

武定鸡鲜味肽 KE-4 与 LR-4 的呈味特性及构效关系

贾蓉^{1,2}, 杨源^{1,2}, 廖国周^{2*}, 郑志杰^{1,2}, 陈光辉^{1,2}, 王桂瑛^{1,2*}

(¹ 云南农业大学食品科学技术学院 昆明 650201

² 云南农业大学云南省畜产品加工工程技术研究中心 昆明 650201)

摘要 采用定量描述性分析法、三角测试法及电子舌分析,对武定卤鸡中的两条鲜味肽的呈味特性进行研究,结果表明除呈现鲜味外,两条肽段呈现出其它的基本味道属性,如咸味。肽段 KIDE(KE-4)、LELR(LR-4)的鲜味阈值分别为 0.03, 0.06 mg/mL。分子对接结果显示,鲜味肽 KE-4、LR-4 与鲜味受体 T1R1/T1R3 之间对接的主要结合区域均为 T1R3 亚基,结合的关键氨基酸残基是 Glu、Asp,结合的主要作用力为氢键相互作用力与疏水相互作用力。本研究结果补充了现有的鲜味肽数据库,为鲜味肽的生产应用提供了一定的理论依据。

关键词 鲜味肽; 鲜味阈值; T1R1/T1R3; 结合位点; 关键氨基酸残基

文章编号 1009-7848(2024)12-0069-09 **DOI**: 10.16429/j.1009-7848.2024.12.007

武定鸡为云南“六大名鸡”之首,肉质肥嫩鲜美,产自云南省武定、禄劝两县,是云南省具代表性的地方鸡品种^[1-3]。鲜味,是除咸味、甜味、苦味、酸味之外公认的第 5 种基本味道,其能给人愉悦的感觉,对食品品质起非常重要的作用^[4-6]。鲜味物质中包含有机酸、有机碱、鲜味肽等物质^[7]。鲜味肽良好的加工特性,近年来成为食品领域研究的一个热点^[8]。目前已从多种食品中提取出鲜味肽,如酱油^[9]、草菇^[10]、火腿^[11]、鸡汤^[12]等。

分子对接技术是一种预测配体在受体结合位点上的位置的技术,越来越多的研究人员致力于通过计算机建模来阐明鲜味受体相互作用的构象和详细机制^[13-14]。鲜味受体是对鲜味进行感知的关键,而 T1R1/T1R3 是唯一已知的与谷氨酸和鲜味肽反应的异源二聚体^[15]。T1R3 形成开放构象,具有较大的空腔可与配体对接,对鲜味肽与 T1R1/T1R3 受体之间的对接具有重要的意义^[14]。然而,由于鲜味肽的结构不同,每一条鲜味肽与鲜味肽受体 T1R1/T1R3 之间的结合机制都不相同,因此,

有必要研究鲜味肽与鲜味受体 T1R1/T1R3 之间的结合机制和结合位点。课题组前期对武定鸡鲜肉中的鲜味肽进行分离鉴定^[16],而热加工后武定鸡肉中鲜味肽的呈味特性与构效关系尚不清楚。基于此,本研究从鉴定分离的鲜味肽中选择 KIDE(KE-4)、LELR(LR-4)两条肽段为研究对象,以定量描述性分析、三角测试法以及电子舌分析合成鲜味肽(KE-4、LR-4)的呈味特性,最后采用分子对接技术研究鲜味肽与鲜味受体 T1R1/T1R3 之间的结合位点及相互作用力,以阐明武定鸡肉中鲜味肽的呈味特性与构效关系。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

柠檬酸、蔗糖、谷氨酸钠、单宁、奎宁、氯化钠,购自云南表达科技有限公司,所有感官所用试剂均为食品级。多肽 KE-4、LR-4,由杭州专肽生物科技有限公司合成,纯度>98%。

1.2 仪器与设备

BS224S 电子分析天平,北京赛多利斯仪器系统有限公司;Sonic VCX130 Milli-Q Gradient 超纯水系统,上海熙扬仪器有限公司。

1.3 合成肽的纯度鉴定分析

所有多肽均采用固相多肽合成的方法,委托杭州专肽生物科技有限公司合成,经脱盐处理之后,进行纯度鉴定。

收稿日期: 2023-12-13

基金项目: 国家自然科学基金地区科学基金项目(31960511);
“十四五”国家重点研发计划项目(2022YFD1601905)

