

鱿鱼预制菜炒制过程中氨基酸代谢物的差异

许丹^{1,3}, 陈云云^{4*}, 朱剑^{1,3}, 沈虹力⁴, 张小军^{1,2,3}, 邓尚贵²

¹浙江省海洋水产研究所 浙江舟山 316021

²浙江海洋大学食品与医药学院 浙江舟山 316021

³浙江省海洋渔业资源可持续利用技术研究重点实验室 浙江舟山 316021

⁴中国水产舟山海洋渔业有限公司 浙江舟山 316000

摘要 以不同炒制时间(0,5,15 min)的鱿鱼预制菜为研究对象,基于氨基酸靶向代谢组学方法分析炒制过程中鱿鱼预制菜氨基酸代谢产物的变化,并对氨基酸代谢产物进行多元统计和代谢通路分析。结果表明,鱿鱼预制菜炒制过程中共检出 23 种氨基酸代谢物。随着炒制时间的延长,氨基酸差异代谢物的种类显著增加,3 个比较组(S1vsS3、S1vsS5 和 S3vsS5)鱿鱼预制菜的氨基酸差异代谢物分别有 9,10,12 种,其中,共有差异代谢物 3 个,分别为 γ -氨基丁酸、丝氨酸和天冬酰胺。对 3 个比较组氨基酸差异代谢物的代谢途径的分析表明,分别富集到 9,11,13 条氨基酸代谢通路,其中共有通路为氨基酸代谢通路 5 条,氨基酸降解通路 1 条,氨基酸生物合成通路 2 条,这些代谢途径有利于鱿鱼预制菜风味和营养成分的形成。

关键词 鱿鱼预制菜; 炒制; 氨基酸靶向代谢组学; 差异代谢物; 代谢通路

文章编号 1009-7848(2024)12-0362-10 DOI: 10.16429/j.1009-7848.2024.12.033

鱿鱼是一种高蛋白、低脂肪的海产品,富含氨基酸,具有预防动脉粥样硬化、心血管疾病等多种生理功效^[1-2]。目前,对鱿鱼的研究大多集中在资源分布^[3]、营养品质^[4]等方面,而对于近年来愈演愈烈的预制菜研究甚少,特别是对鱿鱼预制菜的研究以及在加工过程中氨基酸的变化研究更少。

鱿鱼预制菜在炒制过程中,蛋白质会发生降解生成短肽和氨基酸,而氨基酸作为蛋白质的分解产物是评价水产品营养品质的重要指标,是水产品中重要的滋味成分和气味前体物质,同时还能协同食品体系中其它成分影响其整体风味^[5-6]。此外,氨基酸的组成和含量是维持人体生长、发育和代谢的重要营养素,对机体的代谢起重要的调节作用^[7-8]。鱿鱼在炒制过程中发生的热诱导反应产生的风味前体物质,可参与滋味形成、脂质降解和美拉德反应,对鱿鱼预制菜风味的形成具有促进作用^[9]。吕聿燕^[10]研究发现蟹味菇在煮制过程中

氨基酸总量呈先降低后不断增加直至保持稳定的趋势。王琳涵等^[11]研究发现鸡汤样品中 17 种氨基酸含量随煮制时间的延长而逐渐增加,且对天冬氨酸含量影响最为显著。

目前关于鱿鱼预制菜中氨基酸组分研究不多。采用氨基酸靶向代谢组学技术能够高通量精准定性、定量样本中的代谢成分,可以全面分析代谢产物含量变化,剖析样品之间因加工方式等不同而带来的差异代谢物的变化情况^[12],被广泛用于检测食品营养与风味物质的多样性和积累量^[13-14]。裴峰等^[15]研究了梭子蟹冷藏过程中营养物质和代谢物质的变化规律。Mabuchi 等^[16]通过代谢组学技术研究黄鱼肌肉在冷藏过程中的代谢物变化规律。刘梦等^[17]运用非靶向代谢组学技术分析牛肉干法成熟过程中代谢产物的变化。

本文以不同炒制时间的鱿鱼预制菜为研究对象,基于氨基酸靶向代谢组学技术分析炒制前、后氨基酸代谢组分的变化,多元统计分析氨基酸差异代谢物的代谢通路,为鱿鱼预制菜的开发与推广提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

鱿鱼预制菜,中国水产舟山海洋渔业有限公

收稿日期: 2023-12-16

基金项目: 舟山市重大产业攻关项目(2023C03006);舟山市“揭榜挂帅”(重点研发)科技攻关项目(2022ZD004);浙江省科研院所专项(HYS-CZ-202307)

第一作者: 许丹,女,硕士,工程师

通信作者: 陈云云 E-mail: 1191990542@qq.com

司;金龙鱼食用植物调和油,浙江益海嘉里食品工业有限公司。

23 种氨基酸标准品(甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、酪氨酸、天冬氨酸、组氨酸、谷氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、精氨酸、丝氨酸、苏氨酸、肌酸、脯氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、 γ -氨基丁酸、鸟氨酸、氨基乙磺酸)和 2 种稳定同位素标记标准品(苯丙氨酸-d2 和 L-丙氨酸-d4),美国 Sigma-Aldrich 公司;乙酸铵(分析纯),美国 Sigma-Aldrich 公司;甲醇、乙腈、甲酸(均为色谱纯),美国 Thermo-Fisher 公司;超纯水 Mill-Q,美国 Millipore 公司。

1.2 仪器与设备

GB204 电子天平,瑞士梅特勒托利多公司;QTRAP 6500+质谱仪,美国 ABSciex 公司;ExionLCTMAD 液相色谱,美国 ABSciex 公司;双立人不粘锅,上海双立人亨克斯有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 鱿鱼预制菜的制备 将自然解冻后的鱿鱼预制菜约 100 g 置于炒锅中,炒锅明火加热至 120 °C 开启计时,炒制时间分别为 0, 5, 15 min, 炒制前后样品分别命名为 S1、S3、S5。炒制过程须不断翻炒防止受热不均。

