

# 酱油鲜味肽的分离鉴定检测研究进展

周冰莹<sup>1</sup>, 徐涛<sup>1</sup>, 王晨<sup>2</sup>, 潘见<sup>1</sup>, 张文成<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>合肥工业大学食品与生物工程学院, 农产品生物化工教育部工程研究中心, 安徽 合肥

<sup>2</sup>阜阳九珍食品有限公司, 安徽 阜阳

收稿日期: 2023年2月20日; 录用日期: 2023年4月29日; 发布日期: 2023年5月11日

## 摘要

酱油因具有独特的色、香、味, 且有降血压、抗氧化、抗肿瘤等功效, 深受消费者喜爱。因此, 从业者对酱油中营养物质进行分析、评价、调配、强化等较多研究。本文主要综述了酱油鲜味肽的分离鉴定检测方法研究进展, 为酱油开发研究提供理论参考。

## 关键词

酱油, 鲜味肽, 鉴定

# Research Progress on Identification and Detection Methods of Soy Sauce Flavor Peptides

Bingying Zhou<sup>1</sup>, Tao Xu<sup>1</sup>, Chen Wang<sup>2</sup>, Jian Pan<sup>1</sup>, Wencheng Zhang<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Engineering Research Center of Bio-Process from Ministry of Education, School of Food and Biological Engineering, Hefei University of Technology, Hefei Anhui

<sup>2</sup>Fuyang Jiuzhen Food Co., Ltd., Fuyang Anhui

Received: Feb. 20<sup>th</sup>, 2023; accepted: Apr. 29<sup>th</sup>, 2023; published: May 11<sup>th</sup>, 2023

## Abstract

Soy sauce is popular with consumers because of its unique color, fragrance and taste, as well as its effects of lowering blood pressure, antioxidation and anti-tumor. Practitioners have done a lot of research on the analysis, evaluation, preparation and strengthening of the nutrients in soy sauce.

\*通讯作者。

文章引用: 周冰莹, 徐涛, 王晨, 潘见, 张文成. 酱油鲜味肽的分离鉴定检测研究进展[J]. 食品与营养科学, 2023, 12(2): 84-90. DOI: 10.12677/hjfn.2023.122011

People have conducted in-depth research on the nutrients contained in soy sauce. In this paper, the research progress of identification and detection methods of soy sauce flavor peptides is reviewed, which provides theoretical reference for the development and research of soy sauce.

## Keywords

Soy Sauce, Fresh Peptide, Identification

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 酱油简介

中华五千年文明史,三千年酱油史,酱油堪称中国对人类文明的一大贡献。世界上调味品成千上万,东西方调味品风味迥然不同,而酱油则是东方调味品的一面旗帜,故有“西方的沙司、东方的酱油”之说。现代研究发现,酱油具有促进消化、降血压、预防和消除放射线诱发疾病、抗肿瘤的等疗效[1]。酱油是我国传统的发酵调味品,由于其独特的色、香、味,已经成为我们日常生活中必不可少的调味品。酱油独特的滋味主要来源于其中游离氨基酸,小分子肽等呈味物质[2],其中, Glu 和 Asp 是最常见的鲜味氨基酸,酱油是由蛋白质发酵生成的,其中最主要的含氮物质是游离氨基酸,在钠盐的作用下, L-谷氨酸是提供酱油鲜味的重要物质。陈嘉辉从酱油中提取的 42 条短肽链中,有 11 条肽链具有增强鲜味的作用[3]。鲜味肽是一类能够弥补或强化食品原有风味的肽,它可以改善食品品质,提高味觉感知度,增进消费者的食欲[4]。研究酱油中鲜味肽的鉴定检测对调味品的进一步开发和利用有潜在的价值。

