

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20250407003

引用格式: 陶磊, 吴谦诚, 胡逸鹏, 等. 超声辅助酶解对鱿鱼内脏感官特性与代谢组学的影响[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(12): 175–183.

TAO L, WU QC, HU YP, et al. Effects of ultrasound-assisted enzymatic hydrolysis on sensory characteristics and metabolomic profiles in *Dosidicus gigas* viscera [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(12): 175–183. (in Chinese with English abstract).

# 超声辅助酶解对鱿鱼内脏感官特性与代谢组学的影响

陶磊<sup>1</sup>, 吴谦诚<sup>2</sup>, 胡逸鹏<sup>1</sup>, 周先媛<sup>2</sup>, 孙迪<sup>2</sup>, 刘宇<sup>2</sup>, 余中节<sup>2\*</sup>, 姜维<sup>1,2\*</sup>

(1. 浙江海洋大学食品与药学学院, 舟山 316022;

2. 浙江海洋大学国家海洋设施养殖工程技术研究中心, 舟山 316022)

**摘要:** **目的** 探讨超声辅助酶解对鱿鱼内脏感官特性及代谢组学的影响。**方法** 实验设置自身酶解组(B)、外源性酶解组(C)及超声辅助外源性酶解组(U), 通过感官评定、氨基酸态氮含量测定和非靶向代谢组学分析, 系统比较不同酶解方式对鱿鱼内脏蛋白质的转化效果。**结果** 超声预处理显著提高了酶解效率, 酶解液鲜味评分和氨基酸态氮含量[(0.12±0.00) g/100 mL]均优于外源性酶解组(C)。非靶向代谢组学显示, 超声辅助外源性酶解组(U)与自身酶解组(B)的代谢物差异显著, 且差异代谢物数量多于常规外源性酶解组(C)。差异代谢物主要富集在植物次级代谢物生物合成和ABC转运蛋白等通路中, 表明超声预处理通过改变蛋白质结构和代谢网络, 显著提升了酶解效率。**结论** 超声辅助酶解可有效改善鱿鱼内脏感官特性, 促进蛋白质降解及代谢产物生成, 提升鱿鱼内脏的高值化利用和工业化生产的效率, 为水产副产物加工利用提供了理论支持与工艺优化方向。

**关键词:** 超声预处理; 酶解; 鱿鱼内脏; 代谢

## Effects of ultrasound-assisted enzymatic hydrolysis on sensory characteristics and metabolomic profiles in *Dosidicus gigas* viscera

TAO Lei<sup>1</sup>, WU Qian-Cheng<sup>2</sup>, HU Yi-Peng<sup>1</sup>, ZHOU Xian-Yuan<sup>2</sup>, SUN Di<sup>2</sup>,  
LIU Yu<sup>2</sup>, YU Zhong-Jie<sup>2\*</sup>, JIANG Wei<sup>1,2\*</sup>

(1. College of Food and Pharmacy, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316022, China;

2. National Engineering Research Center for Marine Aquaculture, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316022, China)

**ABSTRACT: Objective** To investigate the effects of ultrasound-assisted enzymatic hydrolysis on the sensory properties and metabolomics profiles of *Dosidicus gigas* viscera. **Methods** Three experimental groups were established: Autolytic

收稿日期: 2025-04-07

基金项目: 国家自然科学基金项目(32402034, 32402261); 大学生科技成果推广项目(2024R411B044); 定海区科技计划项目(2022C31007)

第一作者: 陶磊(1999—), 男, 硕士研究生, 主要研究方向为发酵水产品加工。E-mail: taolei00000@163.com

\*通信作者: 余中节(1990—), 男, 博士, 助理研究员, 主要研究方向为发酵水产品加工技术。E-mail: wayuzhongjie@163.com

姜维(1987—), 男, 博士, 研究员, 主要研究方向为食品加工与贮藏。E-mail: jiangw@zjou.edu.cn

group (B), exogenous enzymatic hydrolysis group (C) and ultrasound-assisted exogenous enzymatic hydrolysis group (U). Sensory evaluation, amino nitrogen content determination, and non-targeted metabolomics analysis were conducted to systematically compare the protein conversion efficiency under different hydrolysis strategies.

**Results** Ultrasonic pretreatment significantly improved hydrolysis efficiency. The umami score and amino nitrogen content [(0.12±0.00) g/100 mL] of the hydrolysate in the ultrasound-assisted group (U) surpassed those of the conventional exogenous enzymatic group (C). Non-targeted metabolomics showed that the metabolites in the ultrasound-assisted exogenous enzymatic hydrolysis group (U) and the self-enzymatic hydrolysis group (B) were significantly different, and the number of differential metabolites was greater than that in the conventional exogenous enzymatic hydrolysis group (C). Primarily enriched in pathways related to plant secondary metabolite biosynthesis and ABC transporters. These findings indicated that ultrasound pretreatment enhanced enzymatic efficiency by altering protein conformation and metabolic networks. **Conclusion** Ultrasound-assisted enzymatic hydrolysis effectively improves the sensory characteristics of *Dosidicus gigas* viscera, promotes protein degradation and metabolite production, and enhances the high-value utilization and industrial production efficiency of *Dosidicus gigas* by-products. This study provides theoretical support and technical guidance for optimizing the processing of aquatic by-products.

**KEY WORDS:** ultrasonic pretreatment; enzymatic hydrolysis; *Dosidicus gigas* viscera; metabolism

## 0 引言

鲑鱼加工过程中产生的大量内脏副产物富含优质蛋白质资源(蛋白质含量可达干重的 60%~75%, 且含有人体必需氨基酸)<sup>[1-2]</sup>, 然而由于这些副产物存在腥味物质、自溶酶活性高易腐败等特性, 当前利用率不足常导致资源浪费与环境污染问题<sup>[3-4]</sup>。酶解技术作为蛋白质资源高值化利用的有效手段<sup>[5-6]</sup>, 可通过特异性水解作用释放具有抗氧化、降血压等功能性肽段<sup>[7-10]</sup>, 但其酶解效率常受制于底物结构特性与酶解工艺参数<sup>[11]</sup>。近年来, 物理预处理技术(如超声波)因其可诱导蛋白质构象改变、提高酶解位点可及性而备受关注<sup>[12-15]</sup>, 但其协同酶解机制在海洋生物副产物处理中的应用仍需深入探讨。

本研究基于前期响应面优化确定的碱性蛋白酶最佳酶解参数<sup>[16]</sup>[加酶量 1.50%、液料比 4:1 (mL:g)、温度 45 °C、时间 5 h], 通过非靶向代谢组学系统比较不同酶促水解方式对鲑鱼内脏蛋白质的转化效果, 并通过建立自身酶解组(B)、外源性酶解组(C)及超声辅助外源性酶解组(U)的对比实验体系, 重点考察 900 W 间歇式超声处理对酶解过程的增效机制, 拟为水产加工副产物的绿色高效利用提供理论依据, 同时为工业化生产功能性蛋白肽原料开发新型预处理工艺技术提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

