李珍珠, 沐长青, 郑文涛, 等. 滇中黄牛新型鲜味肽的分离鉴定及与 T1R1/T1R3 受体的分子作用机制研究 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(13): 134−144. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025070106
LI Zhenzhu, MU Changqing, ZHENG Wentao, et al. Isolation and Identification of New Umami Peptides from Dianzhong Cattle and Its Molecular Mechanism of Action with T1R1/T1R3 Receptors[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(13): 134−144. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025070106

· 研究与探讨 ·

滇中黄牛新型鲜味肽的分离鉴定及与 T1R1/T1R3 受体的分子作用机制研究

李珍珠, 沐长青, 郑文涛, 王玉珠, 黄艾祥*
（云南农业大学食品科学技术学院, 云南昆明 650500）

摘　要: 为研究滇中黄牛肉中的鲜味肽及呈鲜机理，本文通过超滤技术结合液相色谱-串联质谱（Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry，LC-MS/MS）对滇中黄牛肉水提物中的肽段进行鉴定；基于虚拟筛选挖掘滇中黄牛肉的特征鲜味肽，并预测肽段的理论呈味特征；利用分子对接技术揭示鲜味肽与受体 T1R1/T1R3 的结合机制。感官评价结果表明，分子量<1 kDa 的牛肉水提物组分鲜味最好，基于 LC-MS/MS 共鉴定得到 2609 条多肽，通过虚拟预测得到 124 条潜在鲜味肽，结合鲜味活性片段和理化性质分析挑选了 4 条鲜味活性高、安全无毒的特征鲜味肽（LRDW、DVF、APKIPEGE、GVWD），分子量为 379.17~839.44 Da；分子对接表明 4 条鲜味肽主要通过激活关键氨基酸残基 His145、Glu148、Ala302 和 His278 与 T1R3 受体稳定结合，涉及的关键作用力是氢键，其次是静电和疏水相互作用。本研究为完善鲜味肽的构效关系及高效筛选提供理论基础，也为地方牛肉鲜味肽的深度开发提供理论依据。

关键词: 滇中黄牛肉, 鲜味肽, 虚拟筛选, 分子对接, 分子机制
中图分类号: TS201.2　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)13−0134−11
DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025070106
本文网刊:

Isolation and Identification of New Umami Peptides from Dianzhong Cattle and Its Molecular Mechanism of Action with T1R1/T1R3 Receptors

LI Zhenzhu，MU Changqing，ZHENG Wentao，WANG Yuzhu，HUANG Aixiang*
（College of Food Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650500, China）

Abstract: To study the umami peptides and umami mechanism of yellow beef in central Yunnan, ultrafiltration technology combined with liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) was used to identify the peptides in the water extract of yellow cattle meat from central Yunnan. Based on virtual screening, the characteristic umami peptides of central Yunnan yellow beef were identified, and their theoretical taste characteristics were predicted. Molecular docking was used to reveal the binding mechanism between umami peptides and the receptors T1R1/T1R3. The sensory evaluation showed that the water extract of beef with a molecular weight <1 kDa had the best umami taste. A total of 2609 peptides were identified using LC-MS/MS, and 124 potential umami peptides were obtained by virtual prediction. Four characteristic umami peptides (LRDW, DVF, APKIPEGE, and GVWD) with high umami activity, safety, and non-toxicity were selected based on the analysis of umami-active fragments and their physical and chemical properties. The molecular weight ranged from 379.17 to 839.44 Da. Molecular docking showed that the four umami peptides mainly bind to the T1R3 receptor by activating the key amino acid residues His145, Glu148, Ala302, and His278, with hydrogen bonding being the key force involved,

收稿日期: 2025−07−10
基金项目: 云岭学者（XDYC-YLXZ-2023-0032）。
作者简介: 李珍珠（2002−）, 女, 硕士, 研究方向: 食品科学, E-mail: 2560033747@qq.com。
*** 通信作者:** 黄艾祥（1963−）, 男, 博士, 教授, 研究方向: 食物新资源开发与乳品科学, E-mail: aixianghuang@126.com。

followed by electrostatic and hydrophobic interactions. This study provides a theoretical basis for improving the structure-activity relationship and efficient screening of umami peptides, and also provides a theoretical basis for the in-depth development of local beef umami peptides.

Key words: Dianzhong cattle meat; umami peptides; virtual screening; molecular docking; molecular mechanism

滇中黄牛具有适应性和抗逆性强、肉质风味好等地方特色，具有肌肉蛋白质含量高，脂肪酸和胆固醇含量低的特点，作为云南本地黄牛典型代表，肉质鲜美，深受消费者的喜爱[1]。鲜味作为五种基本味觉之一，是评价食品风味品质的重要参考标准。鲜味主要由小分子鲜味物质（如游离氨基酸、肽及核苷酸等）通过刺激舌上皮细胞表面的鲜味受体（如 T1R1/T1R3）引发神经信号传导，进而产生的一种呈现食物醇厚感、饱满度及风味协同提升的复杂感官特征[2]。其中鲜味肽因天然来源，使其在低盐调味品等领域正逐步替代传统鲜味剂，成为食品工业升级的重要突破口。截至目前，研究人员已经报道了近 200 种不同来源的鲜味肽，如鱼类[3]、肉类[4]、菌类[5]、发酵食品[6]等。就牛肉而言，1978 年 Yamasaki 等[7] 就从木瓜蛋白酶水解牛肉液中分离出 Lys-Gly-Asp-Glu-Glu-Ser-Leu-Ala 鲜味肽，最近的研究从炒牛肉[8]、酶解牛肉[9] 中发现了鲜味肽。但至今，与其他蛋白质来源的鲜味肽相比，从牛肉中挖掘到的鲜味肽种类仍十分有限[10]。

传统鲜味肽的分离鉴定需经过液相色谱法、离子色谱法进行分离纯化，操作复杂，耗时长，成本高，难以实现鲜味肽的高通量筛选[11]。近年来，随着计算机科学与生物信息学的深度交叉融合，新型鲜味肽的研究在分子机制与应用开发上取得了突破性进展。其中基于机器学习的预测模型如 UMPred-FRL、Umami-YYDS 和 Umami-MRNN 已被开发用于高通量筛选鲜味肽。Gu 等[12] 以 Cheddar 干酪为研究对象，采用肽组学和生物信息学，筛选出 6 种潜在的鲜味肽（LEEL、EKNRLNFLK、DERF、NAVPITPTLNFLK、NMAINPSKENL、GKEKVNELSK）。Mao 等[13] 将肽组学与机器学习预测模型（Umami-MRNN、UMPred 和 Umami_YYDS）相结合，从成熟豆腐中共鉴定出 637 种鲜味肽，并通过分子对接最终确定了 5 种新型鲜味肽（DFEGDV、GRGPTVTDP、NDDRDSYNL、RVPAGTTY 和 SDNFEY）。Han 等[14] 使用宏基因组学、机器学习、实验验证和分子对接从发酵谷物中鉴定了三种候选鲜味肽（EFFSNYGTRV、EFFSNYDTRL 和 GCWGRGRLCQW），目前已证明了机器学习预测方法用于挖掘鲜味肽的可靠性。此外，为了提高鲜味肽的应用前景，肽的安全性预评估、良好的溶解性和稳定性是其后续应用的必要条件，可以被视为筛选鲜味肽候选物的标准之一。

目前，关于滇中黄牛肉中的鲜味肽组成及呈鲜机制尚不明确。因此，本研究以云南滇中黄牛肉作为研究对象，通过超滤结合感官评价对牛肉水提物进行分离制备粗肽，然后基于 LC-MS/MS 技术分离鉴定牛肉水提物中的肽谱结构，并利用机器学习和生物信息学筛选出潜在的鲜味肽，最后通过分子对接技术初步揭示鲜味肽与 T1R1/T1R3 受体的互作机制。本研究为完善滇中黄牛的特征风味体系以及深入研究鲜味肽呈味机制奠定基础，也为云南高原地方牛鲜味肽挖掘及呈味产品开发提供新的理论依据。