酱油是一种以大豆或脱脂大豆为主要原料,并辅以小麦、面粉等淀粉质原料,在微生物(如曲霉、乳酸菌、酵母菌等)的作用下,水解生成游离氨基酸、小分子肽、有机酸及糖类等,并以这些物质为基础,经过一系列复杂的生化反应,形成具有特殊色泽、风味和状态的调味液[5]。酱油最早起源于我国,7 世纪左右,酱油的生产工艺传入日本,并在东南亚取得一定的影响,二十世纪初期,酱油的生产工艺由日本传入欧洲各国。近年来,随着人们对酱油的深入研究,发现酱油内含有的多种物质,具有降血压、抗氧化、抗肿瘤等功效。酱油的滋味以鲜味为主,其中游离氨基酸及小分子肽类是构成酱油鲜味的主体物质。结合现代酱油科技的发展,鲜味肽的研究与应用是未来酱油发展的重点指标。

## 2. 呈味肽简介

呈味肽是指分子量不超过 5000 Da 的一类小分子化合物,在一定浓度下具有明显呈味特性的肽类物质,可由食品中提取或化学固相合成,被分为风味前体肽和特征滋味肽[6]。研究表明,特定的氨基酸表现出特定的风味趋势,但呈味肽与其等比混合物的风味效果并不相同,这表明呈味肽的风味特征还取决于其一级结构和氨基酸序列[7] [8]。学者们在多种食物中都证明了呈味肽的存在,包括肉类、水果和蔬菜等,且呈味肽不仅存在于天然食品原料中,也大量存在于加工的食品中。食物中呈味肽的风味影响着食物的总体味道。研究表明,呈味肽的呈味特性因氨基酸组成、氨基酸序列、肽链长度以及空间结构的差异而呈现不同的效果[9]。

酱油肽与酱油的生产流程息息相关,呈鲜味的肽存在于酱油中,且对酱油的总体味道起一定作用。呈味肽根据呈味效果不同可分为呈鲜味肽、呈甜味肽、呈苦味肽、呈酸味肽和呈咸味肽[10]。

### 1) 呈鲜味肽

鲜味肽(也称风味增强肽)是一类能够弥补或强化食品原有风味的肽,它可以改善食品品质,提高味觉感知度,增进消费者的食欲。据报道,在鲜味肽中经常含有天冬氨酸(Asp)和谷氨酸(Glu)这两种氨基酸[10]。鲜味肽一般由植物蛋白和动物蛋白酶解或发酵得到[11]。鲜味肽概念的诞生,源于美味肽的提出。美味肽是木瓜蛋白酶水解牛肉后在牛肉酶解产物中分离获得的肽段,随着美味肽的提出,国内外对鲜味肽进行了大量研究。苏国万[12]等根据分子量大小分别采用超滤和凝胶层析技术从酱油中分离纯化得到较强鲜味的肽类物质,然后采用对其进行结构鉴定,其中四条二肽分别为 Asn-Pro、Ala-His、Gly-Leu 和 Gly-Pro。刘倩[13]采用 UHPLC-MS/MS 技术对葡聚糖凝胶层析分离后鲜味最突出的有效组分进行分离和序列鉴定,共检测出 6 种鲜味肽段,氨基酸序列为 Pro-Glu-His-Ala、Glu-Asp-Leu-Leu、Asp-Met-Glu-Pro、Asp-Arg-Gly-Val-Val、Asp-Tyr-Phe-Leu 和 Gly-Glu-Leu-Pro-Arg。Kuroda [14]等发现一种  $\gamma$ -谷氨酰基三肽,结构为  $\gamma$ -Glu-Val-Gly,与 GSH 相似,只有一种氨基酸不同,但其鲜味是 GSH 的 12.8 倍。

### 2) 呈甜味肽

甜味肽的甜味本质上并不是来自于肽骨架也不是来自于其侧链基团,而是取决于其形状和表面带电组分。目前学者对甜味肽的研究主要集中在肽的衍生物上,如二肽衍生物阿斯巴甜与阿力甜等,阿斯巴甜是由天冬氨酸和苯丙氨酸合成的一种甜味肽,其甜度约为蔗糖的 150 倍[15]。其中阿斯巴甜中的天冬氨酸不可被替代,苯丙氨酸可被疏水性氨基酸替代仍保持甜味[16]。这些具有甜味的肽衍生物有两大特性,包括高的甜度和低的热量,是具有良好的潜力新型功能性食品添加剂[17][18],且这些肽已经广泛应用于各种食品中[19]。