1.3.2 氨基酸代谢物提取 用液氮分别研磨 S1、S3、S5, 称取 100 mg 样本加入 900 μ L 超纯水中, 涡旋混匀稀释至 50 倍, 取 50 倍稀释样本 50 μ L,

加入 200 μ L 含混合内标的沉淀剂(乙腈:甲醇=1:1), 涡旋混匀, 冰上静置 30 min, 12 000 r/min 4 °C 离心 10 min, 取上清液进行 LC-MS 分析。

1.3.3 色谱条件 色谱条件: 色谱柱为 ACQUITY UPLC BEH Amide(2.1 mm \times 100 mm, 1.7 μ m)。

流动相:A 相是含 0.1% 甲酸的 5 mmol/L 乙酸铵水溶液, B 相是含 0.1% 甲酸的乙腈溶液; 进样量 2 μ L; 流速 0.4 mL/min, 柱温 40 °C。洗脱梯度如表 1 所示。

表 1 色谱洗脱梯度

时间/min	A/%	B/%
0.0	20	80
0.5	20	80
2.0	30	70
3.5	30	70
4.0	55	45
6.0	55	45
6.01	20	80
9.0	20	80

质谱条件:电喷雾电离源(ESI), 正离子电离模式, 温度为 550 °C, 电压为 5 500 V; 气帘气 35 psi, 雾化气 50 psi, 辅助气 60 psi。离子对要求根据优化后的去簇电压(DP)和碰撞能(CE)进行扫描和检测。具体检测参数见表 2。

表 2 氨基酸的质谱检测参数

名称	Q1	Q3	RT/min	DP	CE
1 甘氨酸	76.1	30.1	3.31	32	15
2 丝氨酸	106	60.1	3.56	41	14
3 甲硫氨酸	150.1	56.1	2.31	35	23
4 脯氨酸	116	70.1	2.53	35	20
5 亮氨酸	132.1	86.3	1.93	35	13
6 肌酸	132.1	90	2.83	60	17
7 谷氨酸	148	131.3	3.28	40	14
8 苯丙氨酸	166	120.2	1.92	36	20
9 赖氨酸	147.2	84.1	5.03	35	23
10 γ -氨基丁酸	104.2	86.9	2.26	45	14
11 精氨酸	175.1	158.2	4.87	48	17
12 色氨酸	205.1	188.1	1.96	50	13
13 酪氨酸	182.1	165.2	2.53	35	13
14 组氨酸	156	110.2	4.94	40	19

(续表 2)

	名称	Q1	Q3	RT/min	DP	CE
15	缬氨酸	118.1	72.2	2.4	50	13
16	鸟氨酸	133.2	70.1	5.09	38	23
17	丙氨酸	90	43.9	3.01	30	13
18	氨基乙磺酸	126	108	2.62	40	15
19	异亮氨酸	132.1	86.3	2.07	35	13
20	天冬氨酸	134.1	88.1	3.69	50	13.59
21	苏氨酸	120.1	74.1	3.21	80	13.64
22	天冬酰胺	133	87	3.61	50	14
23	谷氨酰胺	147.1	130	3.48	40	13
24	苯丙氨酸-d2	168.1	122.1	1.91	35	20
25	L-丙氨酸-d4	93.9	48.1	3.01	40	13.8

注:Q1 为母离子,Q3 为子离子,RT 为保留时间,DP 为去簇电压,CE 为碰撞电压。

1.4 数据处理

采用多反应监测模式(MRM)处理质谱数据就及定量分析,对代谢物进行峰校正和峰提取,每个色谱峰的峰面积代表相应物质的相对含量。对 3 组鱿鱼预制菜样本代谢物进行比较分析,分别记为 S1vsS3、S1vsS5 和 S3vsS5;对鉴定的代谢物进行多元统计分析,从而得到 3 组样本的代谢物特征。所有数据经处理后用偏最小二乘法判别分析模型(PLS-DA)模型进行分析,将 $FC \geq 2$ 或 $FC \leq 0.833$, $VIP \geq 1$, $P \leq 0.05$ 的代谢物定义为差异代谢物,同时将相应的差异代谢物提交至 KEGG 数据库网站,利用 KEGG 数据库和通路库进行差异代谢物的注释和分析。

2 结果与分析

2.1 氨基酸代谢物和多元统计分析

S1、S3 和 S5 组各鉴定出 23 种氨基酸代谢物。如图 1 所示,分别为甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、酪氨酸、天冬氨酸、组氨酸、谷氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、精氨酸、丝氨酸、苏氨酸、肌酸、脯氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、 γ -氨基丁酸、鸟氨酸和氨基乙磺酸。其中,天冬氨酸、酪氨酸、丙氨酸、苯丙氨酸等为鲜味氨基酸,丝氨酸、脯氨酸等为甜味氨基酸,组氨酸为苦味氨基酸,这些呈味氨基酸均有助于鱿鱼预制菜滋味的形成^[17]。 γ -氨基丁酸,英文简称 GABA,是极具生物活性的一种功能性非蛋白质氨基酸^[18],具有降血压,调节脑血管的作用,其具有类似于谷

氨酸的甜味,能够增强鱿鱼预制菜风味;缬氨酸是一种支链氨基酸,对水产动物具有营养调控作用,并且可以综合调控鱼类蛋白质的代谢^[19];氨基乙磺酸又名牛磺酸,是鱿鱼体内含量最为丰富的重要组分^[20],也是人体重要的必需氨基酸之一,可增加细胞抗氧化、抗自由基损伤等功能,同时具有一定的抗肿瘤活性^[21]。肌酸是一种在肌肉蛋白质代谢过程中起到重要作用的氨基酸衍生物,可促进 ATP 的合成,并可以通过调节其它氨基酸的含量,从而间接改变营养物质的流向^[22];含量较高的氨基酸包括谷氨酸、精氨酸、氨基乙磺酸、亮氨酸和丙氨酸等 5 种氨基酸,其中又以谷氨酸含量最高,谷氨酸是鲜味较强的氨基酸,是能参与多种生理活性物质的重要氨基酸,也是人体所需要的重要