1　材料与方法

1.1　材料与仪器

滇中黄牛　选取自然放牧、发育正常、27 月龄的滇中地区饲养的草饲黄牛。每头牛取背最长肌肉 500 g，取 6 个平行样品，低温排酸后冷冻到−20 ℃后运送到实验室保存待用；谷氨酸钠　食品级，莲花健康产业集团股份有限公司；蔗糖　食品级，广西来宾东塘凤凰有限公司；氯化钠　食品级，重庆川东化工有限公司；柠檬酸　食品级，天津市瑞金特化学品有限公司；奎宁　食品级，陕西海益斯生物科技有限公司；定性滤纸（中速）　杭州特种纸业有限公司；水系微孔过滤膜（0.45 μm）　天津市津腾实验设备有限公司；超滤膜（3、1 kDa）　上海摩速科学器材有限公司；甲酸　分析纯，上海麦克林深化科技股份有限公司；乙腈　分析纯，天津市凯通化学试剂有限公司；超纯水　食品级，杭州娃哈哈集团有限公司。

HH-8 数显恒温水浴锅　国华（常州）仪器制造有限公司；XFD-D 肉切式匀浆机　奥豪斯仪器有限公司；HYP-308 电动搅拌器　上海纤检仪器有限公司；H3-18K 高速离心机　湖南可成仪器设备有限公司；C21-SK2101 电磁炉　美的电器有限公司；UFSC 40001 超滤杯、IT-09C10 磁力搅拌器　上海一恒科学仪器有限公司；DW-HC388-80 超低温冰箱　澳柯玛股份有限公司；FD-1A-50 冷冻干燥机　上海比朗仪器制造有限公司；Zorbax 300SB-C_{18} 肽层析柱　美国特拉华州威尔明顿安捷伦科技公司；Q Exactive HF-X 液相色谱-质谱联用仪　赛默飞世尔科技公司。

1.2　实验方法

1.2.1　滇中黄牛肉水提物的制备　参考 Zhang 等[15] 的方法稍作修改，取 100 g 新鲜滇中黄牛肉（去筋膜、脂肪）绞碎，加入 300 mL 超纯水，采用直接加热的方式在 85 ℃对混合物进行加热 3 h，静置冷却至室温后离心（4 ℃，8000 r/min，15 min），使用定性滤纸过滤上清液，再使用 0.45 μm 水系微孔过滤膜抽滤，沉淀物加 200 mL 超纯水按上述步骤重复提取 1 次，合并 2 次上清液储存于 4 ℃ 备用。

1.2.2 滇中黄牛肉水提物的超滤分离 参考杨敏等[16]的方法稍作修改，选用 3000 Da 和 1000 Da 的超滤膜对牛肉水提物在 4 ℃ 进行超滤分离(UF)：首先将水提物通过 3000 Da 的超滤膜，分离出的滤液再用 1000 Da 的超滤膜进行分离，得到三个不同分子量组分 A(MW>3000 Da)、B(1000 Da≤MW≤3000 Da)、C(MW<1000 Da)。冷冻干燥后冻存于 −80 ℃ 冰箱用于后续的感官和实验研究。

1.2.3 感官评价 感官评价的方法及标准：参照高丙宏[17]的方法，将 1.2.2 中超滤冻干的三个组分 A、B、C 配制成浓度为 5 mg/mL 的溶液，采用评分法对不同分子量的滇中黄牛肉水提物进行感官评定。感官评定小组由 10 人组成(5 男 5 女)，年龄在 20~23 岁。小组成员经过感官培训，且不吸烟、无味觉和嗅觉功能障碍，可以准确识别酸、甜、苦、咸、鲜五种基本味道。感官评价在感官评价室内进行，室内温度为 24±1 ℃。

5 种基本味觉酸、甜、苦、咸、鲜对应的标品分别为 0.8 mg/mL 柠檬酸溶液、10 mg/mL 蔗糖溶液、2.5 mg/mL 奎宁溶液、3.5 mg/mL 氯化钠、3.5 mg/mL 味精溶液，其中标准品(ST)的感官评分为 5 分，感官评分标准如表 1 所示。

1.2.4 滇中黄牛肉肽序列鉴定 参照 Wang 等[18]的方法，样品上机前通过超滤、脱盐后进行质谱检测。其中色谱分离条件如下：液相所用的 A 液为 0.1% 甲酸水溶液，B 液为 0.1% 甲酸乙腈水溶液(乙腈为 84%)。液相色谱柱(0.15 mm×150 mm, RP-C_{18}, Column Technology Inc.)以 95% 的 A 液进行平衡，样品由自动进样器上样到 Zorbax 300SB-C_{18} 肽层析柱，洗脱梯度：0~50 min, B 液线性梯度为 4%~50%; 50~54 min, B 液线性梯度为 50%~100%; 54~60 min, B 液维持在 100%。质谱条件：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)。最后用软件 MaxQuant 1.5.5.1 检索相应的数据库，得到蛋白质鉴定及定量分析结果。分析过程中允许的最大漏切位点数量设置为 2，查库所使用的数据库为 uniprotkb_Bos_taurus_59265_2024_08_06，一级离子质量容差为 20 ppm，二级离子质量容差为 0.1 Da，且可信蛋白质的筛选标准 FDR≤0.01。

1.2.5 滇中黄牛肉潜在鲜味肽的筛选及活性预测 首先对 LC-MS/MS 鉴定得到的多肽进行 MaxQuant 软件分析，选取得分>20 的多肽用 PeptideRanker 工具进一步筛选候选肽(评分>0.5)，然后基于鲜味预测器 UMPred-FRL、Umami-YYDS 进行鲜味预测，只有同时满足 PeptideRanker 得分>0.5、UMPred-FRL 鲜味预测值>0.5 和 Umami-YYDS 鲜味预测值>0.9 的肽段才被认定为潜在鲜味肽，进一步利用 BIOPEP-UWM、ToxinPred 和 Innovagen tool 对潜在鲜味肽的鲜味活性、致毒性和水溶性进行分析，BIOPEP-UWM 软件主要用于预测肽的呈味活性片段，从理论水平上分析肽的呈味特性，同时利用该数据库判断肽的新颖性。只有肽段同时具有较好的鲜味活性、良好的水溶性、无毒且鲜味活性较强的潜在鲜味肽才被认定为本次研究所得的特征鲜味肽。所使用工具对应的网址如表 2 所示。

1.2.6 滇中黄牛肉特征鲜味肽与鲜味受体 T1R1/T1R3 的结合机制研究

1.2.6.1 同源建模 鲜味受体的氨基酸序列 T1R1(Q7RTX1)和 T1R3(Q7RTXO)通过检索 UniProtKB 数据库(https://www.uniprot.org/)获得；同源建模工作采用 AlphaFold server 完成(https://alphafoldserver.com/)，使用 PyMOL 2.5.截断蛋白的跨膜结构域，输出取 T1R1/T1R3 复合物[24]。而后采用 Maestro 13.0 中的蛋白准备模块(Protein Preparation Wizard)对上述下载获得的蛋白进行优化，包括将共晶复合物以及目标分子和蛋白的复合物体系分别采用 protein-preparation workflow 模块精细准备，包括添加氢原子、创建二硫键、使用 prime 添加缺失的侧链以及环、优化氢键网络，并在 pH7.4 下计算氨基酸残基的 pka 及其质子化状态，以及在 OPLS4 力场进行全局优化，消除蛋白间的冲突，使之结构合理。完成优化的结构进行 ramachandran plot 质量评估。

表 1 感官评价标准

Table 1 Sensory evaluation criteria

味道强度	无味	极轻微	轻微	略带味道	轻度味道	中等味道	较强味道	强烈味道	极强味道	极强烈味道
得分(分)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

表 2 本文所使用工具及网址

Table 2 Tools and websites used in this paper

工具	网址	参考文献
PeptideRanker	http://distilldeep.ucd.ie/PeptideRanker/	[19]
UMPred-FRL	https://pmlabstack.pythonanywhere.com/UMPred-FRL	[20]
Umami-YYDS	http://www.tastepeptides-meta.com/Umami_YYDS	[21]
BIOPEP-UWM	https://biochemia.uwm.edu.pl/biopep-uwm/	[22]
ToxinPred	https://webs.iiitd.edu.in/raghava/toxinpred/index.html	[23]
Innovagen tool	http://www.innovagen.com/proteomics-tools	[23]

1.2.6.2　鲜味肽及鲜味受体 T1R1/T1R3 结构优化　使用 ChemDraw(19.0)和 Chem 3D(19.0)软件优化三种本地牛肉中的 11 条特征鲜味肽的 2D 结构。短肽的 3D 结构采用 PyMOL 2.5.4 构建，并在 MMFF94 力场下进行能量最小化。