#### 1.1.1 样品来源

鲑鱼内脏(中国水产舟山海洋渔业有限公司)。

#### 1.1.2 试剂

碱性蛋白酶(分析纯, 南宁东恒华道生物科技有限责

任公司); 盐酸、氢氧化钠(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 甲醇(色谱纯, 上海安谱实验科技股份有限公司); 氯仿、吡啶(色谱纯, 上海阿达玛斯试剂有限公司); 甲氧铵盐(分析纯, 东京化成工业株式会社); 核糖醇(分析纯, 美国西格玛-奥德里奇公司); 双(三甲基硅基)三氟乙酰胺[bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide, BSTFA](分析纯, 瑞吉斯科科技公司); 饱和脂肪酸甲酯(分析纯, 埃伦斯托费尔博士公司)。

#### 1.1.3 仪器

HC-3018R 型冷冻离心机(安徽中科中佳科学仪器有限公司); DW-86L388 超低温冰箱(青岛海尔股份有限公司); SHZ-B 恒温振荡水浴锅(上海博迅实业有限公司医疗设备厂); EL204-IC 电子天平(精度 0.0001 g, 上海梅特勒-托利多仪器有限公司); HC-3018R 超声细胞破碎机(安徽中科大宗基亚科学仪器有限公司); DB-5MS 色谱柱(30 m×250 μm, 0.25 μm)、7890B 气相色谱仪(美国 Agilent 公司); PEGASUS HT 质谱仪(美国力可公司); JXFSTPRP-24 研磨仪(上海净信科技有限公司); 明澈 D24 UV 纯水仪(德国 Merck Millipore 公司); PS-60AL 超声仪(深圳市雷德邦电子有限公司); DHG-9023A 烘箱(上海一恒科学仪器有限公司); TNG-T98 真空干燥仪(太仓市华美生化仪器厂)。

## 1.2 实验方法

### 1.2.1 鲑鱼内脏酶解物的制备

鲑鱼内脏酶解物的制备采用 CAI 等<sup>[16]</sup>方法并修改。将鲑鱼内脏保存在-80 °C 冰箱中, 使用时在 4 °C 冰箱中冷藏解冻。将鲑鱼内脏打成匀浆, 采用 1 mol/L 浓度的盐酸溶液与氢氧化钠溶液进行 pH 调节, 调节至碱性蛋白酶的最适 pH 域后, 加入碱性蛋白酶, 置于恒温振荡水浴锅中进行

反应[前期响应面优化结果: 加酶量 1.50%, 液料比 4:1 (mL:g), 酶解温度 45 °C, 酶解时间 5 h]。之后灭酶 15 min(沸水浴), 冷却至室温后在 4 °C、5000 r/min 下离心 20 min, 收集上清液。

以不添加蛋白酶为自身酶解组(B)、添加碱性蛋白酶的为外源性酶解对照组(C)、超声(冰浴, 900 W, 超声 3 s, 间隔 2 s) 40 min 预处理并添加碱性蛋白酶为超声辅助外源性酶解组(U)。

### 1.2.2 感官评定

感官评价采用定量描述性分析法(quantitative descriptive analysis, QDA)<sup>[17]</sup>, 参考 GB/T 42463—2023《鱼露质量通则》的感官特性要求并修改, 设置打分制(5 分制), 详见表 1, 0 代表海产品中无该味道, 分值越高表明海产品中该味道的感觉越强烈。将酶解液的整体风味主要分为氨味、鲜味、腥味、色泽和状态。邀请 10 位志愿者参与感官评价(5 男 5 女, 年龄 20~35 岁)。

表 1 感官评分表  
Table 1 Table of sensory score

评价 指标	感官描述及分值				
	5	4	3	2	1
色泽	棕黄色, 无变质	棕黄色, 略暗沉, 无变质	深褐色, 无变质	深褐色, 略微变质	颜色变黑, 严重变质
状态	鲑鱼内脏状态松散, 上清浑浊	鲑鱼内脏状态略微松散, 上清浑浊	鲑鱼内脏状态略微松散, 上清略微浑浊	鲑鱼内脏状态较为紧密, 上清略微浑浊	鲑鱼内脏状态紧密, 上清澄清
腥味	有浓烈鱼腥味	有明显的鱼腥味	有鱼腥味	有轻微鱼腥味	无鱼腥味
氨味	有浓烈氨味	有明显的氨味	有氨味	有轻微氨味	无氨味
鲜味	有浓烈的鱼露鲜味	有明显的鱼露鲜味	有鱼露鲜味	有轻微鱼露鲜味	无鱼露鲜味

### 1.2.3 氨基酸态氮含量测定

准确吸取 5 mL 鲑鱼内脏酶解上清液, 根据酸度计法<sup>[18]</sup>测定。空白实验用 80 mL 蒸馏水滴定, 其余操作一致。

### 1.2.4 代谢组检测

取鲑鱼内脏酶解上清液(30±1) mg 于 2 mL 微量离心管中, 随后加入 0.24 mL 提取液(甲醇与水体积比为 3:1 的混合溶液)。将 10 μL 核糖醇溶液注入体系, 涡旋混匀操作持续 30 s。若干瓷珠粒投入管中, 研磨仪以 45 Hz 频率处理 4 min, 冰水浴条件下超声破碎持续 5 min。上清液经 4 °C 低温环境, 13000 r/min 转速离心 15 min。取 0.18 mL 上清液移入 2 mL 的进样瓶(进样瓶已进行甲烷硅基化处理)。实验样本中取 25 μL 混合形成质控样本。采用真空浓缩装置对提取物实施干燥处理, 随后向干燥完成的代谢产物中加入 30 μL 甲氧胺盐溶液(由甲氧胺盐酸盐配制而成, 溶解于吡啶介质中, 质量浓度达 20 mg/mL)。混合过程需轻轻操作, 继而置于恒温烘箱内进行孵育(温度设定 80 °C, 时长维持 30 min)。于每份样品中加入 50 μL BSTFA 溶液(含 1% 三甲基氯硅烷, *V:V*), 70 °C 条件下混合物持续加热 1.5 h 完成衍生化。降至室温后, 向混合体系中引入 5 μL 饱和脂肪酸甲酯标准溶液, 其中饱和脂肪酸甲酯标准品(C<sub>8</sub>~C<sub>16</sub> 组分质量浓度 1 mg/mL, C<sub>18</sub>~C<sub>24</sub> 组分质量浓度 0.5 mg/mL) 溶解于氯仿介质。检测顺序经随机化处理后实施上机分析。上机检测参数见表 2。