### 3) 呈苦味肽

呈现苦味的肽常见于发酵食品、酶解食品中。肽的苦味效果受到肽侧链末端的疏水性氨基酸残基的影响,如 Leu、Arg、Pro 和 Phe 等氨基酸,肽侧链末端疏水残基是人体苦味受体结合的位点,同时,氨基酸的序列对肽的苦味也起着重要的作用。研究表明,疏水氨基酸残基在肽链的 C-端,亲水性氨基酸残基在肽链的 N-端时则会产生苦味[20]。

一般情况下,人们无法接受苦味,所以在食品中,有时需要尽量降低呈味肽的苦味,从而扩大其在食品中的应用,提高可接受度。Upadhyaya [21]与 Pripp [22]等探索发现某些二肽和三肽(Phe-Phe-Phe)能和血压调节蛋白血管紧张素转化酶(ACE)共同作用在同一靶受体上面,能竞争性抑制血管紧张素转化酶的作用,具有抗高血压的作用。

### 4) 呈酸味肽

目前对酸味肽的研究较少,其主要有  $\gamma$ -谷氨酰肽如 Glu- $\gamma$ -Gly、Glu- $\gamma$ -Ala、Glu- $\gamma$ -Glu 等,酸味肽中的氨基酸残基电离出的氢离子通过 TRP 离子通道进入味蕾细胞,从而使肽具有酸味[15]。目前的研究表明酸味肽多含有天冬氨酸或谷氨酸,因为它们可以水解生成多于氢氧根负离子的氢正离子,呈现出较强的酸味,因此肽的酸味往往与鲜味有关,因此研究者们经常会将酸味肽当做是鲜味肽的一部分,如 Gly-Asp-Ala-Glu 和 Glu-Leu 等肽,它们同时具备酸味和鲜味的特性。Okumura T 等[23]学者从猪肉中分离得到 3 种酸味肽,它们分别为: APPPAEVHEVV、APPPPAEVHEVVE 和 APPPPAEVHEVHEEHV,研究表明这三种酸味肽可以提升鲜味和咸味。

### 5) 呈咸味肽

咸味是离子(阳离子)与味蕾细胞相互作用的结果,其中被研究出来的咸味肽的数量和性质相对较少,大多数都是二肽类的咸味肽。咸味肽的发现在功能性食品的开发上更具深远意义,因为咸味肽的开发利用显著改善糖尿病、高血压患者等病人的饮食,所以咸味肽具有潜在的价值和意义。Xiaolin Zhu 等学者[24]通过对无盐酱油的研究发现 3 种肽(Ala-Phe、Phe-Ile、Ile-Phe),这三种肽不仅仅呈现咸味,且其中的

两种肽(Ala-Phe 和 Ile-Phe)能有效抑制血管紧张素转化酶的活性, 具有抗高血压的作用。

### 3. 鲜味肽的分离纯化

从复杂食品中提取单一纯化肽是历年来科学家共同努力的方向。分离纯化呈味肽的定性分析方法一般情况下会涉及到的技术包括大孔树脂层析、超滤、凝胶过滤色谱、反相高效液相色谱和超高效液相等[10]。

#### 3.1. 膜分离技术

膜分离技术主要是利用天然或人工合成的高分子薄膜, 以外界能量或化学位差为推动力对液液、气气、液固、气固等体系中的不同组分进行分离、纯化、富集的一项新技术。膜分离技术采用无相变的高效、节能的膜材料, 在调味品加工中可用于成分提取和物质澄清等, 相应的研究和应用越来越多。董玲燕[25]以酱油渣为原料, 利用溶剂萃取法提取大豆异黄酮后, 采用 20 kDa 超滤膜进行分离纯化, 除色效果较佳。赵谋明等[26]通过超滤膜分离马氏珍珠贝肉蛋白酶解液, 发现超滤可高效地分离并富集目标鲜味肽; 李莹等[27]对三种水产品的酶解液进行超滤分离出四种鲜味肽组分, 将其分别进行美拉德反应, 发现相对分子量为 2500~5000 Da 的鲜味肽美拉德反应产物鲜味浓郁, 无苦腥味。