1.2.6.3　鲜味肽与鲜味受体 T1R1/T1R3 的分子对接研究　参照 Wang 等[25] 的方法，采用 AutoDock Vina 1.1.2 软件[26] 进行分子对接工作，在对接开始之前，使用 PyMol 2.5.4 对受体蛋白进行处理，包括去除水分子、盐离子以及小分子。随后设置对接盒子，使之包裹整个蛋白结构。此外，使用 ADFRsuite 1.0 将所有处理好后的小分子以及受体蛋白转换为 AutoDock Vina 1.1.2 对接必需的 pdbqt 格式[27]。对接时，全局搜索的详尽度设为 32，其余参数保持默认设置。输出的打分最高的对接构象被认为是结合构象，最后使用 PyMol 2.5.4 以及 Discovery Studio Visualizer 对对接结果进行可视化分析。

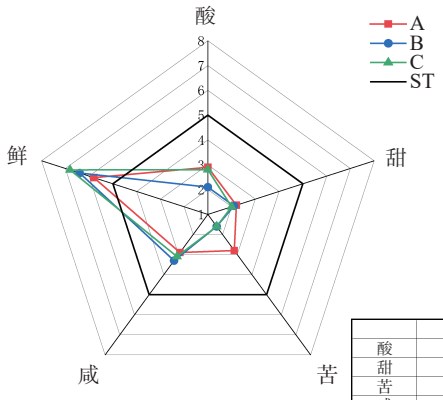
1.3　数据处理

所有实验均重复三次，使用 Microsoft Excel 2010 和 SPSS 26.0 软件处理数据，利用 SPSS 26.0 软件计算平均数和误差值，结合邓肯法进行显著性分析(P<0.05)，使用 Origin 2024 软件进行绘图。

2　结果与分析

2.1　滇中黄牛肉水提物感官分析

经过 10 名评定人员进行感官评定，评定得分如图 1 所示。随着分子量逐渐变小，三种样品的鲜味都比较明显，其中超滤组分 C 的鲜味值最高，且与组分 A 具有显著差异(P<0.05)，说明低分子量的组分可能具有更好的鲜味强度，同时粗肽组分还具有复杂的风味特征，如酸味、咸味等，这与之前的研究结果相似[28]。之前的研究表明鲜味肽的分子量通常小于 3000 Da，其中 500~1000 Da 范围内的肽被认为能提供最浓郁的鲜味[29]。因此，本研究选择分子量低于 1000 Da 的组分进行后续的质谱鉴定，挖掘潜在的鲜味肽。



	A	B	C
酸	a	b	a
甜	a	a	a
苦	a	b	b
咸	a	a	a
鲜	b	ab	a

图 1　感官评分雷达图及差异显著性

Fig.1　Sensory score radar chart and difference significance

注：不同字母表示组间差异显著(P<0.05)。

2.2　滇中黄牛肉水提物粗肽的鉴定及肽谱分析

2.2.1　离子色谱图分析　采用 LC-MS/MS 技术对滇中黄牛肉水提物分子量<1000 Da 的组分进行了质谱鉴定。如图 2 所示，总离子流图(TIC)分别展示了小分子肽段的色谱分离情况，其中横轴为保留时间(min)，纵轴为离子峰强度(a.u.)。基于 UniProt Bos Taurus 数据库比对，从分子量小于 1000 Da 的组分中鉴定出 2609 条可信肽段。与 Yang 等[30] 利用 Nano-HPLC-MS/MS 从牛骨汤中鉴定的 1112 条肽相比，本研究从牛肉中鉴定出更多的肽段，说明相比牛骨产生的蛋白肽，牛肉中蛋白肽更为丰富，但这也可能是样品的处理方式、鉴定条件带来的差异。此外，将鉴定的所有肽段进行 MaxQuant 软件分析，即测试的质谱数据和数据库中的数据越吻合得分越高，鉴定结果越可靠，肽的可信度越高[31]。本研究以肽评分>20 为标准筛选目标肽，在滇中黄牛肉水提物中共鉴定出 2423 个可信度评分>20 分的肽段，这些肽被保留用于后续的筛选分析。

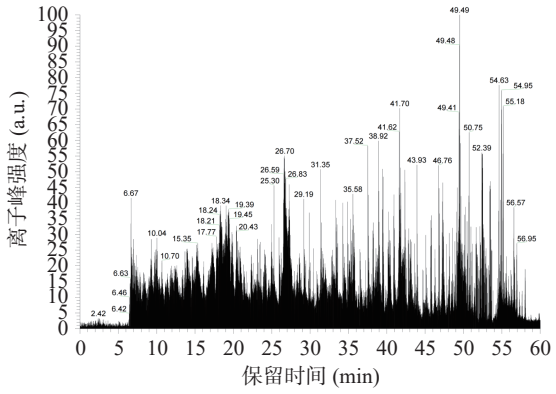


图 2　LC-MS/MS 鉴定的离子色谱图

Fig.2　Ion chromatograms identified by LC-MS/MS

2.2.2　滇中黄牛肉蛋白肽长度分析　如图 3A 所示，从肽段长度来看，在 2423 条肽段中共有 1067 条肽的肽段长度≤10 个氨基酸，占所鉴定肽段总数的 44%，其次为 11~15 个氨基酸组成的肽约占所鉴定肽段总数的 31%，而超过 15 个氨基酸的肽约占总鉴定肽的 25%。说明本次研究中牛肉产生的蛋白肽主要由 10 个氨基酸以下的短肽组成。之前的研究表明，相比于长肽，短肽具有更好的鲜味特性[32]。因此，后续的研究将重点关注短肽的呈味特性研究。

2.2.3　牛肉蛋白肽的分子量分析　肽段的分子量大小也会影响肽的呈味特性，目前所报道的鲜味肽分子量一般为 300~1500 Da[33]。如图 3B 所示，分子量≤1500 Da 的肽段有 1513 条，占比 62.4%，超过所鉴定肽的一半，而分子量超过 2000 Da 的肽仅占 11.5%。依据之前的研究表明，鲜味肽的分子量范围一般低于 1500 Da，且由 3~9 个氨基酸组成[34]。进一步说明低分子量肽是牛肉蛋白肽的主要组成部分，与上述的

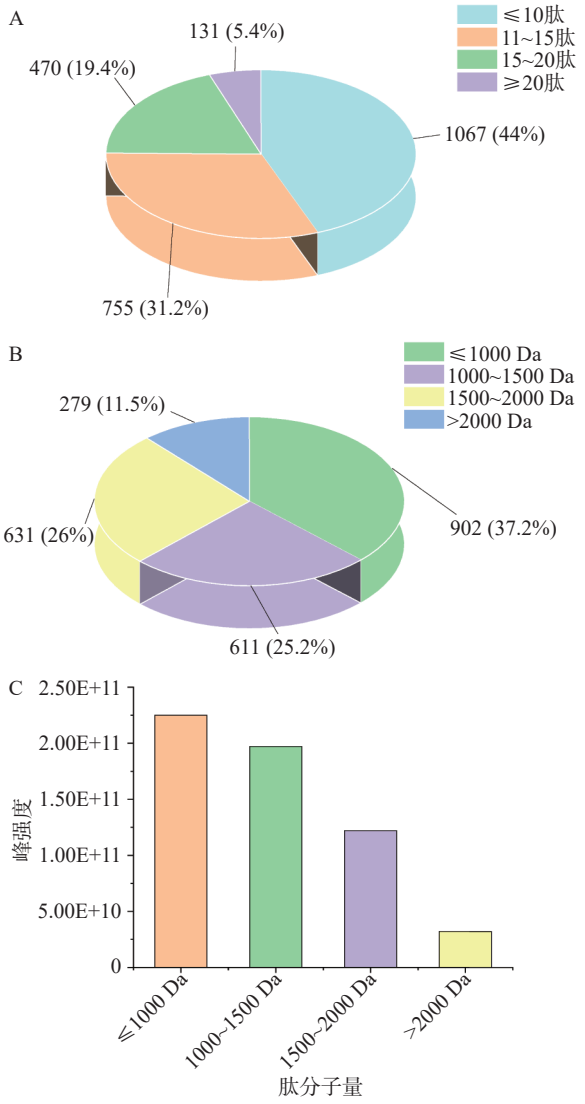


图 3　肽谱结果

Fig.3　Results of the peptide spectrum

注：图 A 为肽的长度；图 B 为肽的分子量；图 C 为肽的峰强度。

研究结果相似。此外，本研究分析了不同分子量下肽段的峰强度占比，其峰强度越高，肽在样品中的含量越高，对粗肽的风味特征具有更大影响，结果如图 3C 所示，随着分子量的增加，肽段的峰强度逐渐减小，说明更低分子量的肽在质谱峰中具有更高的强度，其中分子量≤1500 Da 的肽峰强度占比超过 60%，说明这些肽段是牛肉主要产生的蛋白肽。