代谢物数据集被导入 SIMCA 多变量数据分析软件(v16.0.2)进行多变量统计分析和差异代谢物筛选。主成分分析(principal component analysis, PCA)用于降低数据的维度, 明确样本的变化模式。数据集中的异常值是根据 PCA

分数图中 95% 的置信区间确定。利用正交偏最小二乘法判别分析(orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA)的变量重要性投影(variable importance in projection, VIP)得分来确定变量的重要性, 并指出重要的代谢物。差异代谢物的确定采用以下标准: VIP>1 且  $P<0.05$ (通过 *t* 检验确定)。最后, 利用京都基因和基因组百科全书(kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)和 MetaboAnalyst (<http://www.metaboanalyst.ca/>)对这些差异代谢物进行通路富集分析。

表 2 气相色谱-飞行时间质谱仪的具体分析条件  
Table 2 Specific analysis conditions of gas chromatography-time-of-flight mass spectrometer

项目	参数
进样量/μL	1
分流模式	不分流
隔垫吹扫流速/(mL/min)	3
载气	氦气
色谱柱	DB-5MS (30 m×250 μm, 0.25 μm)
柱流速/(mL/min)	1
柱箱升温程序	50 °C 保持 1 min, 以 10 °C/min 的速率升温至 310 °C, 保持 8 min
前进样口温度/°C	280
传输线温度/°C	280
离子源温度/°C	250
电离电压/eV	-70
质量范围( <i>m/z</i> )	50~500
扫描速率/(spectra/s)	20
溶剂延迟/min	6.27

### 1.3 数据处理

每组实验重复测定 3 次。使用 IBM SPSS Statistics 27 对实验数据进行单因素方差分析, 采用两两比较采用最小显著性差异 (least significant difference test, LSD) 检验,  $P < 0.05$  为显著性。对所有数据进行分析, 以确保解释的一致性和可靠性。通过 LECO 公司开发的 ChromaTOF 软件 (版本号 4.3x) 对质谱数据处理, 涉及峰提取操作、基线校正过程、解卷积运算以及峰对齐分析等多个环节。在物质定性方面, 采用 LECO-Fiehn Rtx5 数据库系统, 包含质谱与保留时间指数匹配。采用 Origin 2019b 软件、<https://www.chiplot.online/> 绘图, 结果以平均值  $\pm$  标准偏差表示。

## 2 结果与分析

### 2.1 感官评定分析

鱿鱼内脏酶解后可提高其附加值, 例如董志俭等<sup>[19]</sup>利用鱿鱼内脏酶解液制备鱿鱼味香精; 张慧芳等<sup>[20]</sup>利用鱿鱼内脏水解液美拉德反应优化后, 其氨基酸水平发生显著变化并影响了其风味。如图 1 所示, 鱿鱼内脏经碱性蛋白酶酶解后, 外源性酶解组比自身酶解组具有更高的鲜味, 组织状态更为细密, 腥味和氨味变化不大, 颜色不透亮, 碱性蛋白酶酶解对鱿鱼内脏具有显著影响。值得注意的是, 经超声 40 min 辅助外源性酶解组对比自身酶解组和外源性酶解组, 鲜味具有更大的提升且组织状态更加细腻, 颜色更深, 意味着对蛋白影响更大, 超声预处理辅助酶解对鱿鱼内脏的蛋白降解更为有效。

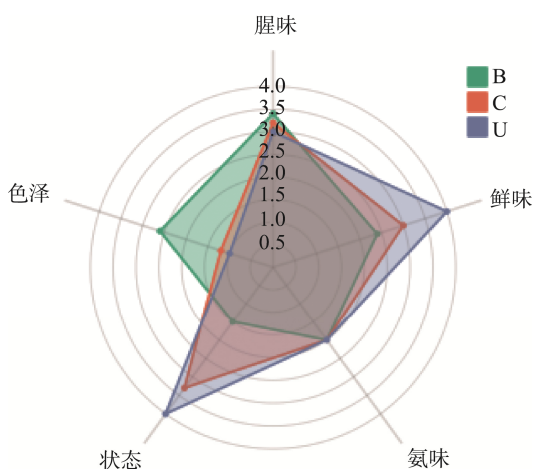


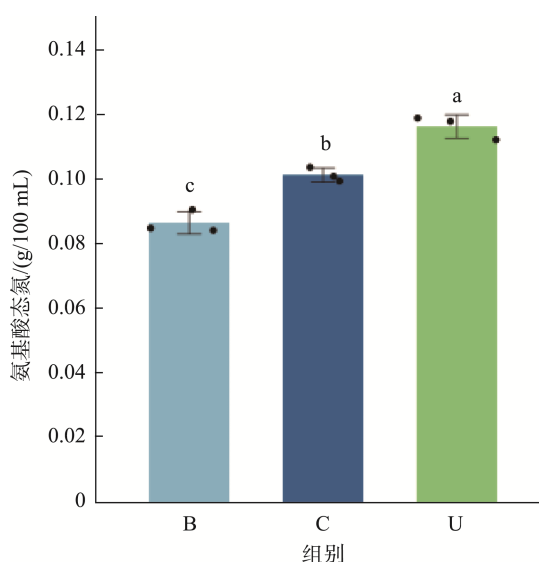
图 1 酶解液感官评价

Fig.1 Sensory evaluation of enzymolysis solution

### 2.2 氨基酸态氮含量分析

氨基酸态氮作为游离氨基酸的间接指示物, 与蛋白质降解和发酵风味均有关系<sup>[21]</sup>。如图 2 所示, 超声 40 min 辅助外源性酶解组具有更高的氨基酸态氮含量, 为

(0.12 $\pm$ 0.00) g/100 mL, 其次是外源性酶解组和自身酶解组, 分别为(0.10 $\pm$ 0.00) g/100 mL 和(0.09 $\pm$ 0.00) g/100 mL。超声预处理辅助酶解有助于降解鱿鱼内脏的蛋白质, 同时产生更多的氨基酸态氮, 提高了碱性蛋白酶的酶活性, 比只添加碱性蛋白酶的酶解效率更高。万婕等<sup>[22]</sup>研究了超声波技术辅助酶解鸡骨架, 发现超声破坏了蛋白的网络结构, 蛋白分子的活性位点被更多的暴露, 使得酶解过程中的活性肽段释放效率和鲜味得到提升。超声波技术辅助酶解还具有其他优势, 如方晓彤等<sup>[23]</sup>发现采用超声波辅助酶法处理百香果可以显著提升百香果出汁率及品质。刘超等<sup>[24]</sup>发现超声波-酶法协同制备梅花鹿鹿血肽, 可以明显提高运动后小鼠机体代谢活动, 增强其抗疲劳能力。