第一作者: 贾蓉,女,硕士生

通信作者: 王桂瑛 E-mail: ynkmgwy@ynau.edu.cn

廖国周 E-mail: liaoguozhou@ynau.edu.cn

1.4 合成肽的呈味特性研究

1.4.1 合成肽的鲜味阈值分析 味觉稀释分析法常用于检测食品中的风味成分并确定其阈值,采用三角测试法测定合成肽的鲜味阈值^[17]。在试验前,以味精为标准对团队成员进行测试,以确保样品评价的准确性,首先将上述合成肽溶解在超纯水中配制为质量浓度为 0.50 mg/mL 的溶液,用超纯水按照 1:1(V/V)的比例逐步稀释,取逐步稀释的样品溶液每次 5 mL,按照浓度降低的顺序呈送给 20 位感官评定员品评,直至溶液鲜味无法识别出为止,同时,感官评价员评估了合成肽溶液的感官特性,包括酸、甜、苦、鲜、咸以及涩味。在进行感官试验时,每个样品应品尝 5 s 左右,感官评估完毕后,必须用蒸馏水清洁口腔,为了避免疲劳和遗留效应,评价员休息 2 min 后才能品尝下一个样品。

1.4.2 合成肽的电子舌滋味特性 为消除感官主观性,利用 SA402B 型电子舌对合成肽进行味觉评价,首先将不同合成肽加超纯水统一稀释至蛋白质量浓度为 0.20 mg/mL,然后准确移取 150 mL 测试液加入电子舌专用的样品杯中。采用分析系统为 C00、AE1、CA0、CT0、AAE、GL1 共 6 个传感器及 3 个标准电极。味觉传感器中的脂质通过静电和疏水相互作用与各种味觉物质相互作用,从而引起脂质膜电位的变化^[18]。在特异性、准确度、精密度以及稳健性等方面均获得了认证^[19]。参比溶液由 30 mmol/L 氯化钾和 0.30 mmol/L 酒石酸构成,负极清洗液由 100 mmol/L 盐酸和 30% 体积乙醇组成,正极清洗液由 10 mmol/L 氢氧化钾,100 mmol/L 氯化钾,30% 体积乙醇组成。传感器经活化、校正后测样。测量前对电子舌进行自检、活化、校准和诊断等步骤,以确保采集所得数据的可靠性和稳定性。在室温条件下进行数据采集。

1.4.3 合成肽的剂量-反馈试验 设计剂量-反馈试验研究合成肽对鲜味、咸味、甜味以及苦味的调节作用,将合成肽配置成 0.00, 0.50, 1.00, 2.00, 3.00, 4.00 mg/mL 和 5.00 mg/mL 7 个质量浓度。在研究合成肽对鲜味的调节作用时,以 0.40 mg/mL 的味精溶液为母液进行配制;在研究合成肽对咸味的调节作用时,采用 0.35 mg/mL 的氯化钠溶液为母液进行配制;在研究合成肽对甜味的调节作

用时,采用 0.35 mg/mL 的蔗糖溶液为母液进行配制;在研究合成肽对苦味的调节作用时,采用 0.02 mg/mL 的奎宁溶液为母液进行配制;鲜味、咸味、甜味标准品分别为 1.00 mg/mL 的谷氨酸钠溶液、1.00 mg/mL 的氯化钠溶液、1.00 mg/mL 的蔗糖溶液,苦味标准品为 0.10 mg/mL 的奎宁溶液。标准品的感官评分为 5 分。将上述配置好的一系列不同浓度的溶液呈送给感官评价员对其相应味觉强度进行打分,从而得到合成肽对鲜味、咸味、甜味以及苦味的剂量-反馈图。

1.5 鲜味肽与鲜味受体 T1R1/T1R3 的分子对接分析

从 UniProt 中检索到 T1R1 和 T1R3 鲜味受体的氨基酸序列 (T1R1, UniProtKB: Q7RTX1; T1R3, UniProtKB: Q7RTX0),选择代谢型谷氨酸受体(PDB ID: 1EWK)作为建模模板。然后,对初步的同源模型使用最小化协议进行优化。为了进一步评价模型质量,通过 save(<https://saves.mbi.ucla.edu/>)使用 Ramachandran plot 的残差百分对优化后的同源模型进行评价。然后利用验证的同源模型进行分子对接。配体由 Chemdraw 绘制,并使用 Chemdraw 3D 将能量最小化。分子对接在软件 AutoDock 1.5.6 软件上完成。将优化后的鲜味肽配体与鲜味受体 T1R1/T1R3 进行对接试验。受体和配体的输入文件是使用 Autodock 工具准备的。使用拉马克遗传算法(LGA)进行构象搜索,运行 100 次以寻找可能的结合构象。然后,选择结合自由能最低的构象作为其最可能的结合模式进行进一步分析^[20]。

1.6 数据分析

对于每个待测样品,所有测试重复 3 次。统计数据通过 Microsoft Excel 2021 进行分析。Origin 2018 软件用于绘图。Chemoffice 2014 用于构建以及优化鲜味肽的模型。AutoDock 1.5.6、Pymol 1.7 和 LigPlot+ v2.2.5 软件对所得到的鲜味肽配体-T1R1/T1R3 复合物进行结构可视化查看和以及相互作用力分析。