2.2.4　牛肉蛋白肽中氨基酸呈现次数分析　上述的研究指出牛肉中产生的蛋白肽主要为分子量小于 1500 Da 的短肽，近年的研究指出除了肽的分子量和长度外，氨基酸的组成也是影响短肽呈味特性的主要因素[16]。因此，本研究统计了所有肽段中氨基酸出现的次数，由图 4 可知，氨基酸出现次数最多的是亮氨酸（Leu）、丙氨酸（Ala）、赖氨酸（Lys）和甘氨酸（Gly），分别出现了 2759、2021、2107 和 2123 次，是这些蛋白肽中重要的氨基酸组成。同时鲜味氨基酸谷氨酸（Glu）和天冬氨酸（Asp）的出现次数分别是 1563 次和 1259 次，也具有较高的出现频率。此外，从氨基酸的亲水性和疏水性来看，亲水性氨基酸（半胱氨酸（Cys）、天冬氨酸（Asp）、谷氨酸（Glu）、组氨酸（His）、赖氨酸（Lys）、天冬酰胺（Asn）、谷氨酰胺（Gln）、精氨酸（Arg）、丝氨酸（Ser）、苏氨酸（Thr）、和酪氨酸（Tyr）），疏水性氨基酸（丙氨酸（Ala）、苯丙氨酸（Phe）、甘氨酸（Gly）、异亮氨酸（Iso）、亮氨酸（Leu）、甲硫氨酸（Met）、脯氨酸（Pro）、缬氨酸（Val）和色氨酸（Try））出现的次数分别为 12217 次和 14047 次，疏水氨基酸出现的次数明显比亲水氨基酸出现次数多，先前的研究表明它们与受体形成的疏水相互作用可以增强肽的鲜味[35]。说明疏水性氨基酸在肽段的呈味特性中也发挥着重要作用。

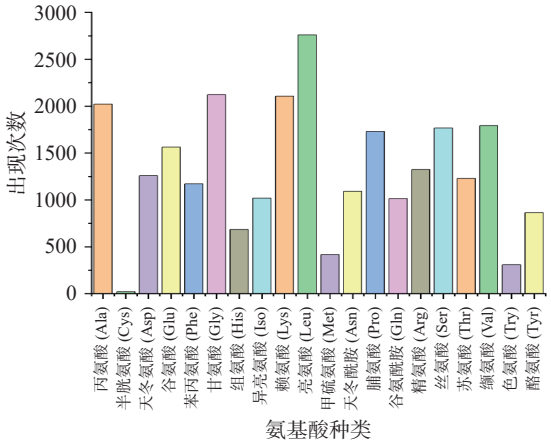


图 4　肽段中氨基酸出现次数

Fig.4　Frequency of amino acids in peptides

2.3　滇中黄牛肉中特征鲜味肽的筛选

2.3.1　计算机虚拟筛选　为挖掘滇中黄牛肉中潜在的鲜味肽，本研究基于 PeptideRanker 的评分预测、UMPred-FRL 和 Umami-YYDS 数据库对 2423 条肽段进行虚拟筛选。PeptideRanker 的评分预测一般与肽段的活性呈现出正相关，即评分预测值越高，此肽段的活性就越强，同时在本研究中只有 UMPred-FRL 数据库得分>0.5 和 Umami-YYDS 数据库分析得分>0.9 的肽才被认为具有潜在的鲜味活性[36]。本研究发现在 2423 条肽段中，同时满足上述条件的肽有 124 条，通过 Uniprot 比对了 124 条潜在鲜味肽的蛋白，结果如图 5A 所示，图左侧表示肽段来源的蛋白名称，图右侧表示蛋白质产生的肽段数量。124 条潜在鲜味肽主要来源于 ADP/ATP translocase 1、GAPDH、Myoglobin、Actin, alpha skeletal muscle、LIM domain binding 3、ATPase inhibitor, mitochondrial 等 56 种蛋白质降解产生，其中来自 ADP/ATP translocase 1 蛋白质的肽段数量最多，共 10 条，其次，来自肌酸激酶、Beta-enolase、Actin, alpha skeletal muscle、Myosin heavy chain 1 也是产生鲜味肽的重要来源。

此外，本研究为进一步挖掘滇中黄牛肉中的特征鲜味肽，对 124 条肽段的长度分布进行了统计分

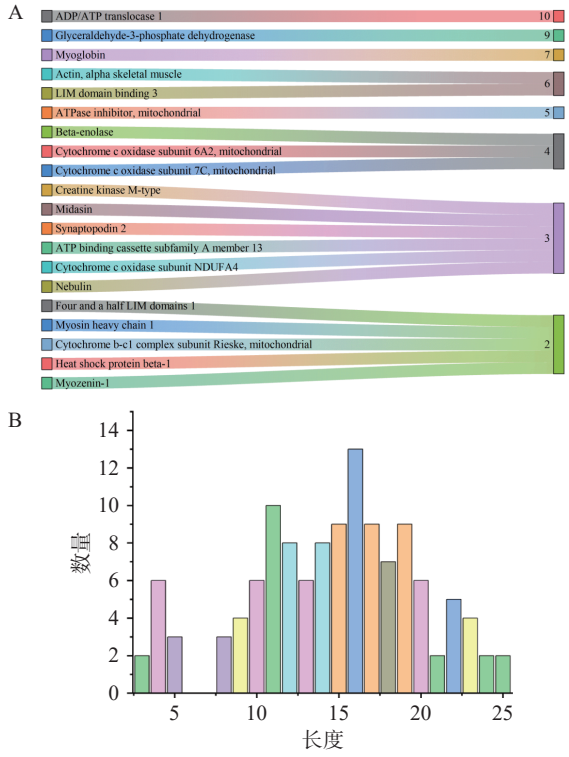


图 5　124 条潜在鲜味肽的主要蛋白来源与肽链长度

Fig.5　Main protein source and peptide chain length of 124 potential umami peptides

注：图 A 为主要蛋白来源；图 B 为肽链长度。

析，结果如图 5B 所示，124 条潜在鲜味肽主要分布为中长链鲜味肽，这可能是因为中长链鲜味肽氨基酸组成丰富，而本研究使用的机器学习预测模型主要是基于肽的一级结构序列信息进行识别，丰富的氨基酸组成更容易被预测到。但根据之前的研究表明，相比于长链鲜味肽，短肽具有更好的鲜味强度，且目前报道的鲜味肽大部分都少于 10 个氨基酸残基[36]。在本研究中，氨基酸个数小于 10 个氨基酸的肽段有 18 条，综合肽段 C 端和 N 端氨基酸组成以及峰面积强度，推测其中 13 条肽可能具有更好的鲜味强度，因此被选择进一步研究。

2.3.2　特征鲜味肽的鲜味活性片段及理化性质预测分析　良好的水溶性和安全性对拓宽肽的应用至关重要。本研究利用 ToxinPred 和 Innovagentool 软件对 13 条潜在鲜味肽进行毒性和水溶性分析。结果如表 3 所示，ToxinPred 分析显示 13 条鲜味肽均无毒性，Innovagentool 分析发现肽 TSF、WSNVLRGM 和 HALNDMTSI 的水溶性较差，考虑鲜味肽在未来的加工应用前景，水溶性差的鲜味肽在接下来的分析中被排除。此外，BIOPEP-UWM 数据库可以预测鲜味肽的鲜味活性片段出现频率，进而推测肽段的鲜味活性，如表 3 所示，在 13 条肽中有 4 条肽不含有鲜味活性片段，这说明机器学习判别模型的复杂性，需要整合多种数据库联合分析，才能保证鲜味肽筛选的准确性。如 Nugraha 等[37] 通过整合 BIOPEP-UWM、PeptideRanker 和 HADDOCK 2.4 等生物信息学工具，从遮目鱼蛋白中预测到 9 种肽具 ACE 抑制活性、3 种肽具 DPP-IV 抑制活性。Yu 等[38] 在鸡枞汤中鉴定出了 24 种肽，根据 BIOPEP-UWM 和 Umami-MRNN 数据库预测筛选出其中具有鲜味的 12 种肽。因此，在本研究中，不含有鲜味活性片段的肽在接下来的研究中同样被排除。根据鲜味活性片段的出现频率越高，鲜味活性越高[39]。本研究最终选择肽 LRDW、DVF、APKIPEGE 和 GVWD 进一步分析其风味特征及与 T1R1/T1R3 受体的分子作用机理。