注: 不同小写字母表示具有显著性差异( $P < 0.05$ )。

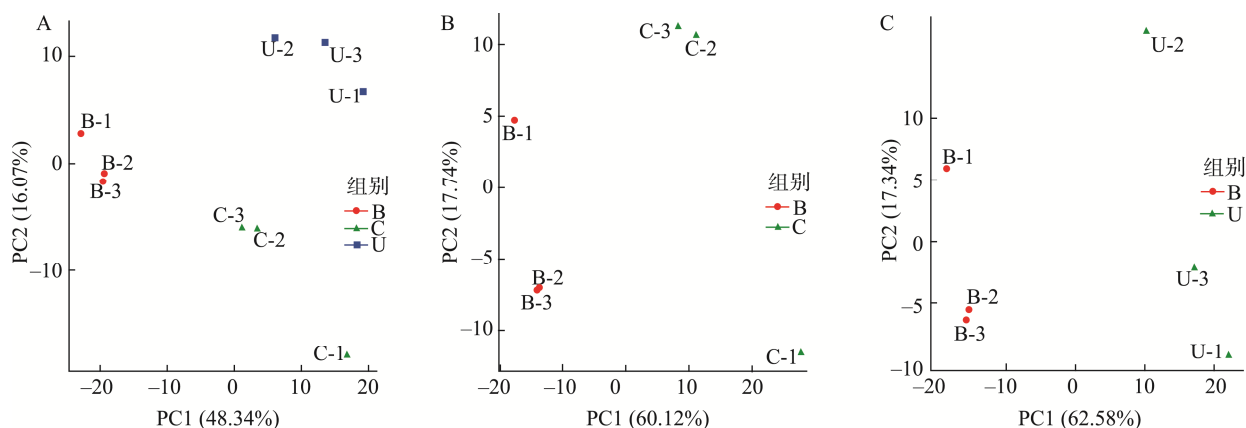
图 2 酶解液氨基酸态氮含量

Fig.2 Content of amino acid nitrogen in enzymolysis solution

### 2.3 酶解鱿鱼内脏非靶向代谢组学分析

#### 2.3.1 主成分分析

如图 3A 所示, 自身酶解组、外源性酶解组与超声辅助外源性酶解组明显区分, 代谢物具有显著差异。其中第一主成分(PC1)贡献率达 48.34%, 外源性酶解组、超声辅助外源性酶解组与自身酶解组距离较远, 具有显著差异。第二主成分(PC2)贡献率为 16.07%, 超声辅助外源性酶解组与其他两组差异更大。根据图 3B, 第一主成分贡献率为 60.12%, 自身酶解组与外源性酶解组距离较远, 代谢物具有较大差异。如图 3C 所示, 第一主成分贡献率为 62.58%, 自身酶解组与超声辅助外源性酶解组代谢物具有很大差异。添加外源酶解对水产品的代谢产物具有影响, 如曹实等<sup>[25]</sup>研究发现, 酶解大豆分离蛋白替代鱼粉对花鲈的脂肪代谢具有影响。超声波预处理工艺影响鱿鱼内脏的物质代谢, 如在发酵过程中, 王红梅等<sup>[26]</sup>研究发现, 超声波对发酵苹果汁和草莓汁过程中酚类等物质代谢具有影响。



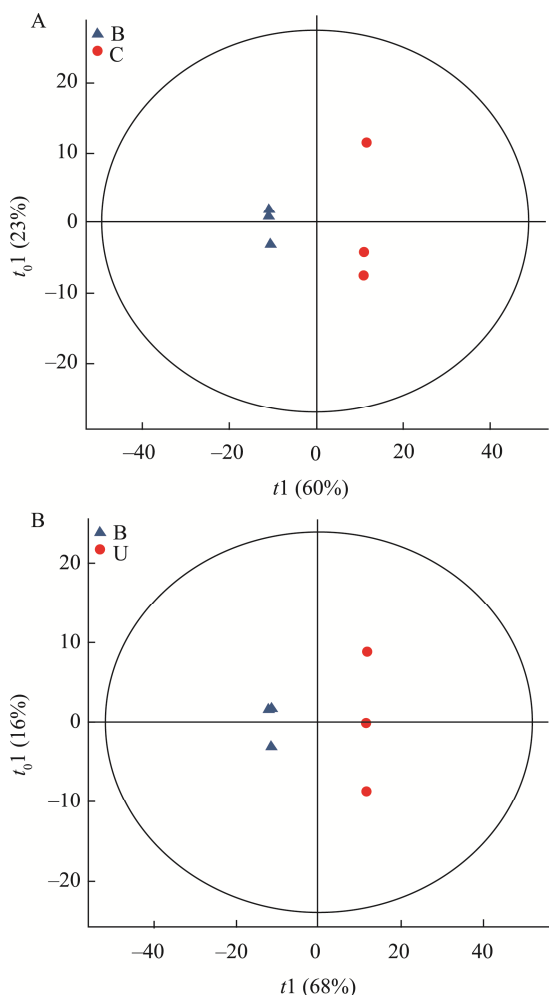
注: A. B vs C vs U; B. B vs C; C. B vs U。

图 3 酶解液的 PCA

Fig.3 PCA of enzymolysis solution

2.3.2 正交偏最小二乘法判别分析

OPLS-DA 代谢组学又称代谢物组学, 是研究机体代谢产物谱变化的一种新系统方法<sup>[27-28]</sup>。如图 4A 所示, 自



注: A. B vs C; B. B vs U。

图 4 酶解液的 OPLS-DA

Fig.4 OPLS-DA of enzymolysis solution

身酶解组与外源性酶解组间代谢物差异较大, 同时自身酶解组 3 个平行样本更为接近, 组内差异更小, 反之外源性酶解组具有更大的组内差异。根据图 4B, 超声辅助外源性酶解组与自身酶解组具有较大的组间差异, 且预处理酶解组代谢物组内差异明显。

2.4 差异代谢物分析

如图 5 所示, 3 组中共有的差异代谢物有 34 种, 其中超声辅助外源性酶解组和自身酶解组的差异代谢物数量明显多于外源性酶解组和自身酶解组, 分别为 25 种和 8 种, 表明在超声预处理 40 min 的作用下, 对鱿鱼内脏的降解效果更好, 产生了更多的代谢产物。