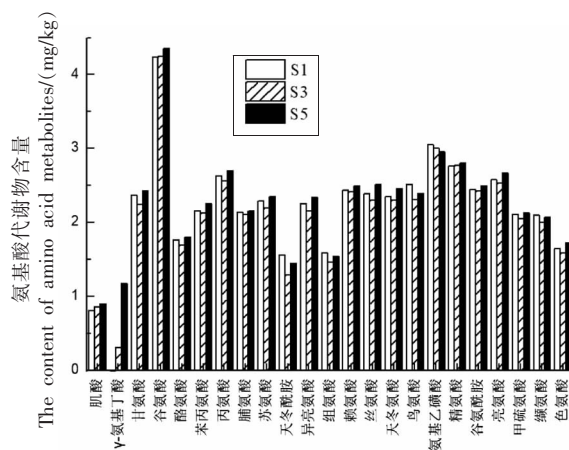


图 1 不同组间氨基酸代谢物含量

Fig.1 Amino acid metabolite content between different groups

氨基酸^[23]。

研究发现,S1、S3 和 S5 组均可鉴定出这 23 种氨基酸代谢物,但这些代谢物的含量有一定的增加或减少,表明炒制对鱿鱼预制菜氨基酸代谢物的组成影响不大,主要影响氨基酸代谢物的含量,进而影响鱿鱼预制菜的品质和风味。此外,大多数氨基酸代谢物含量在炒制过程中(0→5 min→15 min)呈先下降后上升的趋势,此波动变化一方面可能是由于在炒制过程中氨基酸代谢与合成的动态过程导致^[17]。另一方面可能是由于前期部分氨基酸参加美拉德反应,发生缩合或生成挥发性物质使其含量降低,而后期炒制过程中的高温,造成鱿鱼预制菜水分蒸发、蛋白质降解,致使氨基酸含量增加^[24-25]。

主成分分析法(PCA)是近年来各行业使用最频繁的多元分析技术,是一种对多变量进行降维、简化、定量分析的方法,能客观合理地评价原始数据,既可以避免主观因素的影响,又可以提高数据的分析效率^[26]。通过对样本进行 PCA 分析,可用来判断各代谢组之间分离趋势和差异度^[27]。为初步分析 S1vsS3、S1vsS5 和 S3vsS5 样品之间的代谢差异及样品间差异度,样本采用 PCA 法进行处理分析,结果如图 2 所示,其中 PC1 贡献率为 69.6%,PC2 贡献率为 19.8%,从图中可以看出 S1、S3 和 S5 组中的 6 个重复之间的氨基酸代谢物分离程度角度,重复性较好,且 S1 和 S3、S5 的氨基酸代谢物分离趋势明显,表明炒制组(S3 和 S5)和未炒

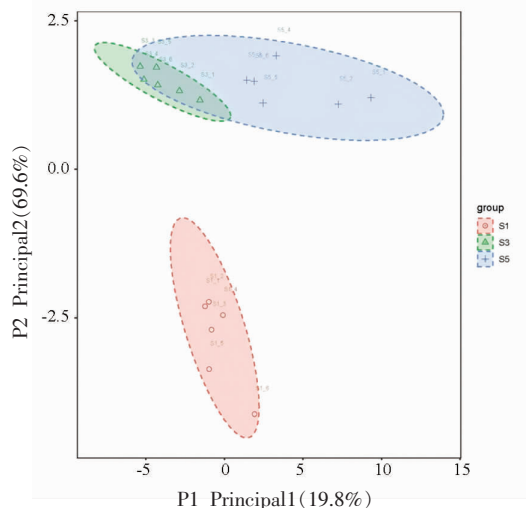
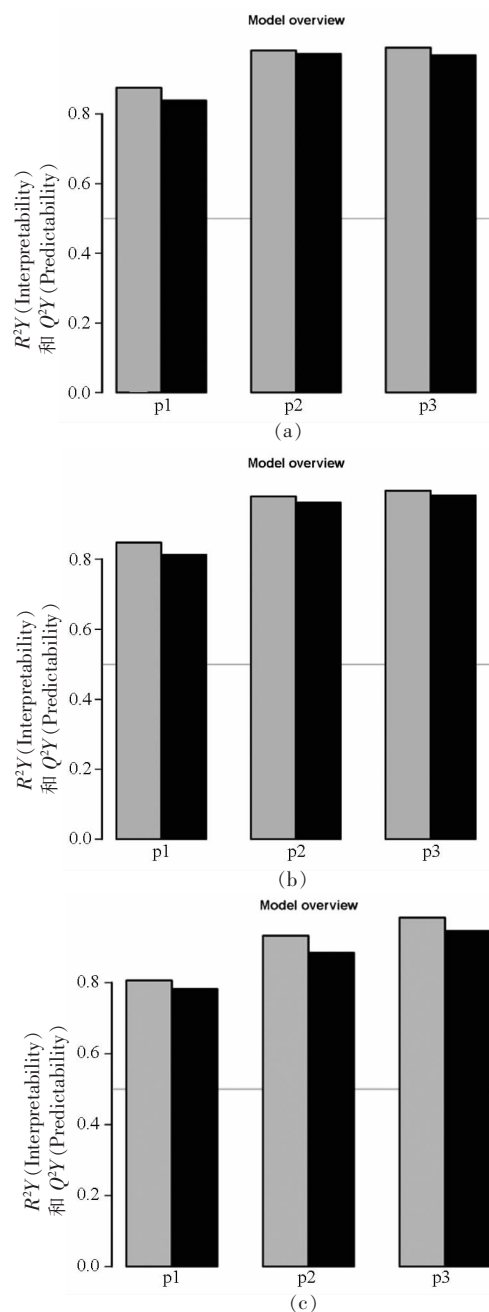