表 3　潜在鲜味肽虚拟筛选结果

Table 3　Results of the screening of potential umami petides

肽序列	鉴定得分	毒性	水溶性	鲜味活性	肽段长度	分子量(Da)
LRDW	43.988	Non	Good	25%	4	588.30
DVF	49.069	Non	Good	33%	3	379.17
APKIPEGE	97.093	Non	Good	38%	8	839.44
GVWD	55.36	Non	Good	25%	4	475.21
YPLDFARTR	149.82	Non	Good	11%	9	1137.59
TSF	53.53	Non	Poor	Non	3	353.16
DTLSRMLFG	122.18	Non	Good	11%	9	1038.51
LRSPL	63.58	Non	Good	Non	5	584.36
LPSRL	43.63	Non	Good	Non	5	584.36
WSNVLRGM	97.07	Non	Poor	Non	8	961.48
WHNDNKSF	98.63	Non	Good	13%	8	1046.46
HALNDMTSI	154.01	Non	Poor	11%	9	1000.46
ALNDHFVKL	111.82	Non	Good	11%	9	1055.57

如表 3 所示，4 条鲜味肽的分子量范围为 379.17~839.44 Da，均<1000 Da，与之前的研究结果相似，表明低分子量的肽段鲜味潜力更好[40]。其次，4 条肽的质谱鉴定得分均>40 分，具有较高的可靠性，且通过 BIOPEP-UWM 数据库并未检测到相似肽段，说明这四条肽是本研究发现的新型鲜味肽。

2.4　新型鲜味肽的理论风味预测分析

为了从理论上分析鲜味肽的氨基酸组成与风味特性之间的关系，本研究基于 BIOPEP-UWM 数据库分析了 4 条肽的风味特征。由表 4 可知，4 条肽段都含有一定的鲜味活性片段，其中肽 APKIPEGE 的鲜味活性片段最高，为 38%。4 条鲜味肽中鲜味活性片段出现最多的氨基酸是谷氨酸(Glu)和天冬氨酸(Asp)，这两种氨基酸在多肽的呈鲜方面具有重要影响[41]。同时，鲜味肽的鲜味特征还与其他呈味氨基酸有关(如苦味、甜味和咸味)[42]，如甜味氨基酸对鲜味肽的呈鲜具有协同作用[43]，肽 APKIPEGE 和 GVWD 具有较高的甜味活性片段，推测其可能具有更好的鲜味特性。此外，每条肽段都显示出较高的苦味，Jia 等[23] 的研究指出苦味氨基酸对鲜味肽的组成同样具有重要作用，而肽的酸味通常与鲜味也存在关联，酸味肽中含有的酸性氨基酸(Glu、Asp)普遍存在于鲜味肽中[44−45]。同时具有咸味的肽被证明可以提供甜、鲜味和浓厚感等味道[46]。先前的研究表明含有鲜味氨基酸的肽不一定具有鲜味，而不含有鲜味氨基酸的肽同样具有鲜味[16]，因此，不能仅凭活性片段直接确定

表 4 鲜味肽的呈味活性预测及氨基酸分析结果

Table 4 Flavoring activity prediction and amino acid analysis results of umami peptides

肽段序列	氨基酸残基数(个)	呈味活性片段预测								
		涩味	苦味	苦味抑制	咸味	酸味	甜味	甜味抑制	鲜味	鲜味增强
LRDW	4	–	0.75	0.35	0.25	0.25	–	–	0.25	–
DVF	3	–	1.33	–	0.33	0.67	0.33	–	0.33	–
APKIPEGE	8	0.13	1	0.13	–	0.38	0.63	–	0.38	0.13
GVWD	4	–	0.75	–	0.25	0.25	0.5	–	0.25	–

注: “–”表示目标肽序列中不具有相特定味觉活性片段。

肽段的味觉活性, 在后续的研究中需要对潜在肽段进行合成验证, 探究其味觉特征。

2.5 滇中黄牛肉特征鲜味肽的呈鲜机制

2.5.1 鲜味肽同源建模结果 目前, 同源建模已经成为鲜味肽与鲜味受体 T1R1/T1R3 结合机制分析过程中必不可少的一个重要工具。如图 6A 所示, 左侧的亚基是鲜味受体 T1R1 的部分, 结合域的空腔体积较小, 右侧的亚基是鲜味受体 T1R3 的部分, 结合域空腔体积较大, 鲜味受体的两个亚基通过铰链的方式相连, 连接受体的细胞外区域是“捕蝇域”(VFTD)。该空腔是小分子鲜味肽与鲜味受体结合的主要区域。一般采用拉式图谱评价鲜味受体同源建模的可靠性, 如图 6B 所示, 99.9% 的氨基酸残基在合理范围内, 其中最佳范围为 93.2%, 可接受范围为 6.7%。根据 90% 的关键性评价原则, 本研究建立的鲜味肽受体模型是可靠的。

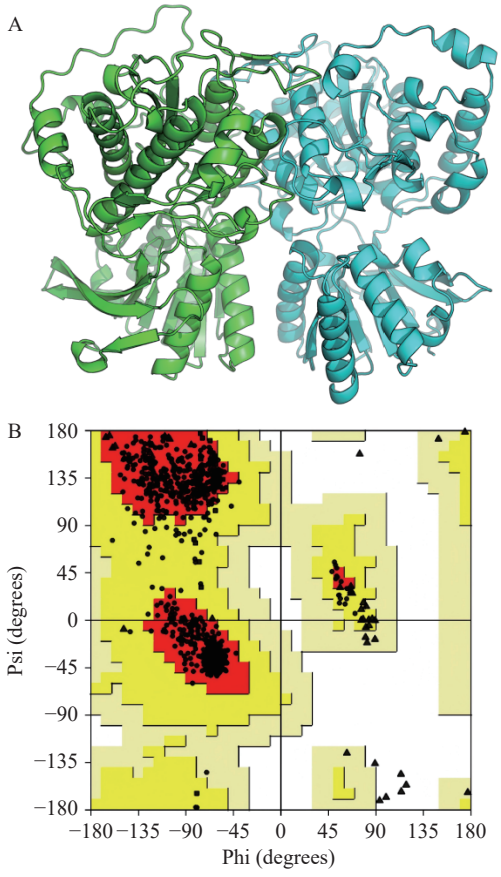


图 6 鲜味肽受体 T1R1/T1R3 同源模拟模型

Fig.6 Homology model of umami peptide receptor T1R1/T1R3

2.5.2 四条鲜味肽与受体的对接姿势分析 鲜味肽与鲜味受体 T1R1/T1R3 对接姿势如图 7 所示。从对接结果看, 筛选得到的鲜味肽 LRDW、DVF、APKIPEGE、GVWD 与鲜味肽受体 T1R1/T1R3 结合时, 都可以嵌入鲜味受体的 T1R3 亚基。出现这一现象的原因可能是鲜味受体 T1R3 亚基部分的结合域空腔体积较大, 而 T1R1 亚基的结合域空腔体积较小, 所需要的对接能量较大。有研究表明, T1R1-VFD 具有狭窄的结合腔, 而 T1R3-VFD 具有开放结构域, 可以与鲜味肽更好地结合[47−48], 因此, 肽链主要嵌入亚基 TIR3 与受体稳定结合。