2 结果与分析

2.1 合成肽的纯度分析

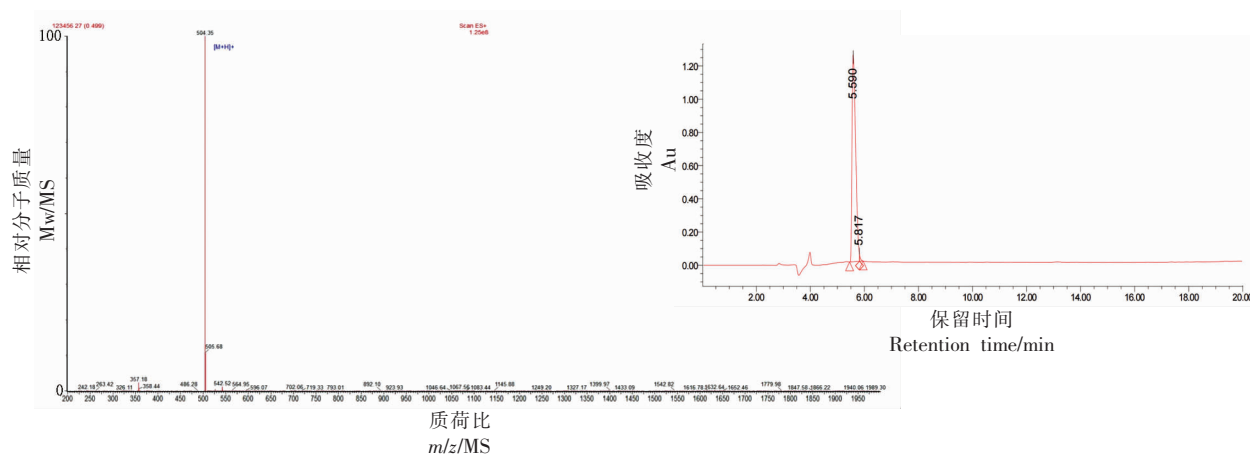
在开展后续试验之前,需要对合成肽的纯度

进行鉴定,进一步验证合成肽的纯度是否可以满足后续试验要求,因此,采用 RP-HPLC/MS 对其纯度进行鉴定,结果如表 1,图 1 所示。

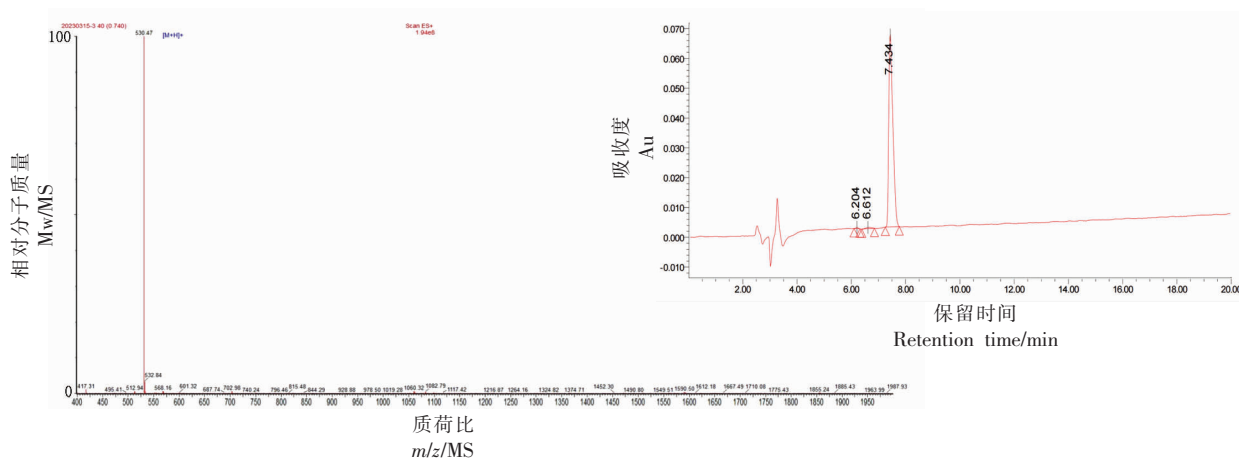
表 1 合成肽的信息

Table 1 Information on synthetic peptides

名称	序列	RT/min	Area	Purity/%	分子量/u
KE-4	KIDE	5.590	1.15×10^7	99.22	503.55
LR-4	LELR	7.434	9.08×10^5	98.87	529.63



(a) KE-4



(b) LR-4

图 1 合成肽的纯度报告 (MS/HPLC)

Fig.1 The purity report of the synthetic umami peptides (MS/HPLC)

由表 1 可知,合成肽段 KE-4 的纯度为 99.22%、LR-4 的纯度为 98.87%、所有合成肽的纯度全部>98%,满足感官评价的要求。由图 1 可知,所有的合成肽组分在洗脱图谱中呈现单一的峰,且除了溶剂峰之外的杂峰很少,说明合成肽的纯度高。