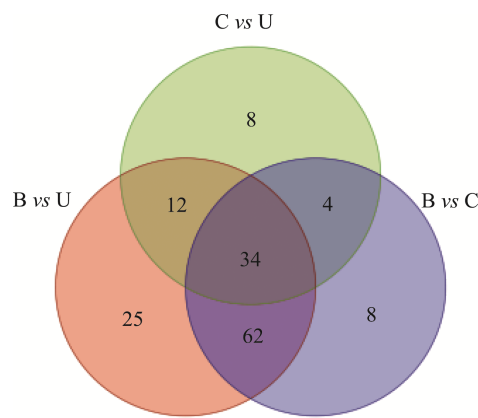
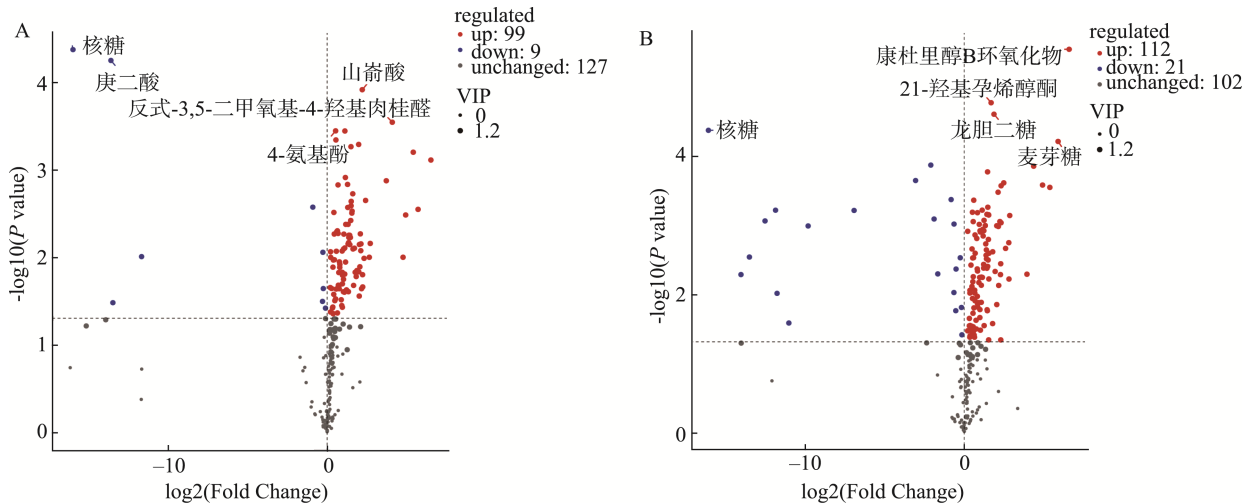


图 5 酶解液差异代谢物韦恩图

Fig.5 Venn diagram of differential metabolites in enzymolysis solution

有研究表明, 超声处理对咸鱼肌肉结构和小分子代谢物具有影响, 蛋白构象发生改变, 碳水化合物及其代谢物上调<sup>[29]</sup>。如图 6A 为自身酶解组与外源性酶解组的代谢物火山图, 大部分代谢物呈现显著上调(红色点, 99 个), 而少数代谢物显著下调(蓝色点, 9 个), 未显著变化的代谢物



注: A. B vs C; B. B vs U。regulated: 差异表达; up: 上调; down: 下调; unchanged: 未变化;  $P$  value:  $P$  值; Fold Change: 差异倍数。

图 6 酶解液差异代谢物火山图

Fig.6 Volcanic map of differential metabolites in enzymolysis solution

有 127 个(灰色点)。显著上调的代谢物有山萘酸、反式-3,5-二甲氧基-4-羟基肉桂醛和 4-氨基酚,可能与碱性蛋白酶的促进作用有关,醛类和酚类通常赋予食品清香、果香和特殊香气,而山萘酸等长链脂肪酸过量可能产生油脂氧化异味。显著下调的有核糖和庚二酸,说明添加碱性蛋白酶影响了该代谢产物的生成。图 6B 为自身酶解组与超声辅助外源性酶解组的代谢物,代谢物发生了显著变化,其中 112 个代谢物显著上调,21 个代谢物显著下调,102 个代谢物未显著变化,显著上调的代谢物数量远多于下调的代谢物。显著上调的代谢物包括:康杜里醇 B 环氧化物、麦芽糖、21-羟基孕烯醇酮和龙胆二糖(一种糖类)。鲑鱼内脏含有一定量的糖类物质,酶解后生成的麦芽糖等小分子糖可能增加甜味,同时参与美拉德反应,产生烘烤或焦香风味;康杜里醇 B 环氧化物和 21-羟基孕烯醇酮可能与鲑鱼内脏中的脂类代谢相关。显著下调的为核糖。VIP 较高的代谢物(如康杜里醇 B 环氧化物和麦芽糖)在模型中具有更高的重要性,可能是超声辅助外源性酶解鲑鱼内脏的关键代谢物。

聚类热图是一种展示聚类结果的常见表示方法<sup>[30]</sup>,通常将待分析的数据矩阵按数值大小映射成不同深浅的颜色色块,并按照行/列层次聚类结果进行排序展示。如图 7 所示,自身酶解组 3 个平行样品与外源性酶解组和超声辅助外源性酶解组差异显著,呈现大面积绿色,说明碱性蛋白酶确实对鲑鱼内脏蛋白降解产生的代谢产物有显著影响,显然添加碱性蛋白酶有助于更多代谢物的产生。聚类分析得到外源性酶解组与超声辅助外源性酶解组更为相似,但也存在部分代谢物的 Z 值差异,超声 40 min 预处理对鲑鱼内脏的降解具有影响。

不同代谢物之间具有协同或互斥关系,比如某类代谢物变化趋势相同,则为正相关;与某类代谢物变化趋势相反,则为负相关。如图 8A 所示,在自身酶解组与外源性

酶解组相关性分析中,核糖、庚二酸和 maleamate 与其他代谢物呈负相关,其他绝大部分代谢物之间呈显著正相关,说明自身酶解组与外源性酶解组的代谢物变化趋势相同,代谢通路具有相似性。在图 8B 中,康杜里醇 B 环氧化物、21-羟基孕烯醇酮和龙胆二糖与其他大部分代谢物呈正相关,这些代谢产物产生脂香和甜味,有助于复杂风味的形成。葡萄糖酸内酯与 N-乙酰-L-谷氨酸和其他大多数代谢物呈负相关,在自身酶解组和超声辅助外源性酶解组中,代谢物部分变化趋势相反,说明,在酶解处理鲑鱼内脏(特别是采用超声辅助外源性酶解的方式)时对鲑鱼蛋白的降解产生巨大影响。另外,有研究表明,超声波与酶联合处理枸杞全果还可以产生更多生物活性成分并提高抗氧化能力<sup>[31]</sup>。