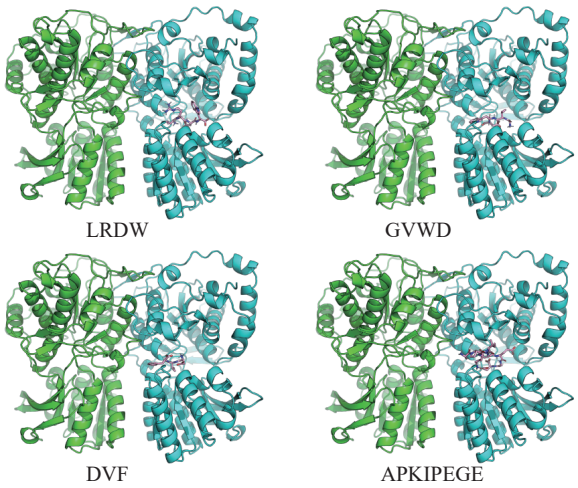


图 7 鲜味肽与鲜味受体 T1R1/T1R3 对接姿势

Fig.7 Docking posture of umami peptide and umami receptor T1R1/T1R3

2.5.3 对接能量分析 对接能量是量化分子间相互作用强度的关键指标, 通过对鲜味肽对接能量进行分析, 可以明确鲜味肽与鲜味受体 T1R1/T1R3 的结合稳定性, 4 条特征鲜味肽的对接能量如表 5 所示。

从表 5 可以看出, 4 条特征鲜味肽 LRDW、GVWD、DVF、APKIPEGE 的对接能量分别是−8.99、−8.47、−7.47、−8.59 kcal/mol。其中 LRDW 的对接能量最小, 其次是 APKIPEGE, DVF 的对接能量最大。之前的研究表明对接能量越低, 说明鲜味肽与鲜味受体 T1R1/T1R3 的对接形成的复合物越稳定。因此, 鲜味肽 LRDW 与鲜味肽受体 T1R1/T1R3 对接的复合物最稳定, 推测其鲜味强度可能最好。从所得结果分析可以看出, 较长的肽链可能与鲜味肽受体 T1R1/T1R3 的对接形成复合物更稳定, 即较长的

表 5　特征鲜味肽对接能量

Table 5　Docking energy of characteristic umami peptides

鲜味肽	对接能量(kcal/mol)
LRDW	−8.99
GVWD	−8.47
DVF	−7.47
APKIPEGE	−8.59

肽链更容易与鲜味肽受体 T1R1/T1R3 结合，此研究结果与何颖等[49]一致。与 Jia 等[23]对武定鸡鲜味肽 KE-4 和 LR-4 的两种鲜味肽的结合能相比，本研究中的 LRDW、GVWD、APKIPEGE 三条鲜味肽的结合能更低，说明这三条鲜味肽与鲜味受体 T1R1/T1R3 结合得更稳定，推测其可能具有更好的鲜味特性。

2.5.4　鲜味肽与受体 T1R1/T1R3 间形成的相互作用力及位点分析　如图 8 所示，图中深绿色虚线表示氢键作用、橙色和浅绿色虚线表示静电相互作用、浅紫色虚线表示疏水相互作用。

4 条鲜味肽与鲜味受体 T1R1/T1R3 的相互作用力及作用位点如图 8 所示，鲜味肽与鲜味受体的 T1R3 亚基部分存在着三种相互作用力：氢键、疏水相互作用和静电作用，其中氢键的作用次数最多，是肽与鲜味受体稳定结合的关键驱动力，其次是疏水相互作用和静电相互作用。Yang 等[50]的分子对接结果表明范德华力、静电作用、氢键和疏水相互作用是肽与受体稳定结合的作用力。Yang 等[51]的研究表明鲜味肽和鲜味受体之间的主要相互作用力是氢键和疏水相互作用，与本研究结果相似。对于短肽链来说，肽链的 C 端和 N 端与受体形成的稳定作用在鲜味的产生中发挥着关键作用。鲜味肽 LRDW 的 N 端 L 通过 Tyr218 与 T1R3 亚基形成疏水相互作用，通过 Gly168 与 T1R3 形成一个氢键，C 端的芳香族氨基酸 W 通过 Val277 和 Pro42 与亚基 T1R3 形成两个疏水相互作用；肽 GVWD 与亚基 T1R3 产生的相互作用最多的是氢键，其次是静电相互作用，其中 N 端的 G 和 C 端的 D 通过 Gln389、Ser170、Ala302、Glu301 残基与亚基 T1R3 形成氢键作用，肽段中的 W 通过 Met171、Glu148 与受体形成静电相互作用；肽 DVF 的 N 端 D 通过 Ser276、His145 与受体产生氢键，C 端的 F 与受体主要形成静电相互作用和氢键，肽段中 V 通过 Ala302 和 Tyr218 与受体形成两个疏水相互作用；肽 APKIPEGE 中 N 端的 A 通过 Leu245 与亚基 T1R3 形成 1 个疏水相互作用，通过 Arg180 与亚基形成 1 个氢键，C 端的 E 主要与亚基 T1R3 形成氢键，静电和疏水相互作用主要产生在肽段中的 K 和 I。综上所述，短肽中的氨基酸组成对肽与受体稳定结合促进鲜味形成十分重要，且肽段中特定位置的氨基酸残基与受体形成的相互作用力对鲜味的形成具有促进作用。

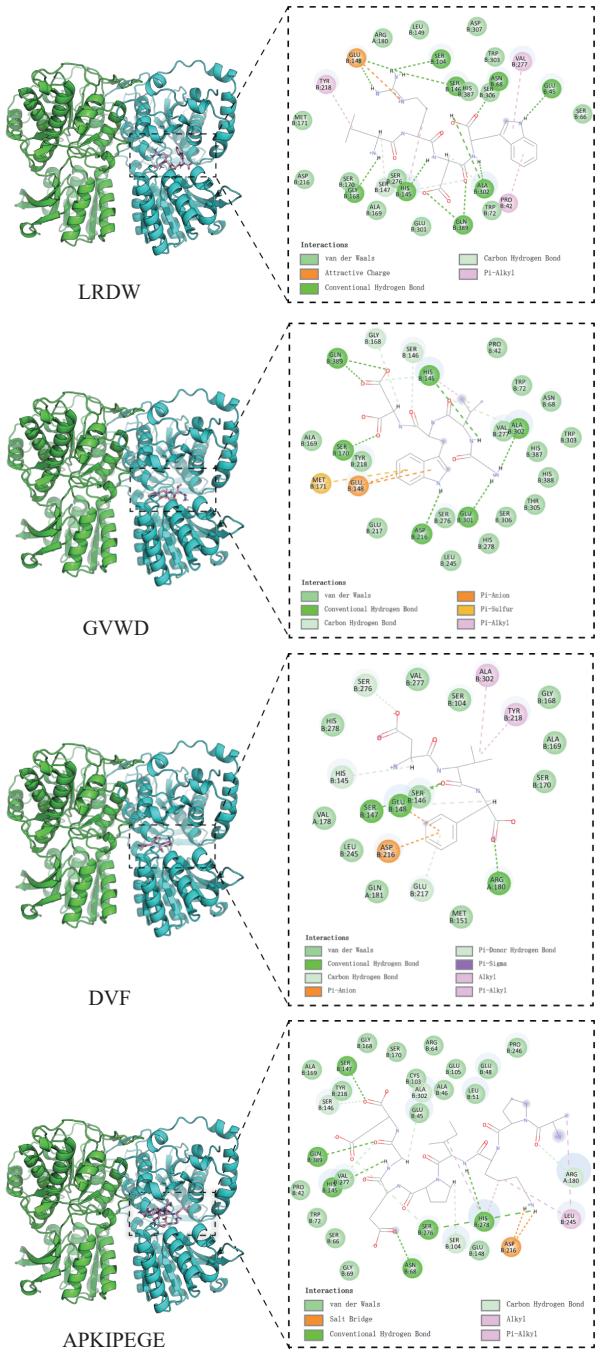


图 8　鲜味肽与鲜味受体 T1R1/T1R3 相互作用力及位点

Fig.8　Interaction force and site between umami peptide and umami receptor T1R1/T1R3

2.5.5　鲜味肽与受体 T1R1/T1R3 间相互作用的关键位点分析　如表 6 所示，鲜味肽 LRDW 与鲜味受体 T1R3 亚基结合的位点有 His145、Glu148、Ala302、Gln389 等，其中最关键的作用位点是 His145；鲜味肽 GVWD 与鲜味受体 T1R3 亚基结合的位点有 Gln389、His145、Ser170、Glu148 等，其中最关键的作用位点是 His145；鲜味肽 DVF 与鲜味受体 T1R3 亚基结合的位点有 Ser147、Glu148、Asp216 等，其中最关键的作用位点是 Glu148；鲜味肽 APKIPEGE 与鲜味受体 T1R3 亚基结合的位点有 His278、Leu245、Ser276、His145 等，其中最关键的作用位点