2.2 合成肽的呈味特性分析

2.2.1 合成肽的鲜味阈值分析 采用化学方法合成了鲜味肽,并通过定量描述分析、鲜味阈值分析和电子舌分析验证了它们的鲜味,合成肽的鲜味阈值以及合成肽的滋味轮廓如表 2 所示。

表2显示KE-4、LR-4的鲜味阈值以及滋味特征,鲜味肽的阈值范围为0.03~0.06 mg/mL,其中KE-4具有最低的鲜味阈值,为0.03 mg/mL。肽段LR-4的鲜味阈值为0.06 mg/mL,这可能是由于相比肽段LR-4,KE-4有两个鲜味氨基酸(D,E)^[8]。此外,合成肽通常具有多种味道属性,例如酸味、甜味、苦味以及涩味等,根据感官评价的滋味轮廓,2条肽的主要特征滋味为鲜味,其次是甜味、酸味、咸味、苦味等其它味道属性。酸味可能是由于合成过程中残留的酸性氨基酸造成的,而苦涩味可能是由于在肽合成过程中引入乙酸钠和疏水性氨基酸残基而形成的^[9,15,21]。合成肽具有苦味^[22],这可能是由于人类对苦味的高度敏感性,苦味的感知阈值低于其他基本味道^[23]。综上,鲜味肽除了呈现鲜味之外,还呈现其它的味道属性^[24]。

2.2.2 合成肽的电子舌滋味轮廓 感官评价往往受环境和个人因素的影响。因此,引入电子舌分析来补充合成肽的感官评价结果^[20]。将电子舌测得的电传感器信息转换为味觉信息,并对合成肽的味觉进行量化。结果如图2所示。

KE-4的鲜味评分为3.02、LR-4的鲜味评分为2.58。KE-4与LR-4的咸味分别为1.39,0.30。除了鲜味之外,合成肽还表现出其他基本的味道属性,如咸味、苦味、酸味等,这与感官评价结果相似。Yu等^[25]研究了海鲜中的鲜味肽,用电子舌测量肽段DK、EEK、EDQK、SEGGR、QDSIGS、EEE的鲜味强度,鲜味值分别为1.13,1.06,1.66,1.14,0.36和0.13,略低于本试验所得鲜味肽的鲜味评分。有研究表明,合成的肽在空间结构上可能与天然提取的鲜味肽的空间结构不一样,因此,会导致肽的味道差异,不能完全复原天然鲜味肽本身的鲜味强度^[18]。

2.2.3 合成肽的剂量-反馈结果分析 有研究发现,鲜味对其它基本味道属性如咸味、甜味等有调节作用^[26],因此,设计剂量-反馈试验研究合成肽对鲜味、咸味、甜味以及苦味的调节作用,结果如图3所示。

随着合成肽浓度的增加,两条合成肽对鲜味强度、咸味强度以及甜味强度均呈现出先升高后降低的趋势。当KE-4的质量浓度达到1.00 mg/mL时,合成肽对鲜味强度、甜味强度、咸味强度的

表2 合成肽水溶液的滋味特性

Table 2 Taste properties of synthetic peptides in aqueous solution

合成肽	滋味描述	鲜味阈值/(mg/mL)
KE-4	鲜味明显,微甜,有弱的酸涩味	0.03
LR-4	鲜味明显,微酸、咸、涩、苦	0.06

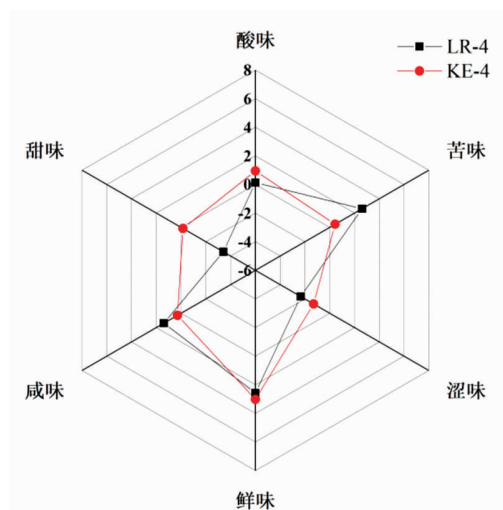


图2 合成肽的电子舌结果

Fig.2 Electronic tongue results of synthetic peptides

促进达到最大。当LR-4的质量浓度达到0.50 mg/mL时,对鲜味强度的促进达到了最大;质量浓度达到2.00 mg/mL时,对咸味强度的促进达到了最大;质量浓度达到1.00 mg/mL时,对甜味强度的促进达到了最大。当肽的质量浓度达到4.00 mg/mL及以上时,两条肽对苦味强度起着降低以及掩盖的作用。鲜味肽在一定的条件下,可以对其它基本味觉如咸味等起着调节的作用^[12,27]。