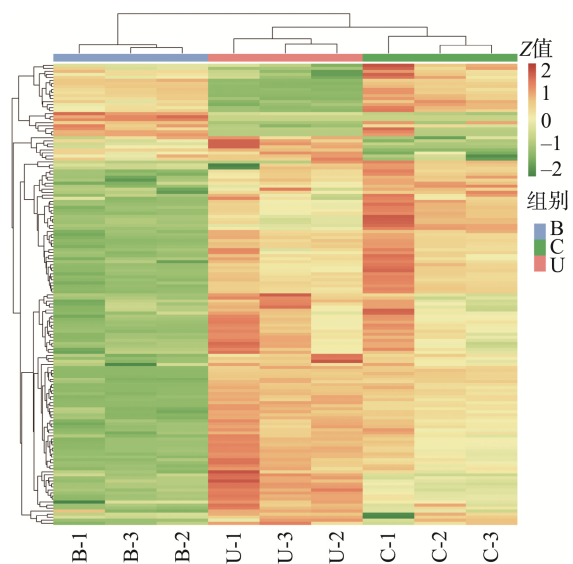
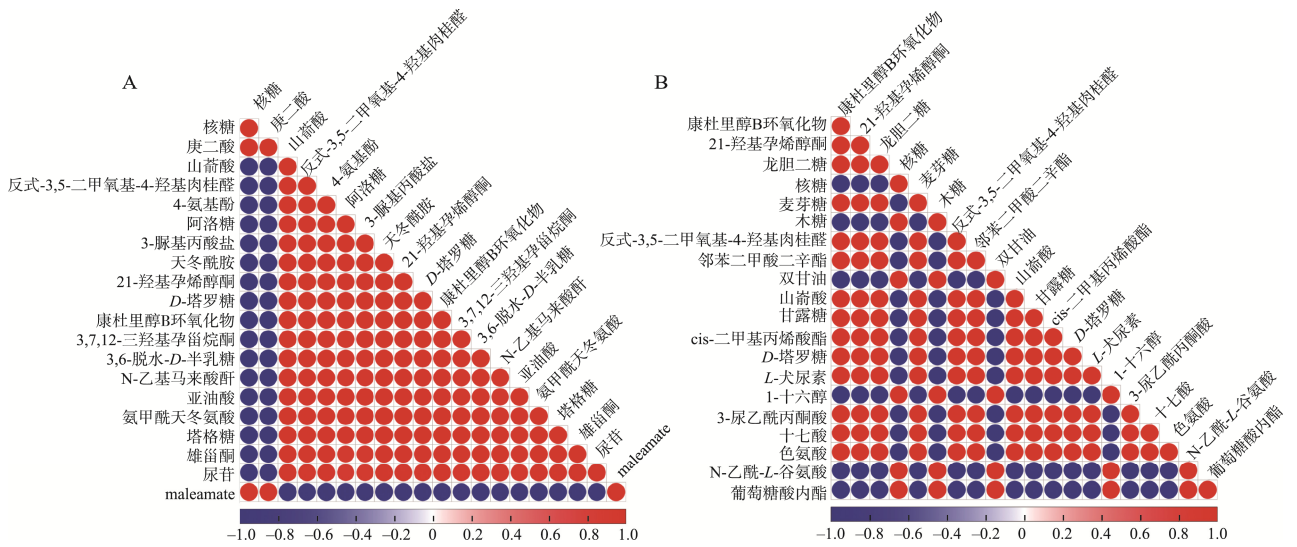


图 7 酶解液差异代谢物聚类热图

Fig.7 Cluster heat map of differential metabolites in enzymolysis solution



注: A. B vs C; B. B vs U。

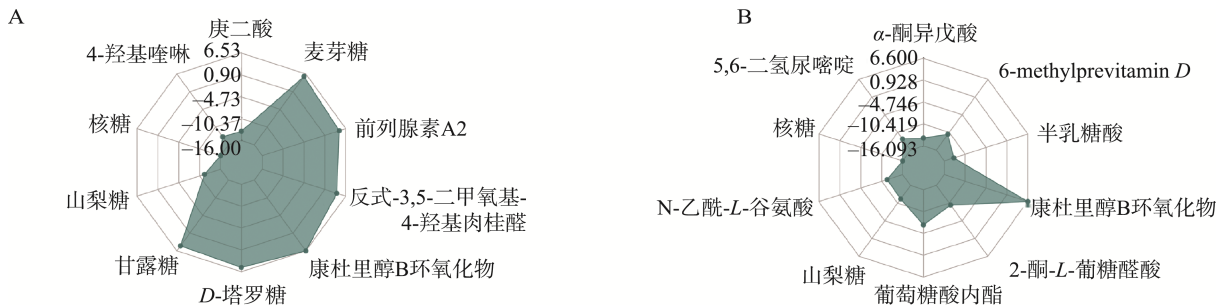
图 8 酶解液差异代谢物的相关性分析

Fig.8 Correlation analysis of differential metabolites in enzymolysis solution

对差异代谢物的定量值计算对应的比值, 挑选前 10 个代谢物进行绘制雷达图。如图 9A 所示, 为自身酶解组与外源性酶解组的代谢物雷达图, 麦芽糖在酶解条件下表达水平最高, 表明其在实验处理中可能起到了关键作用, 可为酶解物提供甜味。另外, 康杜里醇 B 环氧化物、反式-3,5-二甲氧基-4-羟基肉桂醛、前列腺素 A2、甘露糖、D-塔罗糖等代谢物在酶解条件下也表现出较高的表达水平, 提供脂香、木香和甜味。如图 9B 所示, 为自身酶解组与超声辅助外源性酶解组代谢物雷达图, 可知, 康杜里醇 B 环氧化物表达水平最高, 数值接近 6.60, 表明其在超声 40 min 辅助酶解处理中可能起到了关键作用, 可能反映了对代谢网络的调控作用。综合来看, 酶解处理鱿鱼内脏与自身酶解之间的差异代谢物种类和含量具有相似性, 但经超声辅助外源性酶解鱿鱼内脏后, 其代谢物的种类和含量都发生了较大变化, 康杜里醇 B 环氧化物变化明显, 为酶解物提供脂香, 但其具体作用需进一步研究。有研究表明, 超声对