表 6 鲜味肽与鲜味受体 T1R1/T1R3 结合位点

Table 6 Binding sites between umami peptides and umami receptor T1R1/T1R3

结合位点	LRDW	GVWD	DVF	APKIPEGE
Asn68	+			+
Gln389	++	++		+
His145	++++	+++	+	++
Tyr218	+		+	
Ser146	+	++		+
Ser147	+		++	+
Ser170		++		
Ser104	+		+	
Ser276			+	++
Gly168		+		
Glu148	+++	++	+++	
Ala302	+++	++	+	+
Val277	+			
Pro42	+			
Glu45	+			
Met171		+		
Glu301		+		
Asp216		+	++	++
His278				+++
Leu245				++
Glu217			+	

注: “+”表示肽与位点之间发生结合; “+”的数量表示位点与肽的结合次数; 空白表示无结合。

是 His278。Yang 等[50] 研究的分子对接结果表明, 5 个多肽与 T1R1/T1R3 受体的 4 个关键氨基酸残基 Glu217、Glu148、Asp216 和 His145 结合。Liang 等[52] 的分子对接结果表明, 关键结合位点对对接结果至关重要, 如 T1R1 的 His71、Ser107 和 Glu301, 以及 T1R3 的 Asp216、Ser104、His145 和 Ala302。综上所述, 本研究中的四条鲜味肽与亚基 T1R3 稳定结合的关键位点是 His145、Glu148、Ala302 和 His278, 其中 His145、Glu148 和 Ala302 是已经被报道鲜味肽与受体结合的重要位点[50−51], 而位点 His278 为本研究新发现的结合位点, 对肽与受体间结合具有重要作用。

3 结论

本研究从云南本地滇中黄牛肉中鉴定出鲜味肽, 并融合机器学习虚拟预测和分子对接技术从滇中黄牛肉的水提物中挖掘了 4 条鲜味活性高、安全无毒的特征鲜味肽(LRDW、DVF、APKIPEGE 和 GVWD), 4 条特征鲜味肽主要通过氨基酸残基 His145、Glu148、Ala302 和 His278 嵌入亚基 T1R3 与受体稳定结合, 其中氢键、静电和疏水相互作用是驱动这种结合的主要作用力。本研究初步揭示了滇中黄牛肉中鲜味肽的组成及呈鲜机理, 为完善云南滇中黄牛肉风味体系提供理论基础, 也为食源性鲜味肽的构效关系研究和运用虚拟筛选技术提供理论依据, 后续需进一步对本研究挖掘的鲜味肽进行合成验证, 深度解析其呈味特性及增鲜增咸作用, 为食品减盐增鲜提供新策略。

© The Author(s) 2026. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

参考文献

[1] 文泽芳. 滇中牛公牛和昭通牛公牛屠宰性能及肉品质研究[D]. 昆明: 云南农业大学, 2024. [WEN Zefang. Study on slaughter performances and meat qualities in Dianzhong bulls and Zhaotong bulls[D]. Kunming: Yunnan Agricultural University, 2024.]

[2] 杨小双, 阚启鑫, 郭惠超, 等. 蚝油鲜味肽的分离纯化和结构鉴定[J]. 现代食品科技, 2025, 41(2): 94−107. [YANG Xiaoshuang, KAN Qixin, GUO Huichao, et al. Isolation, purification, and structural characterization of umami peptides from oyster sauce[J]. Modern Food Science & Technology, 2025, 41(2): 94−107.]

[3] 莫加利, 陈季旺, 刘静泊, 等. 风干武昌鱼中鲜味肽的分离纯化及二级结构分析[J]. 食品科学, 2019, 40(14): 23−28. [MO Jiali, CHEN Jiwang, LIU Jingbo, et al. Isolation, purification and secondary structure identification of umami peptide from air-dried and fermented *Megalobrama amblycephala*[J]. Food Science, 2019, 40(14): 23−28.]

[4] CHEN M, GAO X, PAN D, et al. Taste characteristics and umami mechanism of novel umami peptides and umami-enhancing peptides isolated from the hydrolysates of Sanhuang chicken[J]. European Food Research and Technology, 2021, 247: 1633−1644.

[5] 梁佳明. 牛肝菌鲜味肽及呈味特性研究[D]. 昆明: 昆明理工大学, 2021. [LIANG Jiaming. Study on umami peptides and taste characteristics of *Boletus*[D]. Kunming: Kunming University of Science and Technology, 2021.]

[6] YAO Yuexin, SHI Yanling, YI Juanjuan, et al. Three novel umami peptides from watermelon soybean paste and the revelation of the umami mechanism through molecular docking with T1R1/T1R3[J]. Food Bioscience, 2024, 59: 104155.

[7] YAMASAKI Y, MAEKAWA K. A peptide with delicious taste[J]. Agricultural and Biological Chemistry, 1978, 42(9): 1761−1765.

[8] HUANG Yan, DUAN Wen, WANG Linhan, et al. Orthogonal optimization of beef stir-fried process followed by isolation and identification of the umami peptides by consecutive chromatography and LC-Q-TOF/MS[J]. International Journal of Food Properties, 2019, 22(1): 1773−1785.

[9] KANG L, ALIM A, SONG H L. Identification and characterization of flavor precursor peptide from beef enzymatic hydrolysate by Maillard reaction[J]. Journal of Chromatography B, 2019, 1104: 176−181.

[10] LEE D, KIM H J, JO C. Novel umami-enhancing peptides of beef M. semimembranosus hydrolysates and interactions with the T1R1/T1R3 taste receptor[J]. Food Chemistry, 2025, 463: 141368.

[11] LI Chen, HUA Ying, PAN Daodong, et al. A rapid selection strategy for umami peptide screening based on machine learning and molecular docking[J]. Food Chemistry, 2023, 404: 134562.

[12] GU Yuxiang, ZHANG Jingcheng, NIU Yajie, et al. Screening and characterization of novel umami peptides in Cheddar cheese using peptidomics and bioinformatics approaches[J]. LWT, 2024, 194: 115780.

[13] MAO Jieqi, LIU Yinying, MA Dongna, et al. Virtual screening of umami peptides during sufu ripening based on machine learning and molecular docking to umami receptor T1R1/T1R3[J]. Food Chemistry, 2025, 486: 144684.