2.3 鲜味肽与鲜味受体T1R1/T1R3的分子对接结果

2.3.1 配体与受体的结构构建 采用Chem Draw软件与Chem 3D对鲜味肽的二级结构以及三级结构进行构建,并经过Minimization处理,试验结果如图4、图5所示。

2.3.2 鲜味肽与鲜味受体T1R1/T1R3的对接结果分析 鲜味受体是鲜味感知的关键。T1R1/T1R3是唯一已知的与谷氨酸和鲜味肽反应的异源二聚体。有研究发现T1R3形成开放构象,这对完整的

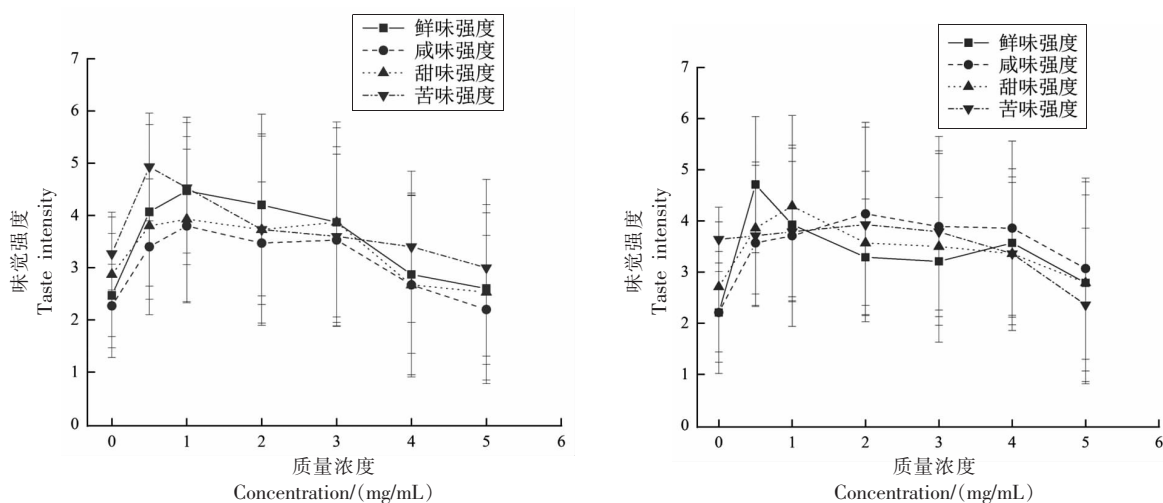


图 3 合成肽的剂量-反馈结果

Fig.3 Dose-feedback results of synthetic peptides

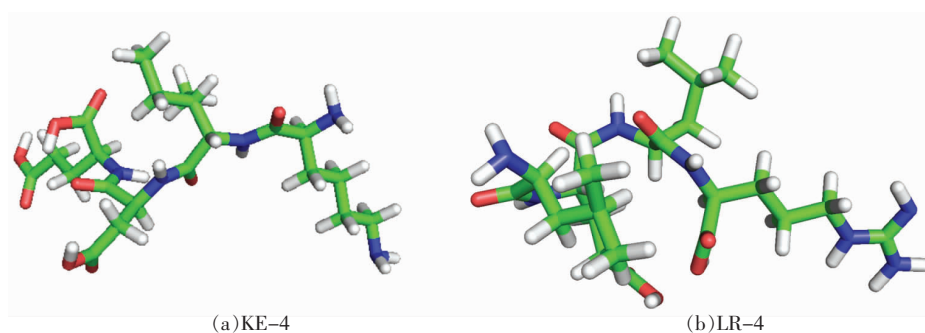


图 4 鲜味肽优化后的结构

Fig.4 Optimized structure of umami peptides

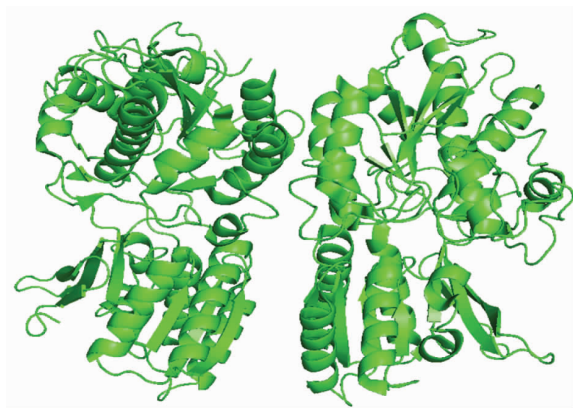


图 5 鲜味肽受体 T1R1/T1R3 优化后的结构

Fig.5 Optimized structure of umami receptor T1R1/T1R3

分子对接过程至关重要。然而,由于鲜味肽的结构不同,每种味觉形态对受体细胞的影响机制不同,鲜味肽的结合位点尚未明确,因此有必要研究鲜

味肽与鲜味受体的结合机制和结合位点。因此,采用 AutoDock 软件进行模拟 5 条鲜味肽与鲜味受体 T1R1/T1R3 的对接模式,对接结果如图 6,对接能量如表 3 所示。