图 2 主成分分析散点图

Fig.2 Principal component analysis of scatter plot

制组(S1)之间的氨基酸代谢物存在明显差异。

为准确识别鱿鱼预制菜炒制过程中的差异代谢产物,使用 PLS-DA 模型对样品进行进一步分析,研究分别建立了 S1vsS3、S1vsS5 和 S3vsS5 3 组 PLS-DA 模型,3 组模型的 R^2Y (可解释性)和 Q^2Y (可预测性)均 >0.8 (图 3),表明模型具有良好的可解释性和可预测性,可进行差异代谢物的筛选分析^[27]。



注:(a)S1vsS3、(b)S1vsS5、(c)S3vsS5,下同。

图 3 PLS-DA 模型验证图

Fig.3 PLS-DA model validation diagram

2.2 氨基酸差异代谢物筛选及分析

氨基酸差异代谢物数量如图4所示,3个鲑鱼预制菜比较组筛选到的氨基酸差异代谢物分别有9,10,12种。S1vsS3含有9种氨基酸差异代谢物,其中1种上调(γ -氨基丁酸),8种下调(甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、鸟氨酸、丝氨酸、苏氨酸、缬氨酸和天冬酰胺);S1vsS5含有10种氨基酸差异代谢物,其中7种上调(γ -氨基丁酸、天冬氨酸、肌酸、谷氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸和丝氨酸),3种下调(鸟氨酸、氨基乙磺酸和天冬酰胺);S3vsS5含有12种氨基酸差异代谢物,其中12种均为上调(丙氨酸、 γ -氨基丁酸、天冬氨酸、谷氨酸、甘氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸和天冬酰胺)。

根据图5a氨基酸差异代谢物韦恩图可知,S1vsS3、S1vsS5和S3vsS5间的共有差异代谢物有3个,分别为 γ -氨基丁酸、丝氨酸和天冬酰胺,如图5b所示, γ -氨基丁酸和丝氨酸在S5中含量最高,分别是S1的15.4、1.34倍和S3的7.32、1.62倍,且 γ -氨基丁酸一直呈现上调状态,表达量增

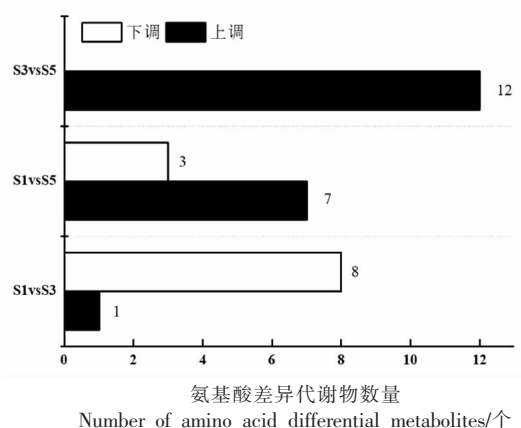


图4 氨基酸差异代谢物数量

Fig.4 Number of amino acid differential metabolites

加;天冬酰胺在S1中含量最高,分别是S3的1.88倍和S5的1.30倍,本研究发现,3种组间共有差异代谢物含量在S3中均为最低。此外,S1vsS3组间有一个特有差异代谢物缬氨酸,S1中的含量为S3的1.25倍,S1vsS5组间有一个特有差异代谢物氨基乙磺酸,S1中的含量为S5的1.26倍。

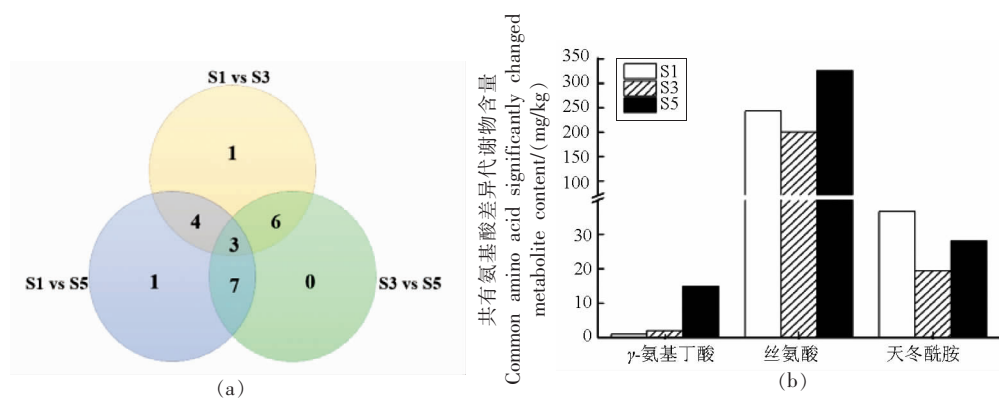


图5 氨基酸差异代谢物韦恩图(a)和共有氨基酸差异代谢物含量图(b)

Fig.5 Amino acid significantly changed metabolites Venn diagram (a) and common amino acid significantly changed metabolite content (b)

2.3 氨基酸差异代谢物相关性分析

差异代谢物的相关性分析是对2个或2个以上具有相关性的可变因素进行分析,测量2个可变因素之间的相关性程度的分析方法^[28]。代谢物的相关性代表了代谢物之间变化的协同作用,相同的变化趋势表明正相关,反之亦然(如图6所示,红色表示正相关,蓝色表示负相关),S1vsS3组间氨基酸差异代谢物 γ -氨基丁酸与甘氨酸、组氨