膜分离技术虽然在食品工业中有了一定程度的应用, 但作为一门相对较新的技术, 其仍有一些亟待解决的关键问题, 在膜的选择性上, 需要开发出功能高分子膜材料和无机膜材料; 在膜渗透的抗污染性和膜过程强化上, 还存在着膜通量的稳定性不高和产值比的问题。此外, 膜分离技术还较为普遍地存在着膜孔易堵塞、膜表面黏性附层等膜污染问题, 如何有效地降低膜污染和延长膜寿命, 还需要针对性地进行研究[28]。

#### 3.2. 凝胶过滤色谱

凝胶过滤色谱法是以多孔凝胶为支持物, 利用分子筛原理进行分离的方法, 也是目前研究中常用的层析方法之一。凝胶层析被广泛用于脱盐、蛋白质分离纯化和相对分子质量的测定等方面, 在鱼蛋白酶解产物的分离方面也有应用。胡二坤等[29]研究了凝胶过滤色谱分离纯化鱼蛋白酶解产物, 选择 G-15 葡聚糖凝胶作为柱材料分离纯化鱼蛋白水解产物, 通过改变凝胶层析色谱的上样浓度和洗脱速度, 确定 G-15 葡聚糖凝胶层析分离纯化鱼蛋白水解产物的最优条件为: 上样质量浓度 100 mg/mL, 上样体积 2 mL, 蒸馏水洗脱, 洗脱速度 2.0 mL/min。王蓓等[30]选取了凝胶柱 Sephadex G-15 预分离乳蛋白酶解产物, 然后他们再结合反相高效液相色谱方法对样品进一步分离, 获得具有较强浓厚感(kokumi)的呈味肽。

#### 3.3. 大孔树脂分离

大孔吸附树脂法是一种根据吸附剂表面极性不同, 并基于氢键、范德华力等分子间作用力, 对样品进行选择性地吸附分离的方法, 具有吸附迅速、解吸容易、选择性强、回收率高、吸附容量大、再生处理方便、稳定性高、成本低等优点, 广泛应用于食品、化工、医药领域特定组分的分离纯化[2]。吕凯波等[31]以红花籽粕为原料, 比较不同工艺下酶解籽粕后得到多肽的抗氧化性, 研究大孔树脂分离工艺, 结果显示 AB-8 分离后样品比之前酶解样品抗氧化性增强。崔婷婷等[32]取海蜇酶解产物作为研究对象, 选用 HP20SS、SP20SS、SP207 三种不同型号的大孔吸附树脂分离纯化海蜇 ACE 抑制肽, 以 ACE 抑制率为评价指标, 对其分离纯化海蜇 ACE 抑制肽的工艺进行研究, 结果表明 HP20SS 型大孔吸附树脂对海蜇 ACE 抑制肽具有良好的富集作用和解吸效果。李彩霞等[33]通过静态吸附特性研究, 以吸附量和解吸量为指标, 从 6 种不同型号的树脂中筛选出对大果白刺花青素选择性好的树脂, 然后考察各种工艺参数对树脂吸附及洗脱的影响, 结果表明, DM21D 型大孔树脂对大果白刺花青素具有良好的吸附与解析性能, 适用于大果白刺花青素的纯化。



### 3.4. 离子交换色谱

离子交换色谱指的是溶质分子与离子交换剂在移动相和固定相间产生可逆交换作用最终得到分离的方法。在肽类的分离纯化中，一般选用 SP-Sephadex C-25 进行分离，因为它颗粒较细、且带有较强的功能基团磺丙基(SP-)，利于分子量小且电荷强度相对较弱的肽类物质的吸附。钟芳等[34]采用 SP-Sephadex C-25 对预处理后的大豆肽组分进一步分离纯化，得到 3 个具有降血压活性的组分。Kim 等[35]也采用了 SP-Sephadex C-25 对从阿拉斯加鳕鱼皮水解物中分离得到的抗氧化肽进行分离纯化后，随后采用高效液相色谱进行分析检测，发现在两个抗氧化肽的 C 端有重复的序列 Gly-Pro-Hyp。