酶的积极作用, 有利于代谢产物、聚合物产生<sup>[32]</sup>。

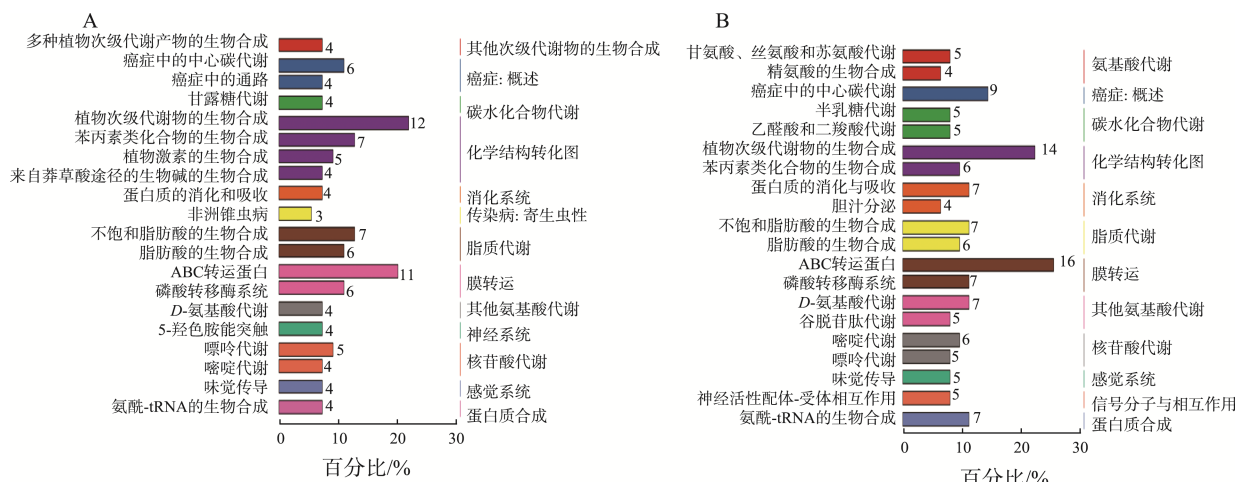
利用 KEGG 数据库对差异代谢物进行注释, 选取通路中注释到差异代谢物最多的 top 20 条目信息, 绘制汇总条形图见图 10。如图 10A 所示, 化学结构转化图中代谢通路有 4 条, 分别为植物次级代谢物的生物合成、苯丙素类化合物的生物合成、植物激素的生物合成和来自莽草酸途径的生物碱的生物合成。其中植物次级代谢物的生物合成代谢通路代谢物数量最多(12), 包括多种次级代谢物的合成, 如酚类化合物、生物碱等, 鱿鱼内脏酶解后产生大量小分子氨基酸(如苯丙氨酸、酪氨酸), 是酚类化合物的合成前体, 同时酶解过程可能通过渗透压变化影响酚类合成酶的表达。其次为膜转运中的 ABC 转运蛋白通路中的代谢物(11), 包括 ABC 转运蛋白在物质运输中的作用。在图 10B 中, 膜转运中 ABC 转运蛋白和化学结构转化图中植物次级代谢物的生物合成代谢通路中代谢物数量最多, 分别为 16 种和 14 种。综合来看, 超声辅助外源性酶解组(U)和自身酶



注: A. B vs C; B. B vs U。

图 9 酶解液差异代谢物雷达图

Fig.9 Radar chart of differential metabolites in enzymolysis solution



注: A. B vs C; B. B vs U。

图 10 酶解液差异代谢物富集通路

Fig.10 Enrichment pathway of differential metabolites in enzymolysis solution

解组(B)的差异代谢物数量多于外源性酶解组(B)和自身酶解组(C),说明超声辅助酶解能产生更多的代谢产物,且通过改变蛋白质结构和代谢网络,显著提升了酶解效率。

### 3 结论

本研究通过对鱿鱼内脏进行添加碱性蛋白酶外源性酶解及超声预辅助外源性酶解,分析了其感官特性、氨基酸态氮含量及非靶向代谢组学变化。结果表明,超声预辅助外源性酶解提升了鱿鱼内脏的鲜味和组织细腻度,同时显著提高了氨基酸态氮含量(0.12 g/100 mL)。代谢组学分析显示,超声预处理酶解组与自身酶解组的差异代谢物数量最多(25种),其中次级代谢物的生物合成通路代谢物数量最多(14个),ABC转运蛋白通路代谢物数量达16个,表明超声预处理显著影响了鱿鱼内脏的代谢网络,增强了蛋白质降解和代谢产物的生成。研究表明,超声辅助外源性酶解能有效促进鱿鱼内脏蛋白降解,产生更多代谢产物,提升其风味及附加价值,为鱿鱼内脏的资源化利用提供了科学依据。

### 参考文献

- [1] LI D, LIU P, WANG W, *et al.* An efficient upgrading approach to produce n-3 polyunsaturated fatty acids-rich edible grade oil from high-acid squid visceral oil [J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2017, 127: 167-174.
- [2] SMAOUI S, HOSSEINI E, TSEGAY ZT, *et al.* Sustainable valorisation of seafood-derived proteins: Current approaches for recovery and applications in biomedical and food systems [J]. *Food Bioscience*, 2024, 62: 105450.
- [3] 陈惠云, 曾纪豪, 王翰韬, 等. 鱿鱼加工副产物的开发利用研究进展[J]. *农业与食品科学*, 2023, 1: 2.  
CHEN HY, ZENG JH, WANG HT, *et al.* Research progress on the development and utilization of squid processing by-products [J]. *Agricultural and Food Science*, 2023, 1: 2.
- [4] CARUSO G, FLORIS R, SERANGELI C, *et al.* Fishery wastes as a yet undiscovered treasure from the sea: Biomolecules sources, extraction methods and valorization [J]. *Marine Drugs*, 2020, 18(12): 622.
- [5] DU Z, CHEN D, SANG N, *et al.* Preparation of rapeseed protein by enzymatic hydrolysis assisted alkaline water extraction and its nutritional value in comparison with rapeseed meal and soybean protein concentrate [J]. *LWT*, 2025, 223: 117707.
- [6] YUAN Z, YE X, HOU Z, *et al.* Sustainable utilization of proteins from fish processing by-products: Extraction, biological activities and applications [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2024, 143: 104276.
- [7] LEEB E, GÖTZ A, LETZEL T, *et al.* Influence of denaturation and aggregation of  $\beta$ -lactoglobulin on its tryptic hydrolysis and the release of functional peptides [J]. *Food Chemistry*, 2015, 187: 545-554.
- [8] JONGJAREONRAK A, BENJAKUL S, VISESSANGUAN W, *et al.* Isolation and characterisation of acid and pepsin-solubilised collagens from the skin of Brownstripe red snapper (*Lutjanus vitta*) [J]. *Food Chemistry*, 2005, 93(3): 475-484.
- [9] VIBHUTE P, RADHAKRISHNAN A, JEYACHANDRAN S. Chapter 2-antioxidant properties of marine proteins and peptides [Z]. 2023.
- [10] VILAS BLCR, DE-LIMA LMP, MIGLIOLO L, *et al.* Linear antimicrobial peptides with activity against herpes simplex virus 1 and aichi virus [J]. *Peptide Science*, 2017, 108(2): e22871.
- [11] WANG Y, ZHAO J, WANG X, *et al.* Innovative insights into the enzymatic hydrolysis of salmon milt: Structural and functional analysis influenced by protease type and enzymolysis time [J]. *Food Chemistry*, 2025, 463: 141154.
- [12] AJAYI FF, MUDGIL P, MAQSOOD S. Molecular structural modification of jack bean protein using thermo-shearing/ultrasound/microwave treatments for improved extractability, functional and gelling properties: The underlying impacts of matrix pre-treatment versus alkaline-assisted extraction [J]. *Food Hydrocolloids*, 2024, 154: 110066.
- [13] 孙天颖, 程红, 张明站, 等. 超声波辅助酶解玉米胚芽脱脂粕预处理条件的优化[J]. *中国调味品*, 2020, 45(10): 1-4.  
SUN TY, CHENG H, ZHANG MZ, *et al.* Optimization of pretreatment