酸、异亮氨酸、鸟氨酸、丝氨酸、苏氨酸、缬氨酸、天冬酰胺等8个氨基酸差异代谢物间呈负相关,其余组间差异代谢物呈正相关;S1vsS5组间氨基酸差异代谢物亮氨酸与肌酸、天冬氨酸、丝氨酸、苯丙氨酸、谷氨酸和 γ -氨基丁酸等6个氨基酸差异代谢物间呈正相关,天冬氨酸与鸟氨酸、氨基乙磺酸等2个氨基酸差异代谢物间呈正相关,其余组间差异代谢物呈负相关;S3vsS5组间氨基酸差异

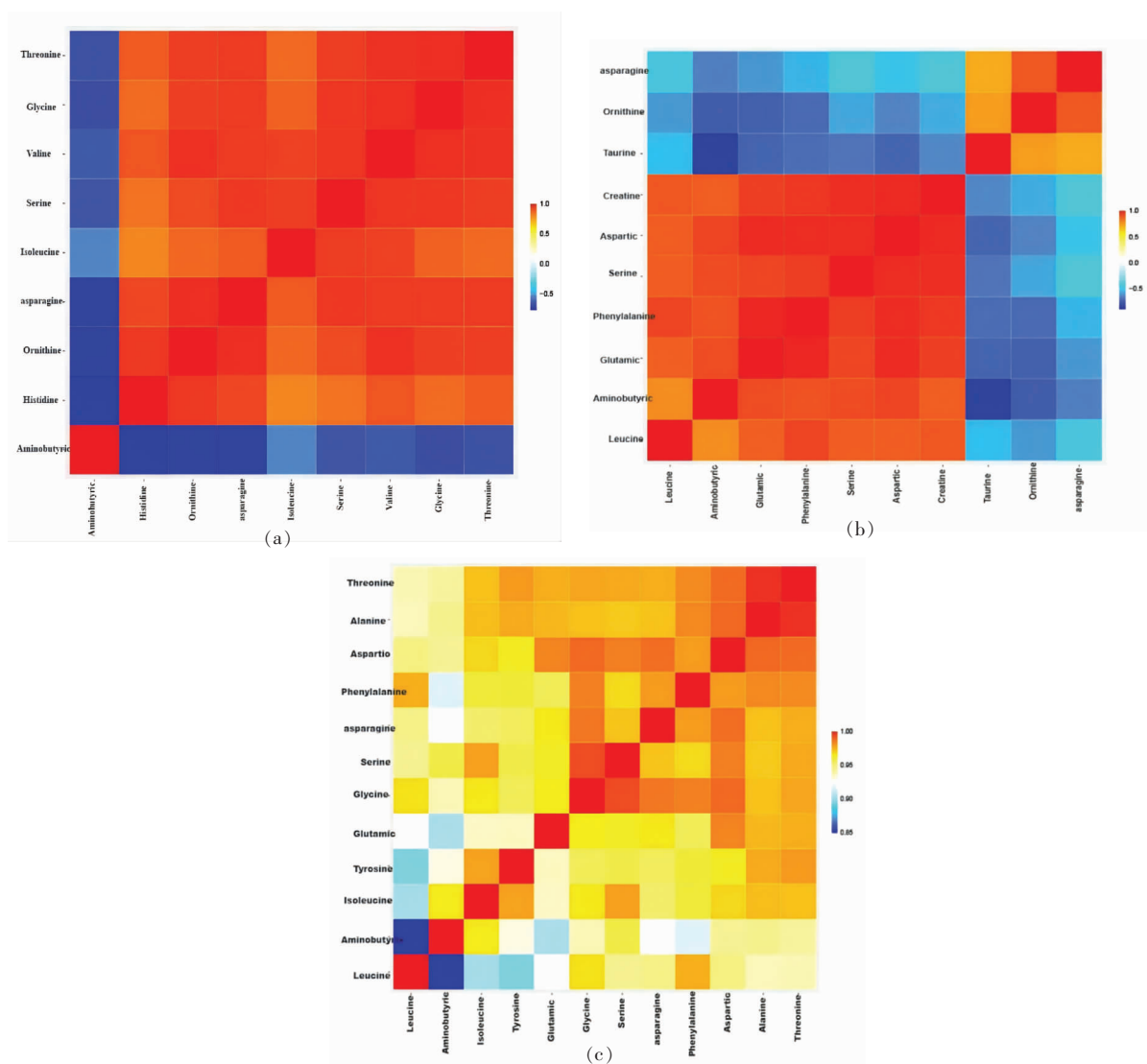


图 6 氨基酸差异代谢物相关性热图

Fig.6 Heat map of amino acid significantly changed metabolites correlation

代谢物均呈正相关。

2.4 KEGG 代谢通路分析

KEGG 数据库可提供氨基酸等代谢及有机物降解的可能途径,帮助了解氨基酸代谢物在生物体内的互相作用,形成不同通路的情况^[29]。为进一步了解鱿鱼预制菜炒制代谢途径中的氨基酸差异代谢物的变化,对 S1、S3 和 S5 比较筛选出的氨基酸差异代谢物映射到 KEGG 通路上进行注释和富集分析。KEGG 数据库对鱿鱼预制菜炒制过程中的差异代谢物质进行通路注释分析结果如图 7 所示。S1vsS3、S1vsS5 和 S3vsS5 比较的差异代谢物主要分别富集到 9、11、13 条氨基酸代谢通路,主

要分为三大类:氨基酸代谢通路、氨基酸生物合成通路和氨基酸降解通路,3 个比较组间相同通路共有 8 条,分别为氨基酸代谢通路 5 条(甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢,精氨酸和脯氨酸代谢,丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢,组氨酸代谢,半胱氨酸和甲硫氨酸代谢),氨基酸降解通路 1 条(赖氨酸、亮氨酸和异亮氨酸降解),氨基酸生物合成通路 2 条(缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸生物合成,精氨酸生物合成)。