### 3.5. 高效液相色谱

高效液相色谱法即 HPLC，又称“高压液相色谱”、“高速液相色谱”、“高分离度液相色谱”、“近代柱色谱”等。高效液相色谱是色谱法的一个重要分支，以液体为流动相，采用高压输液系统，将具有不同极性的单一溶剂或不同比例的混合溶剂、缓冲液等流动相泵入装有固定相的色谱柱，在柱内各成分被分离后，进入检测器进行检测，从而实现对试样的分析。该方法已成为化学、医学、工业、农学、商检和法检等学科领域中重要的分离分析技术应用。高效液相色谱已经成为快速分离蛋白、肽类物质的强有力手段。目前，随着科研工作者的不断努力，对反相高效液相色谱法(RP-HPLC)的应用研究也取得了很大的进步和成果。Schlichtherle-Cerny 等[26]采用 RP-HPLC 色谱从小麦蛋白酶解液中分离纯化得到多条鲜味肽；彭皖皖[36]利用凝胶过滤色谱和 RP-HPLC 色谱等技术联用，从小麦蛋白酶解液中分离纯化得到一条鲜味肽。

## 4. 鲜味肽的鉴定检测

### 4.1. 质谱法

质谱法(MS)是检测蛋白质组学和代谢组学细微变化的高效平台，它可以分析和鉴定复杂混合物中的数千种蛋白质。MS 的核心部分为质谱仪。质谱仪由三部分组成：离子源，质量分析器和检测器，质谱仪能在不使用任何抗体的情况下同时鉴定和定量多种蛋白质，如测定蛋白质的分子量、氨基酸序列、多肽或二硫键的数量及位置等，质谱仪可以用来测量蛋白质的分子量，首先通过电离源将蛋白质分子转化为离子，在加速电场的作用下，这些离子形成离子束被输送到质量分析器中，通过质量分析器的电磁场作用，促使这些离子聚焦形成质谱图，从而实现确定蛋白质分子质量的目的。MS 可用于定性分析，也可用被检化合物的稳定性同位素异构物作为内标进行定量分析[37]。刘辉等[38]通过 LC-MS/MS 测定前期分离提纯的抗氧化肽 SHP-1 分子质量为 741.41 Da。LC-MS/MS 对抗氧化肽 SHP-1 二级质谱图解谱以及大豆蛋白数据库比对，抗氧化肽 SHP-1 氨基酸序列为 IPPGVPPY。

### 4.2. 核磁共振技术

核磁共振(NMR)是指核磁矩不为零的原子核，在外磁场的作用下，吸收射频辐射而产生能级跃迁的谱学技术。可用于鉴定蛋白质、核酸以及其它分子的结构，具有不破坏样品、所需样品量小、一般不需前处理、提供结构信息丰富等优势，广泛用于有机小分子的平面结构、相对构型以及绝对构型的鉴定[39]。周志明[40]用 NMR 方法选择性检测了蛋白质的支链  $\text{NH}_2$  信号。姚雪军[41]认为蛋白质 - 配体相互作用研究在理解生物功能中有重要意义，核磁共振非常适合研究蛋白质 - 配体相互作用。

## 5. 结论与展望

酱油独特的滋味主要来源于其中游离氨基酸、小分子肽等呈味物质。为了明晰酱油中所含的物质，

学者们纷纷对酱油中的小分子物质进行了研究,与此同时,对酱油中的小分子物质也争议不断。近年来,随着对酱油的深入研究,人们发现鲜味肽对预防慢性疾病起着极为重要的作用,这是因为鲜味肽可以成为慢性疾病病人的良好食品调料,特别是对患有高血压症状的病人、糖尿病病人以及肥胖等病人而言,低钠、低糖食品对他们来说对控制病情是显著的,因此对鲜味肽的研究有着潜在的利用价值。

由于鲜味肽的结构、含量、强度难以进行具体描述,且缺乏相关行业或国家标准,在鲜味肽的进一步研究上可以开发一些新的鲜味肽定性、定量鉴定检测方法。各种来源与加工工艺的差异,鲜味肽的形成机理不同,鲜味物质之间协同作用的机理不同,可以进一步研究鲜味肽与酱油食品体系中其他物质的协同作用及呈鲜机理、影响因素等[42]。