使用 Autodock 软件将鲜味受体 T1R1/T1R3 同优化后的 KE-4 和 LR-4 肽段进行分子对接,结果发现,KE-4 和 LR-4 与鲜味受体 T1R1/T1R3 的对接结合总能量均较低,分别为 -24.60 kcal/mol, -25.11 kcal/mol,说明得到的两个鲜味肽-鲜味受体复合物性质都较为稳定。从与鲜味受体 T1R1/T1R3 结合的方式来看,KE-4 与 LR-4 均偏向于与 T1R3 亚基相结合,这可能是由于 T1R3 亚基的结合域是开放的构象。Dang 等^[15]和 Chang 等^[20]研究报道鲜味肽主要与 T1R3 亚基结合,这与本研究的结果一致。

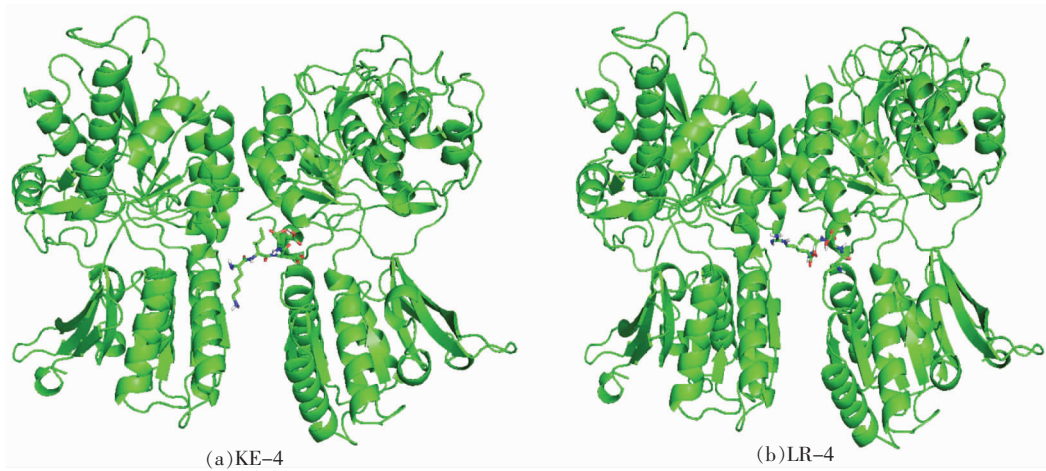


图6 鲜味肽与鲜味受体 TIR1/T1R3 的对接位点

Fig.6 Docking sites of umami peptides and umami receptor TIR1/T1R3

表3 鲜味肽与鲜味受体 T1R1/T1R3 的对接能量

Table 3 Docking energy of umami peptides and umami receptor TIR1/T1R3

鲜味肽	对接能量/ (kcal/mol)	对接总能量/ (kcal/mol)
KE-4	-8.20	-24.60
LR-4	-8.37	-25.11

2.3.3 鲜味肽与鲜味受体 TIR1/T1R3 的对接相互作用力分析 为了更加清楚地了解鲜味肽与鲜味受体 TIR1/T1R3 之间的对接相互作用位点以及对接相互作用力,采用 Pymol 软件与 Lig-Plot+ 软件,对分子对接的结果进行分析,结果如图 7 所示。