氨基酸差异代谢物与代谢路径整合后如图 8 所示,图中红色加粗表示氨基酸差异代谢物。氨基酸差异代谢物数量比较多的代谢途径为精氨

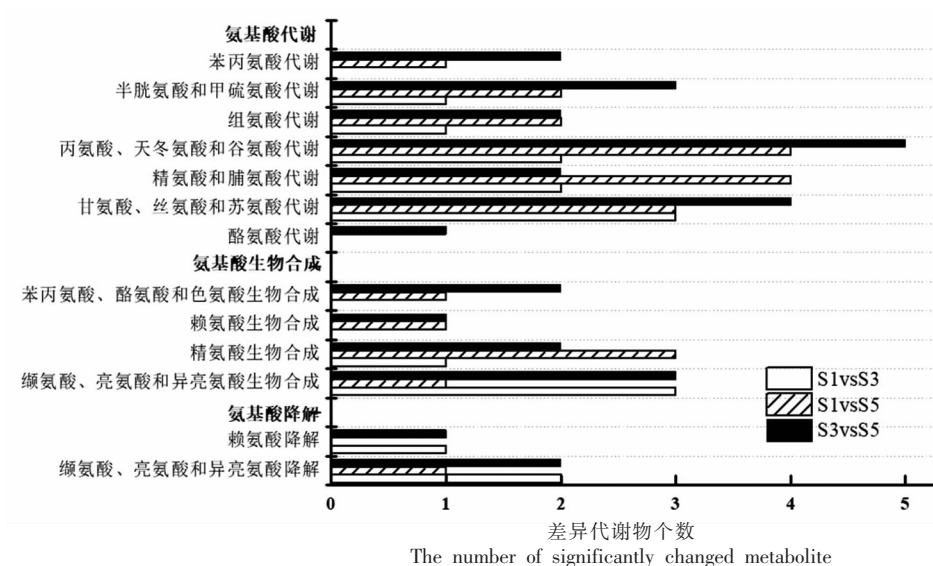


图7 氨基酸差异代谢物 KEGG 代谢通路分析

Fig.7 KEGG pathway analysis of amino acid significantly changed metabolites

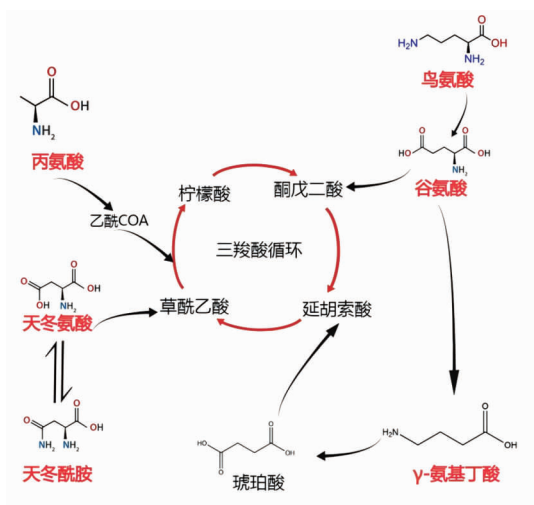


图8 鱿鱼预制菜炒制过程中氨基酸差异代谢物途径分析

Fig.8 Metabolic pathway analysis of amino acid significantly changed metabolites in squid precooked dishes during frying process

酸和脯氨酸代谢, 丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢, 主要参与的差异代谢物有6种, 分别为谷氨酸、鸟氨酸、 γ -氨基丁酸、天冬酰胺、天冬氨酸和丙氨酸。丙氨酸和天冬氨酸可在丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢途径中生成, 谷氨酸和鸟氨酸可在精氨酸和脯氨酸代谢途径中生成, 天冬酰胺可由天冬氨酸转化, γ -氨基丁酸可由谷氨酸转化, 又可以

通过转化为琥珀酸, 最终进入三羧酸循环(糖类、脂类和蛋白质的最终代谢通路), 该循环有助于氨基酸、糖和其他物质的产生, 从而促进鱿鱼预制菜的风味形成及营养价值提升。

3 结论

以不同炒制时间(0, 5, 15 min)的鱿鱼预制菜为研究对象, 基于氨基酸靶向代谢组学方法分析炒制过程中鱿鱼预制菜氨基酸代谢产物的变化情况, 通过分析, 鱿鱼预制菜炒制过程中共检测到23种氨基酸代谢物, 随着炒制时间的延长, 氨基酸差异代谢物的种类显著增加, 3个鱿鱼预制菜比较组筛选到的氨基酸差异代谢物分别有9, 10, 12种, 且含有3个共有差异代谢物(γ -氨基丁酸、丝氨酸和天冬酰胺)。研究分析了氨基酸差异代谢物的代谢途径, 筛选出3个比较组间差异代谢物主要分别富集到9, 11, 13条氨基酸代谢通路, 其中共有通路为氨基酸代谢通路5条, 氨基酸降解通路1条, 氨基酸生物合成通路2条, 这些代谢途径生成的差异代谢物主要有6种, 分别为谷氨酸、鸟氨酸、 γ -氨基丁酸、天冬酰胺、天冬氨酸和丙氨酸, 均有助于鱿鱼预制菜的风味和营养成分的形成。