## 基金项目

安徽省科技重大专项(202003b06020013),佛山市科技创新专项资金(2015IT100015)。

## 参考文献

- [1] 宋健华. 中国人发明的调料——酱油[J]. 食品与生活, 2013(1): 44-45.
- [2] 赵炫. 酱油鲜味肽的分离鉴定及其定向酶解制备研究[D]: [硕士学位论文]. 广州: 华南理工大学, 2019.
- [3] 陈嘉辉. 酱油中呈味肽的分离鉴定及呈味特性的对比分析[D]: [硕士学位论文]. 广州: 华南理工大学, 2018.
- [4] 张梅秀, 王锡昌, 刘源. 食品中的呈味肽及其呈味机理研究进展[J]. 食品科学, 2012, 33(7): 320-326.
- [5] 包启安. 酱油科学与酿造技术[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2011.
- [6] 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.
- [7] 林桐, 赵吉春, 雷小娟, 等. 食用菌呈味肽制备及其呈味机理研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(19): 313-319.
- [8] 李润, 杨焱, 刘晓风, 等. 食用菌风味影响因素及其评价研究进展[J]. 食用菌学报, 2020, 27(4): 202-214.
- [9] 苗晓丹, 刘源, 仇春泱, 等. 呈味肽构效关系研究进展[J]. 食品工业科技, 2014(6): 357-362.
- [10] 庄明珠. 酱油鲜味肽的分离纯化鉴定及呈味特性研究[D]: [硕士学位论文]. 广州: 华南理工大学, 2019.
- [11] Lioe, H.N., Takara, K. and Yasuda, M. (2006) Evaluation of Peptide Contribution to the Intenseumami Taste of Japanese Soy Sauces. *Journal of Food Science*, **71**, 277-283. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.tb15654.x>
- [12] 苏国万, 赵炫, 张佳男, 等. 酱油中鲜味二肽的分离鉴定及其呈味特性研究[J]. 现代食品科技, 2019, 35(5): 7-15.
- [13] 刘倩. 毛霉蛋白酶水解制备大豆鲜味肽的研究[D]: [硕士学位论文]. 广州: 华南理工大学, 2021.
- [14] Kuroda, M., et al. (2013) Determination and Quantification of the Kokumi Peptide,  $\gamma$ -Glutamyl-valyl-glycine, in Commercial Soy Sauces. *Food Chemistry*, **141**, 823-828. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.03.070>
- [15] 张波. 呈味肽研究技术进展[J]. 现代食品, 2020, 2(4): 61-63.
- [16] 刘希, 侯莎. 呈味肽的分类及呈味效果定量评价方法综述[J]. 食品安全导刊, 2022(31): 141-145.
- [17] Xue, W.-F., Szupeankiewicz, O., Thulin, E., et al. (2009) Role of Protein Surface Charge Inmonellin Sweetness. *Biochimica et Biophysica Acta-Proteins and Proteomics*, **1794**, 410-420. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.03.070>
- [18] Assadi-Porter, F.M., Maillet, E.L., Radek, J.T., et al. (2010) Key Amino Acid Residues Involved in Multi-Point Binding Interactions between Brazzein, a Sweet Protein, and the T1R2-T1R3 Human Sweet Receptor. *Journal of Molecular Biology*, **398**, 584-599. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2010.03.017>
- [19] Zygler, A., Wasik, A. and Namiesnik, J. (2010) Retention Behavior of Some High-Intensity Sweeteners on Different SPE Sorbents. *Talanta*, **82**, 1742-1748. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2010.07.070>
- [20] Gomez, M.J., Garde, S., Gaya, P., et al. (1997) Relationship between Level of Hydrophobic Peptides and Bitterness in Cheese Made from Pasteurized and Raw Milk. *Journal of Dairy Research*, **64**, 289-297. <https://doi.org/10.1017/S0022029996002129>
- [21] Upadhyaya, J., Pydi, S.P., Singh, N., et al. (2010) Bitter Taste Receptor T2R1 Is Activated by Dipeptides and Tripeptides. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **398**, 331-335. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2010.06.097>