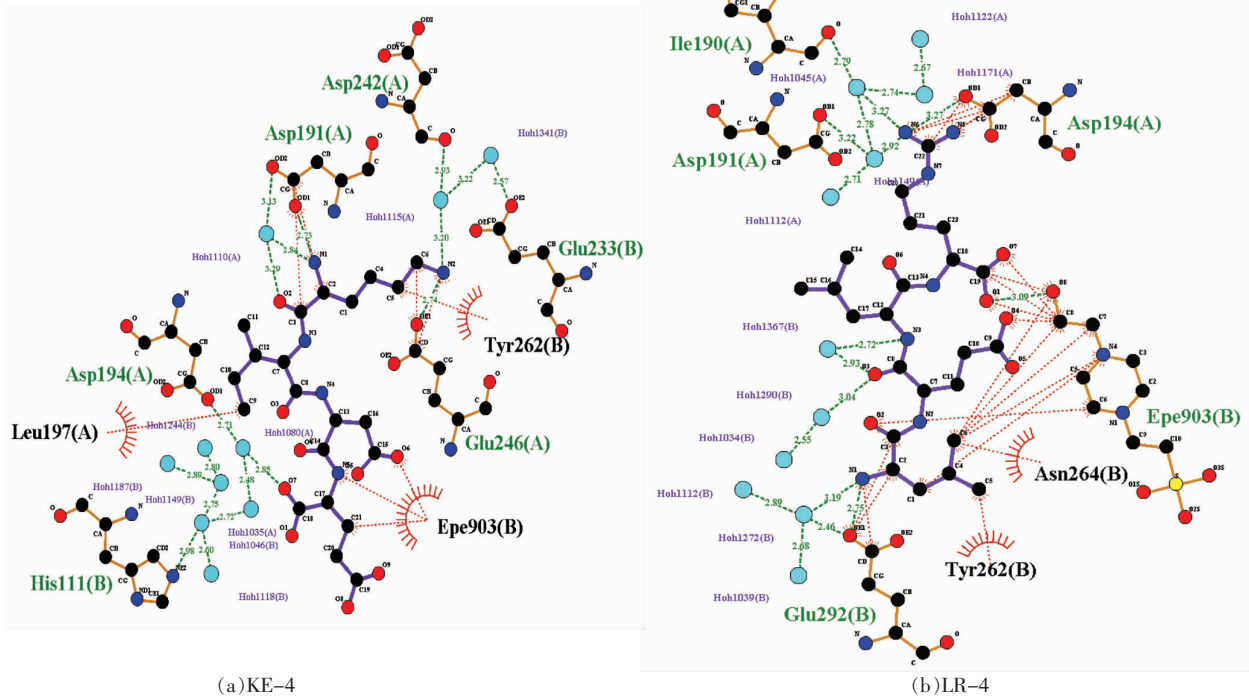


图7 鲜味肽与鲜味受体 TIR1/T1R3 的对接位点及相互作用力

Fig.7 Docking sites and interaction forces of umami peptides and umami receptor TIR1/T1R3

图7是KE-4、LR-4与鲜味受体T1R1/T1R3结合的主要氨基酸残基的相互作用二维图,砖红色表示疏水相互作用,而橄榄绿色代表氢键作用力。KE-4与鲜味受体T1R1/T1R3结合的主要氨基酸残基为Glu246、Asp191、Leu197、Tyr262、Glu233、Asp242、Asp194等;LR-4与鲜味受体T1R1/T1R3结合的主要氨基酸残基为Glu292、Tyr262、Asp194、Asp191、Asn264等。可以看出,两条肽与鲜味受体主要的结合作用力为疏水相互作用力与氢键作用力。分析肽段与鲜味受体对接的主要氨基酸残基,发现Glu和Asp是两条肽段与鲜味受体对接的主要氨基酸残基^[28],其次是Tyr、Leu等氨基酸残基。Chang等^[20]在分析海鲜的肌球蛋白与鲜味受体T1R1/T1R3的对接时,研究发现Glu120、Ser142、Asp162和Gln361可能是鲜味肽与鲜味受体T1R1/T1R3结合的关键氨基酸残基,以及氢键和疏水键是EGTAG和鲜味受体T1R1/T1R3之间的重要相互作用。Zhang等^[29]从菲律宾帘蛤和白蛤中一共筛选出16条鲜味肽,研究发现,这16个鲜味肽与T1R3亚基之间有26个结合位点,主要位点包括Tyr143、Gly144、Ser146、Ala145、His121、Ser123、Glu277,鲜味肽主要通过氢键相互作用力与鲜味受体T1R1/T1R3之间进行相互作用。

3 结论

感官评价结果显示,两条肽段除了呈现鲜味之外,还呈现出酸味、咸味等其他的基本味道属性。鲜味肽KE-4、LR-4的鲜味阈值分别为0.03、0.06 mg/mL。两条肽段对鲜味强度、咸味强度、甜味强度的味觉强度均呈现先增高后降低的趋势,对于苦味强度,当肽段的浓度达到一定值时,可以抑制或者掩盖苦味强度。鲜味肽KE-4、LR-4与鲜味受体T1R1/T1R3之间对接的结合总能量分别为-24.60、-25.11 kcal/mol,对接的主要结合区域均为T1R3亚基,结合的关键氨基酸残基是Glu、Asp,结合的主要作用力为氢键相互作用力与疏水相互作用力。因此,从武定卤鸡产品中鉴定出的KE-4、LR-4两条鲜味肽段,对武定鸡肉的鲜味有一定的贡献。