参 考 文 献

- [1] 于笛, 傅志宇, 郑杰, 等. 秘鲁鱿鱼不同组织营养成分分析与评价[J]. 食品研究与开发, 2021, 42(5): 164-171.
YU D, FU Z Y, ZHENG J, et al. Analysis and evaluation of nutritional components of different tissues from squid *Dosidicus gigas* [J]. Food Research and Development, 2021, 42(5): 164-171.
- [2] 赵洪雷, 徐永霞, 李学鹏, 等. 超声波辅助除酸液处理对秘鲁鱿鱼品质的影响[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(8): 91-95.
ZHAO H L, XU Y X, LI X P, et al. Effect of ultrasonic-assisted deacidification on quality of *Dosidicus gigas* [J]. Food Research and Development, 2019, 40(8): 91-95.
- [3] 徐冰, 陈新军, 钱卫国, 等. 秘鲁外海茎柔鱼渔场时空分布分析[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2011, 41(11): 43-47.
XU B, CHEN X J, QIAN W G, et al. Spatial and temporal distribution of fishing ground for *Dosidicus gigas* in the offshore waters of peru[J]. Periodical of Ocean University of China, 2011, 41(11): 43-47.
- [4] 朱文慧, 宦海珍, 步营, 等. 不同解冻方式对秘鲁鱿鱼肌肉品质和风味特性的影响[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(18): 84-89.
ZHU W H, HUAN H Z, BU Y, et al. Effects of different thawing methods on quality and flavor characteristics of *Dosidicus gigas* [J]. Food Research and Development, 2019, 40(18): 84-89.
- [5] 许丹, 方益, 何鹏飞, 等. 美拉德反应对南极磷虾酶解液中非挥发性物质的影响[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(2): 41-46.
XU D, FANG Y, HE P F, et al. Analysis of non-volatile substances of hydrolysates of *Euphausia superba* before and after maillard reaction[J]. Food Research and Development, 2019, 40(2): 41-46.
- [6] 许丹, 朱剑, 严忠雍, 等. 加工方式对金枪鱼鱼糜制品氨基酸组成和营养价值影响研究[J]. 中国调味品, 2020, 45(11): 74-80.
XU D, ZHU J, YAN Z Y, et al. Amino acid composition and nutritional value of tuna surimi products prepared by different processing methods[J]. China Condiment, 2020, 45(11): 74-80.
- [7] 高渐飞, 周玮, 刘妮, 等. 基于广泛靶向代谢组学分析黑老虎种子中氨基酸和脂质组分[J]. 中国油脂, 2023, 48(1): 87-93.
GAO J F, ZHOU W, LIU N, et al. Analysis of amino acids and lipids in *Kadsura coccinea* seed by widely targeted metabolomics[J]. China Oils and Fats, 2023, 48(1): 87-93.
- [8] 孔祥峰, 印遇龙, 伍国耀. 动物功能性氨基酸营养研究进展[J]. 动物营养学报, 2009, 21(1): 132-145.
KONG X F, YIN Y L, WU G Y. Research progress of functional amino acid nutrition of domestic animal[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2009, 21(1): 132-145.
- [9] MARTINA D, MERLIN A, IRINI A. Amino acids production focusing on fermentation technologies - A review[J]. Biotechnology Advances: An International Review Journal, 2018, 36(1): 14-25.
- [10] 吕翡燕. 烹饪, 贮藏及复热对菌菇煲(蟹味菇)品质影响的研究[D]. 杭州: 浙江工业大学, 2015.
LÜ F Y. Effect of cooking, storage and reheating on the quality of mushroom (*Hypsizygus marmoreus*) soup[D]. Hangzhou: Zhengjiang University of Technology, 2015.
- [11] 王琳涵, 乔凯娜, 丁奇, 等. 不同煮制时间对鸡汤中呈味物质的影响[J]. 精细化工, 2018, 35(10): 1683-1690.
WANG L H, QIAO K N, DING Q, et al. Effect of different cooking time on taste compounds in chicken soup[J]. Fine Chemicals, 2018, 35(10): 1683-1690.
- [12] SEGLA S, XU F, YOU J, et al. Widely targeted metabolome profiling of different colored sesame (*Sesamum indicum* L.) seeds provides new insight into their antioxidant activities[J]. Food Research International, 2022, 151: 110850.
- [13] 钱瑞, 任锡毅, 刘永翔, 等. 基于广泛靶向代谢组学的竹黄活性成分分析[J]. 菌物学报, 2019, 38(5): 631-645.
QIAN R, REN X Y, LIU Y X, et al. Widely-targeted metabolomics analysis of *Shiraia bambusicola* bioactive components[J]. Mycosystema, 2019, 38(5): 631-645.
- [14] CHEN W, GONG L, GUO Z L, et al. A novel integrated method for large-scale detection, identification, and quantification of widely targeted metabolites: application in the study of rice metabolomics [J]. Molecular Plant, 2013, 6(6): 1769-1780.
- [15] 裴峰, 母昌考, 王春琳, 等. 冷藏过程中三疣梭子