- [22] Pripp, A.H. and Ardo, Y. (2007) Modelling Relationship between Angiotensin-(I)-Converting Enzyme Inhibition and the Bitter Taste of Peptides. *Food Chemistry*, **102**, 880-888. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.06.026>
- [23] Okumura, T., Yamada, R. and Nishimura, T. (2004) Sourness-Suppressing Peptides in Cooked Porkloins. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, **68**, 1657-1662. <https://doi.org/10.1271/bbb.68.1657>
- [24] Zhu, X.-L., Watanabe, K., Shiraishi, K., *et al.* (2008) Identification of ACE-Inhibitory Peptides in Salt-Free Soy Sauce That Are Transportable across Caco-2 Cell Monolayers. *Peptides*, **29**, 338-344. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2007.11.006>
- [25] 董玲燕. 酱油渣中大豆异黄酮的分离与纯化[D]: [硕士学位论文]. 广州: 华南理工大学, 2012.
- [26] 赵谋明, 肖如武, 崔春, 等. 超滤对马氏珍珠贝肉蛋白酶解液特性的影响[J]. 华南理工大学学报(自然科学版), 2009, 37(10): 124-128.
- [27] 李莹, 黄开红, 周剑忠, 等. 水产蛋白酶解制备鲜味肽[J]. 食品科学, 2012, 33(13): 248-253.
- [28] 罗世龙, 张中, 韩坤坤, 等. 膜分离技术在食品工业中的应用研究进展[J]. 安徽农业科学, 2021, 49(6): 43-45.
- [29] 胡二坤, 郭兴凤, 郑慧. 凝胶过滤色谱分离纯化鱼蛋白酶解产物[J]. 食品工业, 2020, 41(12): 240-243.
- [30] 王蓓, 许时婴. 乳蛋白酶解产物呈味肽序列的研究[J]. 食品科学, 2010, 31(7): 140-145.
- [31] 吕凯波, 龚乃超. 大孔树脂分离红花籽粕酶解产物制备抗氧化肽的工艺研究[J]. 食品研究与开发, 2021, 42(6): 90-95.
- [32] 崔婷婷, 贾爱荣, 张绵松, 等. 大孔吸附树脂分离纯化海蜇 ACE 抑制肽的工艺研究[J]. 食品工业科技, 2022, 43(10): 216-222.
- [33] 李彩霞, 罗佳佳, 冯海生, 等. 大孔树脂对大果白刺花青素的分离纯化研究[J]. 青海科技, 2021, 28(5): 72-76.
- [34] 钟芳, 张晓梅, 麻建国. 大豆肽的离子交换色谱分离及其活性评价[J]. 食品与机械, 2006, 22(5): 16-19.
- [35] Kim, S.K., Kim, Y.T., Byun, H.G., *et al.* (2001) Isolation and Characterization of Antioxidative Peptides from Gelatin Hydrolysate of Alaska Pollack Skin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **49**, 1984-1989. <https://doi.org/10.1021/jf000494j>
- [36] 彭皖皖, 崔春, 赵谋明. 豆豉中鲜味组分的分离与鉴定[J]. 食品工业科技, 2012, 33(23): 129-131, 135.
- [37] 周怡孜, 姜文国. 蛋白质翻译后修饰的质谱鉴定方法和在精准医学研究中的应用[J]. 滨州医学院学报, 2021, 44(1): 76-80.
- [38] 刘辉, 张会生, 童火艳, 等. 酶解大豆蛋白抗氧化肽的分离纯化与鉴定[J]. 食品科学, 2022, 43(20): 191-197.
- [39] 郁林羲, 邢爱敏. 核磁共振技术在有机小分子结构鉴定中的应用[J]. 药物生物技术, 2021, 28(6): 648-654.
- [40] 周志明. 用 NMR 方法选择性检测蛋白质的支链 NH<sub>2</sub> 信号[D]: [硕士学位论文]. 武汉: 华中科技大学, 2005.
- [41] 姚雪军. 蛋白质中氢键以及蛋白质复合物界面检测的核磁共振方法研究[D]: [硕士学位论文]. 上海: 华东师范大学, 2008.
- [42] 贾蓉, 何颖, 王桂瑛, 等. 食品中鲜味肽的研究进展[J]. 肉类研究, 2022, 36(4): 65-71.