, 1 342 条肽段; 鉴定出来的多肽大部分集中在 8~18 肽; 谷氨酸为鳀鱼酶解液多肽含量最高的氨基酸; 3~7 肽中贡献肽段数量最多的蛋白质是肌球蛋白重链 -2, 其次是 α -肌动蛋白; 8~25 肽中贡献最大的是肌球蛋白重链 -1, 其次是 α -肌动蛋白和原肌球蛋白; 蛋白质丰度相对较高的蛋白是肌球蛋白重链、 α -肌动蛋白; 鲜味氨基酸片段出现最高的是 LVEEELD, 其中包含 D、E、EE、EEE、EL、EEL、VE 多个活性片段, 滋味丰度也较高。部分苦味氨基酸是鲜味肽的组成成分, 酸味氨基酸、甜味氨基酸对鲜味也有帮助; 鳀鱼酶解液对酱油的鲜味有促进作用, 且可以一定程度的降低咸味、酸味。本研究可为鳀鱼肽的研究和鳀鱼调味品的开发提供理论参考。

参考文献

- 王求娟. 鳀鱼原料贮藏和加工过程中质量控制的研究[D]. 宁波: 宁波大学, 2014.
- 童铃, 金毅, 徐坤华, 等. 3种鳀鱼背部肌肉的营养成分分析及评价[J]. 南方水产科学, 2014, 10(5): 51-59.
- 楚玉柔, 孙继鹏, 朱秋语, 等. 鳀鱼背腹肉降尿酸肽制备工艺优化及体外活性研究[J]. 食品与机械, 2023, 39(3): 153-160.
- ARTETXE A I, FRAILE I, MARSAC F, et al. A review of the fisheries, life history and stock structure of tropical tuna (skipjack *Katsuwonus pelamis*, yellowfin *Thunnus albacares* and bigeye *Thunnus obesus*) in the Indian Ocean [J]. *Advances in Marine Biology*, 2021, 88: 39-89.
- 张波. 呈味肽研究技术进展[J]. 现代食品, 2020, 4: 61-63.
- TEMUSSI P A. The good taste of peptides [J]. *Journal of Peptide Science*, 2012, 18(2): 73-82.
- QIU D, GAN R, FENG Q H, et al. Flavor formation of tilapia byproduct hydrolysates in Maillard reaction [J]. *Journal of Food Science*, 2024, 89(3): 1554-1566.
- 姜莉莉, 李杏元. 呈味肽应用于食品的研究进展[J]. 中国调味品, 2019, 44(11): 187-189.
- JIA R, HE Y, LIAO G, et al. Identification of umami peptides from Wuding chicken by Nano-HPLC-MS/MS and insights into the umami taste mechanisms [J]. *Food Research International*, 2023, 172: 113208-113208.
- PARK J N, ISHIDA K, WATANABE T, et al. Taste effects of oligopeptides in a Vietnamese fish sauce [J]. *Fisheries Science*, 2002, 68(4): 921-928.
- 温泽华, 杨璨, 黄玉荣, 等. 蟹肉酶解物的鲜味物质分析及鲜味肽的鉴定[J]. 食品研究与开发, 2023, 44(21): 10-17.
- 张美铃, 赖心仪, 林珠灿, 等. 基于液相色谱-串联质谱肽组学技术鉴定地龙制剂中的多肽及含量检测[J]. 分析科学学报, 2024, 40(2): 199-205.
- 杨梅, 武俊瑞, 彭秀明, 等. 牛乳中不同部分蛋白质的组成及功能分析[J]. 现代食品科技, 2018, 34(4): 11-17.
- 何颖, 吕东霖, 廖国周, 等. 武定鸡肉中鲜味肽分离鉴定及呈味特性[J]. 食品科学, 2022, 43(22): 232-238.
- 李自会, 段晓杰, 刘昆仑, 等. 鸡骨架和鸡胸肉复合底物酶解工艺优化及产物呈味特性研究[J]. 食品工业科技, 2023, 44(15): 184-192.
- FU Y, LIU J, HASEN E T, et al. Structural characteristics of low bitter and high umami protein hydrolysates prepared from bovine muscle and porcine plasma [J]. *Food Chemistry*, 2018, 257: 163-171.
- CHEN D W, ZHANG M. Non-volatile taste active compounds in the meat of Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) [J]. *Food Chemistry*, 2007, 104(3): 1200-1205.
- 魏萌, 张文娜, 韩爱云, 等. 挥发性风味物质与肌肉蛋白互作机制的研究进展[J]. 食品工业科技, 2024, 45(20): 390-397.
- PEREZ-JUAN M, FLORES M, TOLDRA F. Effect of pork meat proteins on the binding of volatile compounds [J]. *Food Chemistry*, 2008, 108(4): 1226-1233.
- SOHAIL A, AL-DALALI S, WANG J A, et al. Aroma compounds identified in cooked meat: A review [J]. *Food Research International*, 2022, 157: 111385.
- 甘瑞卿, 何燕富, 李永成, 等. 罗非鱼副产物蛋白水解肽的呈味分析[J]. 现代食品科技, 2022, 38(7): 291-300.
- 余霞琴. 鲜味受体T1R1/T1R3的结构模拟及其与鲜味六肽作用研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2017.
- LIOE H N, TAKARA K, YASUDA M. Evaluation of peptide contribution to the intense umami taste of Japanese soy sauces [J]. *Journal of Food Science*, 2010, 71(3): S277-S283.
- LIANG J M, CHEN L L, LI Y N, et al. Isolation and identification of umami-flavored peptides from *Leccinum extremiorientale* and their taste characteristic [J]. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2021, 45(3): 15255-15255.