- conditions for ultrasound-assisted enzymatic hydrolysis of corn germ defatted meal [J]. *China Condiment*, 2020, 45(10): 1–4.
- [14] ALIZADEH O, ALIAKBARLU J. Effects of ultrasound and ohmic heating pretreatments on hydrolysis, antioxidant and antibacterial activities of whey protein concentrate and its fractions [J]. *LWT*, 2020, 131: 109913.
- [15] ZHANG W, HUANG L, CHEN W, *et al.* Influence of ultrasound-assisted ionic liquid pretreatments on the functional properties of soy protein hydrolysates [J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2021, 73: 105546.
- [16] CAI HT, TAO L, LIU Y, *et al.* Effect of different pretreatments on the hydrolysis efficiency and flavor of squid viscera (*Dosidicus gigas*) [J]. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 2024, 36: 100919.
- [17] 戴前颖, 安琪, 郑芳玲, 等. 基于定量描述分析法和适合项勾选法的黄大茶香气感官特性及喜好度分析[J]. *食品科学*, 2022, 43(21): 23–33.
- DAI QY, AN Q, ZHENG FL, *et al.* Analysis of sensory characteristics of aroma and preference of Huangda tea based on quantitative descriptive analysis and check-all-that-apply method [J]. *Food Science*, 2022, 43(21): 23–33.
- [18] 章银珠, 赵春玲, 张书芬. 两种测定酱油中氨基酸态氮方法的探讨[J]. *中国酿造*, 2017, 36(6): 1–3.
- ZHANG YZ, ZHAO CL, ZHANG SF. Comparison of two methods for determining amino acid nitrogen in soy sauce [J]. *China Brewing*, 2017, 36(6): 1–3.
- [19] 董志俭, 李冬梅, 牛思思, 等. 鱿鱼内脏蛋白酶解液制备鱿鱼味香精[J]. *中国食品学报*, 2014(12): 1–8.
- DONG ZJ, LI DM, NIU SS, *et al.* Preparation of squid-flavored essence using enzymatic hydrolysate from squid visceral protein [J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2014(12): 1–8.
- [20] 张慧芳, 李婷婷, 励建荣, 等. 鱿鱼内脏水解液美拉德反应条件优化及反应前后氨基酸组成的变化[J]. *食品工业科技*, 2013(24): 1–4.
- ZHANG HF, LI TT, LI JR, *et al.* Optimization of Maillard reaction conditions for squid viscera hydrolysate and changes in amino acid composition pre- and post-reaction [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2013(24): 1–4.
- [21] XIE Y, GUO C, DEVAHASTIN S, *et al.* Non-destructive determination of volatile compounds and prediction of amino acid nitrogen during Sufu fermentation via electronic nose in combination with machine learning approaches[J]. *LWT*, 2024, 207: 116648.
- [22] 万婵, 张愨, 刘亚萍. 超声波对鸡骨蛋白酶解产物的影响及机理研究[J]. *食品与生物技术学报*, 2020, 39(1): 46–53.
- WAN J, ZHANG M, LIU YP. Effects of ultrasound on enzymatic hydrolysis products of chicken bone protein and its mechanism [J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2020, 39(1): 46–53.
- [23] 方晓彤, 王前菊, 穆波, 等. 超声波辅助酶法处理对百香果出汁率及品质的影响[J]. *食品安全质量检测学报*, 2024, 15(10): 234–242.
- FANG XT, WANG QJ, MU B, *et al.* Effects of ultrasonic assisted enzymatic treatment on juice yield and quality of passion fruit [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2024, 15(10): 234–242.
- [24] 刘超, 马遥, 刘艳秋, 等. 超声波-酶法协同制备梅花鹿鹿血肽及其体内抗疲劳活性研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2024, 15(6): 22–29.
- LIU C, MA Y, LIU YQ, *et al.* Preparation of deer blood peptide from sika deer by ultrasonic-enzymatic synergistic preparation and research on the antifatigue activity *in vivo* [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2024, 15(6): 22–29.
- [25] 曹实, 杨霖坤, 鲁康乐, 等. 酶解大豆分离蛋白替代鱼粉对花鲈生长性能, 血清生化指标和脂肪代谢的影响[J]. *动物营养学报*, 2022, 34(6): 3884–3895.
- CAO S, YANG LK, LU KL, *et al.* Effects of replacing fish meal with enzymatic hydrolysis soybean protein isolate on growth performance, serum biochemical indices and lipid metabolism of Asian sea bass (*Lateolabrax japonicus*) [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2022, 34(6): 3884–3895.
- [26] 王红梅, 蒋思睿, 陶阳, 等. 超声辅助植物乳杆菌发酵苹果汁及草莓汁过程中菌体生长及酚类等物质代谢[J]. *食品科学*, 2020, 41(14): 1–10.
- WANG HM, JIANG SR, TAO Y, *et al.* Ultrasound-assisted fermentation of apple juice and strawberry juice by *Lactobacillus plantarum*: Bacterial growth and metabolism of phenolic compounds during the process [J]. *Food Science*, 2020, 41(14): 1–10.
- [27] 谢国祥. 基于几种色谱分析方法的生物样本的代谢组学研究[D]. 上海: 上海交通大学, 2006.
- XIE GX. Metabolic profiling of biological samples based on several chromatographic analysis methods [D]. Shanghai: Shanghai Jiao Tong University, 2006.
- [28] THÉVENOT EA, ROUX A, XU Y, *et al.* Analysis of the human adult urinary metabolome variations with age, body mass index, and gender by implementing a comprehensive workflow for univariate and OPLS statistical analyses [J]. *Journal of Proteome Research*, 2015, 14(8): 3322–3335.
- [29] LIU D, DU L, HUANG Q, *et al.* Effects of ultrasound treatment on muscle structure, volatile compounds, and small molecule metabolites of salted *Culter alburnus* fish [J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2023, 97: 106440.
- [30] 郭力飞. 基于四叉树网格的快速层次聚类热图可视化研究[D]. 秦皇岛: 燕山大学, 2016.
- GUO LF. Research on fast hierarchical clustering heatmap visualization based on quadtree grid [D]. Qinghuangdao: Yanshan University, 2016.
- [31] HU Y, LI K, BAI Y, *et al.* Effect of combined ultrasonic and enzymatic assisted treatment on the fermentation process of whole *Lycium barbarum* (goji berry) fruit [J]. *Food Bioscience*, 2023, 53: 102550.
- [32] DELGADO-POVEDANO MM, LUQUE DE CASTRO MD. A review on enzyme and ultrasound: A controversial but fruitful relationship [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2015, 889: 1–21.

(责任编辑: 于梦娇 安香玉)