- 蟹的营养物质变化[J]. 食品科学, 2018, 39(16): 256-264.
- PEI F, MU C K, WANG C L, et al. Changes in nutrients of *Portunus trituberculatus* during chilled storage[J]. Food Science, 2018, 39(16): 256-264.
- [16] MABUCHI R, ADACHI M, ISHIMARU A, et al. Changes in metabolic profiles of yellowtail (*Seriola quinqueradiata*) muscle during cold storage as a freshness evaluation tool based on gc-ms metabolomics [J]. Foods, 2019, 8(10): 511.
- [17] 刘梦, 张顺亮, 臧明伍, 等. 基于非靶向代谢组学分析牛肉干法成熟过程代谢产物的变化[J]. 食品科学, 2023, 44(10): 249-256.
- LIU M, ZHANG S L, ZANG M W, et al. Non-targeted metabolomics analysis of metabolite changes in beef during dry aging[J]. Food Science, 2023, 44(10): 249-256.
- [18] 王语涵. γ -氨基丁酸(GABA)在畜禽生产中的应用研究[J]. 现代畜牧科技, 2023(5): 27-29.
- WANG Y H. γ -Research on the application of aminobutyric acid (GABA) in livestock and poultry production[J]. Modern Animal Husbandry Science & Technology, 2023(5): 27-29.
- [19] 张圆圆, 王连生, 王良. 水产动物缬氨酸营养研究进展[J]. 动物营养学报, 2022, 34(1): 11-19.
- ZHANG Y Y, WANG L S, WANG L. Research progress of valine nutrition in aquatic animals [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2022, 34(1): 11-19.
- [20] MATSUMOTO T, AKITA M, OGAWA M, et al. Evaluation of taurine biosynthesis in the livers of the spear squid *Heterololigo bleekeri* and the swordtip squid *Uroteuthis edulis* [J]. Fisheries Science, 2021(5): 87.
- [21] 杨广会, 周燕霞, 徐晓莉, 等. 鱿鱼中牛磺酸提取工艺研究[J]. 食品工业科技, 2010, 31(6): 215-217.
- YANG G H, ZHOU Y X, XU X L, et al. Study on the extraction process of taurine from squid[J]. Science and Technology of Food Industry, 2010, 31(6): 215-217.
- [22] 程晓丽. 肌酸对凡纳滨对虾和草鱼生长性能, 肌肉品质影响的研究[D]. 武汉: 长江大学, 2021.
- CHEN X L. Study on the effects of dietary creatine supplementation on the growth performance and flesh quality of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) and grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)[D]. Wuhan: Yangtze University, 2021.
- [23] 杨宪时, 王丽丽, 李学英, 等. 秘鲁鱿鱼和日本海鱿鱼营养成分分析与评价[J]. 现代食品科技, 2013, 29(9): 2247-2251, 2293.
- YANG X S, WANG L L, LI X Y, et al. Analysis and evaluation of nutritional compositions of *Dosidicus gigas* and *Onychoteuthis borealijaponicus* okada [J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(9): 2247-2251, 2293.
- [24] 杨昭, 梁瑞进, 姚玉静, 等. 炒制温度对酱油游离氨基酸变化规律的影响[J]. 中国调味品, 2020, 45(5): 142-146.
- YANG Z, LIANG R J, YAO Y J, et al. Effect of frying temperature on the change rule of free amino acids in soy sauce[J]. China Condiment, 2020, 45(5): 142-146.
- [25] RYU S, PARK M R, MABURUTSE B E, et al. Diversity and characteristics of meat microbiological community on dry aged beef[J]. Journal of Microbiology & Biotechnology, 2018, 28(1): 105-108.
- [26] 黄鸾玉, 吴祥庆, 庞燕飞, 等. 主成分分析法综合评价水产品营养价值[J]. 食品科技, 2018, 43(2): 175-179.
- HUANG L Y, WU X Q, PANG Y F, et al. Comprehensive evaluation of nutritional value of aquatic products using principal component analysis[J]. Food Science and Technology, 2018, 43(2): 175-179.
- [27] 石飞, 邢玉青, 李志刚, 等. 基于广泛靶向代谢组学的冷藏冬枣成分分析[J]. 中国食品学报, 2023, 23(4): 324-333.
- SHI F, XING Y Q, LI Z G, et al. The analysis of cold-stored winter jujube based on extensive targeted metabolomics[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2023, 23(4): 324-333.
- [28] 梁淼, 张祉敏, 吴雅健, 等. 辛香料草果的研究及精油应用进展[J]. 食品工业科技, 2023, 44(2): 427-435.
- LIANG M, ZHANG Z M, WU Y J, et al. Progress on research of spice amomum tsaoko and application of its essential oil [J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(2): 427-435.
- [29] XIONG Q, SUN C, LI A, et al. Metabolomics and biochemical analyses revealed metabolites important for the antioxidant properties of purple glutinous rice [J]. Food Chemistry, 2022(389): 133080.

Analysis of Amino Acid Metabolites during the Frying Process of Squid Precooked Dishes

Xu Dan^{1,3}, Chen Yunyun^{4*}, Zhu Jian^{1,3}, Shen Hongli⁴, Zhang Xiaojun^{1,2,3}, Deng Shanggui²

(¹Zhejiang Marine Fisheries Research Institute, Zhoushan 316021, Zhejiang

²College of Food and Pharmacy, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316021, Zhejiang

³Key Laboratory of Sustainable Utilization of Technology Research for Fishery Resource of Zhejiang Province, Zhoushan 316021, Zhejiang

⁴China Aquatic Products Zhoushan Marine Fisheries Corp, Zhoushan 316000, Zhejiang)

Abstract Precooked squid dishes with different frying time (0, 5, 15 min) were taken as the research object. Based on amino acid targeted metabolomics method, the changes of amino acid metabolites in precooked squid dishes during frying were analyzed, and multivariate statistical analysis and metabolic pathway analysis were performed on amino acid metabolites. The results showed that a total of 23 amino acid metabolites were detected during the frying of squid precooked dishes. By analyzing the types of amino acid differential metabolites, it was found that with the extension of frying time, the types of amino acid differential metabolites increased significantly. There were 9, 10 and 12 kinds of amino acid differential metabolites screened from the three groups of squid precooked dishes (S1vsS3, S1vsS5 and S3vsS5), respectively, and there were 3 common differential metabolites among the three comparison groups, namely γ -aminobutyric acid, serine and asparagine. By analyzing the metabolic pathways of amino acid differential metabolites, 9, 11, and 13 amino acid metabolic pathways were enriched among the three comparison groups, respectively, of which 5 pathways were amino acid metabolism, 1 pathway was amino acid degradation, and 2 pathways were amino acid biosynthesis. These metabolic pathways contribute to flavor and nutrient formation in squid precooked dishes.

Keywords squid precooked dish; fry; amino acid targeted metabolomics; differential metabolites; metabolic pathways