［14］ HAN Aiping, LIU Haosi, DAI Youxu, et al. Screening of umami peptides from fermented grains by machine learning, molecular docking and molecular dynamics simulation[J]. Food Bioscience, 2024, 62: 105536.
［15］ ZHANG Meixiu, WANG Xichang, LIU Yuan, et al. Isolation and identification of flavour peptides from Puffer fish (*Takifugu obscurus*) muscle using an electronic tongue and MALDI-TOF/TOF MS/MS[J]. Food Chemistry, 2012, 135(3): 1463−1470.
［16］ 杨敏, 梁双敏, 葛学海, 等. 茶花鸡 2 号鸡肉甜味肽与鲜味肽的提取鉴定与虚拟筛选[J]. 食品工业科技, 2025, 46(18): 322−331. ［YANG Min, LIANG Shuangmin, GE Xuehai, et al. Extraction, identification, and virtual screening of sweet peptides and umami peptides from chicken meat of Chahua chicken No. 2[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(18): 322−331.］
［17］ 高丙宏. 皮蛋蛋黄特征呈味物质研究及关键鲜味肽的分离鉴定[D]. 南昌: 南昌大学, 2022. ［GAO Binghong. Study on characteristic taste substances and isolation and identification of key umami peptides in preserved egg yolk[D]. Nanchang: Nanchang University, 2022.］
［18］ WANG Shunxi, TIAN Lei, LIU Haijun, et al. Large-scale discovery of non-conventional peptides in maize and *Arabidopsis* through an integrated peptidogenomic pipeline[J]. Molecular Plant, 2020, 13(7): 1078−1093.
［19］ HAO Li, FAN Yan, TIAN Qiaoji, et al. Current progress in umami peptides from blue foods: Preparation, screening, evaluation, synergistic effects, and taste mechanism[J]. Trends in Food Science & Technology, 2024, 149: 104567.
［20］ CHAROENKWAN P, NANTASENAMAT C, HASAN M M, et al. UMPred-FRL: A new approach for accurate prediction of umami peptides using feature representation learning[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(23): 13124.
［21］ CUI Zhiyong, ZHANG Zhiwei, ZHOU Tianxing, et al. A TastePeptides-Meta system including an umami/bitter classification model Umami_YYDS, a TastePeptidesDB database and an open-source package Auto_Taste_ML[J]. Food Chemistry, 2023, 405: 134812.
［22］ IWANIAK A, MINKIEWICZ P, DAREWICZ M, et al. BIOPEP database of sensory peptides and amino acids[J]. Food Research International, 2016, 85: 155−161.
［23］ JIA Rong, YANG Yuan, LIAO Guozhou, et al. Excavation, identification and structure-activity relationship of heat-stable umami peptides in the processing of Wuding chicken[J]. Food Chemistry, 2024, 430: 137051.
［24］ SUN Y X, HUANG Y X, LI F L, et al. IVSPlat 1.0: An integrated virtual screening platform with a molecular graphical interface[J]. Chemistry Central Journal, 2012, 6: 2.
［25］ WANG Y Z, ZHENG W T, WANG D D, et al. Identification and taste presentation characteristics of umami peptides from hybrid pork duroc×(Gaoligongshan×Saba) based on peptidomics, machine learning, molecular docking, and molecular dynamics simulation[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2025, 73(39): 24917−24931.
［26］ TROTT O, OLSON A J. AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading[J]. Journal of Computational Chemistry, 2010, 31(2): 455−461.
［27］ RAVINDRANATH P A, FORLI S, GOODSELL D S, et al. AutoDockFR: Advances in protein-ligand docking with explicitly specified binding site flexibility[J]. PLoS Computational Biology, 2015, 11(12): e1004586.
［28］ 徐亚光, 杜传来. 鲜味和鲜味肽的研究进展[J]. 赤峰学院学报(自然科学版), 2024, 40(2): 6−13. ［XU Yaguang, DU Chuanlai. Research progress of umami and umami peptides[J]. Journal of Chifeng University (Natural Science Edition), 2024, 40(2): 6−13.］
［29］ AN J X, WICAKSANA F, WOO M W, et al. Current food processing methods for obtaining umami peptides from protein-rich foods: A review[J]. Trends in Food Science & Technology, 2024, 153: 104704.
［30］ YANG Zheng, LI Wanying, YANG Ran, et al. Exploring novel umami peptides from bovine bone soups using nano-HPLC-MS/MS and molecular docking[J]. Foods, 2024, 13(18): 2870.
［31］ 付英杰, 张启东, 范武, 等. 组学技术在食品风味解析中的应用研究进展[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2025, 46(3): 135−147. ［FU Yingjie, ZHANG Qidong, FAN Wu, et al. Research progress on the applications of omics technologies in food flavor analysis[J]. Journal of Henan University of Technology (Natural Science Edition), 2025, 46(3): 135−147.］
［32］ 孙冰, 赵彦巧, 冯子瑞, 等. 分子对接技术在食品领域的研究进展[J]. 粮食与油脂, 2023, 36(12): 17−21. ［SUN Bing, ZHAO Yanqiao, FENG Zirui, et al. Research progress of molecular docking technology in food field[J]. Cereals & Oils, 2023, 36(12): 17−21.］
［33］ 林萌莉. 鲜味肽功能及制备安全性研究[D]. 北京: 北京理工大学, 2016. ［LIN Mengli. Safe production of umami peptides and their function analysis[D]. Beijing: Beijing Institute of Technology, 2016.］
［34］ 阮仕艳. 罗非鱼下颌水提鲜味肽的呈味特性及其作用机制研究[D]. 昆明: 昆明理工大学, 2021. ［RUAN Shiyan. Study on the flavoring characteristics and mechanism of tasty peptides extracted from tilapia mandibular water[D]. Kunming: Kunming University of Science and Technology, 2021.］
［35］ 刘桃妹. 风味增强肽及其应用研究[J]. 江苏调味副食品, 2014(3): 5−8. ［LIU Taomei. Flavor enhancing peptide and its application[J]. Jiangsu Condiment and Subsidiary Food, 2014(3): 5−8.］
［36］ FU Baifeng, XU Xianbing, ZHANG Xin, et al. Identification and characterisation of taste-enhancing peptides from oysters (*Crassostrea gigas*) via the Maillard reaction[J]. Food Chemistry, 2023, 424: 136412.
［37］ NUGRAHA R, KURNIAWAN F, ABDULLAH A, et al. Antihypertensive and antidiabetic drug candidates from milkfish (*Chanos chanos*): Identification and characterization through an integrated bioinformatic approach[J]. Foods, 2024, 13(16): 2594.
［38］ YU Haixia, ZHAO Shuai, YI Junjie, et al. Identification of novel umami peptides in *Termitornyces albuminosus* (Berk) Heim soup by *in silico* analyses combined with sensory evaluation: Discovering potential mechanism of umami taste formation with molecular perspective[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2023, 71(45): 17243–1725
［39］ 司蕊. 马氏珠母贝肉提取物呈味特性的比较研究[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2021. ［SI Rui. Comparative study on flavor characteristics of *Pinctada martensii* extracts[D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2021.］
［40］ RUAN Shiyan, SUN Liping, SUN Xiaodong, et al. Novel umami peptides from tilapia lower jaw and molecular docking to the taste receptor T1R1/T1R3[J]. Food Chemistry, 2021, 362: 130249.

［41］ WANG Chunxin, WU Yanyan, XIANG Huan, et al. In-depth discovery and taste presentation mechanism studies on umami peptides derived from fermented sea bass based on peptidomics and machine learning[J]. Food Chemistry, 2024, 448: 138999.
［42］ 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. ［ZHANG Meixiu, WANG Xichang, LIU Yuan. Research progress in flavor peptides in foods and corresponding taste mechanisms[J]. Food Science, 2012, 33(7): 320−326.］
［43］ LI Xuepeng, XIE Xiaoxia, WANG Jinxiang, et al. Identification, taste characteristics and molecular docking study of novel umami peptides derived from the aqueous extract of the clam *Meretrix meretrix* Linnaeus[J]. Food Chemistry, 2020, 312: 126053.
［44］ 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, 2006, 71(3): 277−283.
［45］ 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, 35(6): 357−363. ［MIAO Xiaodan, LIU Yuan, QIU Chunyang, et al. Research progress in the structure-activity relationship of flavor peptides[J]. Science and Technology of Food Industry, 2014, 35(6): 357−363.］
［46］ 汪海燕. 牛骨源咸味肽的分离鉴定及呈味机制研究[D]. 杭州: 浙江农林大学, 2024. ［WANG Haiyan. Study on the isolation, identification, and taste mechanism of salty peptides derived from bovine bone[D]. Hangzhou: Zhejiang A & F University, 2024.］
［47］ ZHANG Yue, GAO Xinchang, PAN Daodong, et al. Isolation, characterization and molecular docking of novel umami and umami-enhancing peptides from *Ruditapes philippinarum*[J]. Food Chemistry, 2021, 343: 128522.
［48］ ZHU Wenhui, LUAN Hongwei, BU Ying, et al. Identification, taste characterization and molecular docking study of novel umami peptides from the Chinese anchovy sauce[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2021, 101(8): 3140−3155.
［49］ 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. ［HE Ying, LÜ Donglin, LIAO Guozhou, et al. Isolation, identification and taste characteristics of umami peptides from Wuding chicken meat[J]. Food Science, 2022, 43(22): 232−238.］
［50］ YANG Chaohui, GE Xuehai, GE Changrong, et al. Taste characterization and molecular docking study of novel umami flavor peptides in Yanjin black bone chicken meat[J]. Food Chemistry, 2025, 464: 141695.
［51］ YANG Fan, CAO Rui, FU Anzhen, et al. Investigation of umami peptides and taste mechanisms in *Agrocybe aegerita*: Based on sensory evaluation and molecular docking techniques[J]. Food & Function, 2024, 15(13): 7081−7092.
［52］ LIANG Li, DUAN Wen, ZHANG Jingcheng, et al. Characterization and molecular docking study of taste peptides from chicken soup by sensory analysis combined with nano-LC-Q-TOF-MS/MS[J]. Food Chemistry, 2022, 383: 132455.