参 考 文 献

- [1] 苗永旺,葛长荣.云南地方鸡资源的发掘、保护与利用[J].中国家禽,2019,41(23):1-8.
MIAO Y W, GE C R. Exploration, protection and utilization of local chicken resources in Yunnan[J]. Chinese Poultry, 2019, 41(23): 1-8.
- [2] 云南省畜禽遗传资源委员会.云南省畜禽遗传资源志[M].昆明:云南科技出版社,2014:243-260.
Yunnan Provincial Commission of Livestock and Poultry Genetic Resources. Livestock and poultry genetic resources of Yunnan Province[M]. Kunming: Yunnan Science and Technology Press, 2014: 243-260.
- [3] 董平.发挥品牌资源优势做强武定鸡产业[J].畜牧业,2014,36(4):52-54.
DONG P. Make full use of brand resources to strengthen Wuding chicken industry[J]. Livestock and Poultry Industry, 2014, 36(4): 52-54.
- [4] ZHAO Y G, ZHANG M, SAKAMON D, et al. Progresses on processing methods of umami substances: A review[J]. Trends in Food Science & Technology, 2019, 93: 125-135.
- [5] TEMUSSI P A. The good taste of peptides[J]. Journal of Peptide Science, 2012, 18(2): 73-82.
- [6] 李晓明,黄占旺,徐明生,等.白玉菇中鲜味肽的分离鉴定及呈味特性分析[J].食品科学,2021,42(24):252-260.
LI X M, HUANG Z W, XU M S, et al. Isolation, identification and flavor characterization of umami peptides from White jade Mushroom [J]. Food Science, 2021, 42(24): 252-260.
- [7] CHANG J C, FENG T, ZHUANG H N, et al. Taste mechanism of kokumi peptides from yeast extracts revealed by molecular docking and molecular dynamics simulation [J]. Journal of Future Foods, 2022, 2(4): 358-364.
- [8] WANG W L, ZHOU X R, LIU Y. Characterization and evaluation of umami taste: A review[J]. Trends in Analytical Chemistry, 2020, 127: 115876.
- [9] ZHHUANG M Z, LIN L Z, ZHHAO M M, et al. Sequence, taste and umami-enhancing effect of the peptides separated from soy sauce[J]. Food Chemistry, 2016, 206(1): 174-181.
- [10] 蒋希希,裴斐,赵立艳,等.草菇鲜味肽的分离鉴

- 定及呈味特性分析[J]. 食品科学, 2022, 43(12): 235-242.
- JIANG X X, PEI F, ZHAO L Y, et al. Isolation, identification and flavor characterization of umami peptides from mushroom[J]. Food Science, 2022, 43(12): 235-242.
- [11] DANG Y L, GAO X C, MA F M, et al. Comparison of umami taste peptides in watersoluble extractions of Jinhua and Parma hams[J]. LWT - Food Science and Technology, 2015, 60(2): 1179-1186.
- [12] ZHANG J C, ZHANG J C, LIANG L, et al. Identification and virtual screening of novel umami peptides from chicken soup by molecular docking[J]. Food Chemistry, 2023, 404: 134414.
- [13] TAO X, HUANG Y K, WAANG C, et al. Recent developments in molecular docking technology applied in food science: a review[J]. International Journal of Food Science and Technology, 2023, 55(1): 203-224.
- [14] WANG Y Y, LUAN J J, TANG X H, et al. Identification of umami peptides based on virtual screening and molecular docking from Atlantic cod (*Gadus morhua*)[J]. Food & Function, 2023, 14(3): 1510-1519.
- [15] DANG Y L, HAO L, CAO J X, et al. Molecular docking and simulation of the synergistic effect between umami peptides, monosodium glutamate and taste receptor T1R1/T1R3[J]. Food Chemistry, 2019, 271: 697-706.
- [16] 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 Y, LÜ D L, LIAO G Z, et al. Isolation, identification and flavor characteristics of umami peptides from Wuding chicken[J]. Food Science, 2022, 43(22): 232-238.
- [17] XU X D, XU R, SONG Z, et al. Identification of umami-tasting peptides from *volvariella volvacea* using ultra performance liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry and sensory-guided separation techniques[J]. Journal of Chromatography A, 2019, 1596: 96-103.
- [18] ZHANG X Z, ZHANG Y W, MENG Q X, et al. Evaluation of beef by electronic tongue system TS-5000Z: Flavor assessment, recognition and chemical compositions according to its correlation with flavor[J]. PLoS One, 2015, 10(9): e0137807.
- [19] WOERTZ K, TISSEN C, KLEINEBUDDE P, et al. Performance qualification of an electronic tongue based on ICH guideline Q2[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2010, 51(3): 497-506.
- [20] CHANG J C, LI X, LIANG Y, et al. Novel umami peptide from *Hypsizygus marmoreus* hydrolysate and molecular docking to the taste receptor T1R1/T1R3[J]. Food Chemistry, 2023, 401: 134163.
- [21] LI X P, XIE X X, WANG J X, 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, Article 126053.
- [22] ZHANG N L, LIU H, ZHOU X R, et al. Taste and stability characteristics of two key umami peptides from pufferfish (*Takifugu obscurus*)[J]. Food Chemistry, 2022, 371: 131124.
- [23] STAGNER W, IYER M, RATHOD V, et al. Human volunteer, *in vitro*, and molecular level evaluation of an optimized tastemasked isoniazid-chitosan spray-dried microparticle matrix[J]. International Journal of Pharmaceutics, 2019, 572: 118774.
- [24] CHEN D Y, CHEN W C, LI W, et al. Effects of continuous enzymolysis on the umami characteristics of *Lentinula edodes* and the flavor formation mechanism of umami peptides[J]. Food Chemistry, 2023, 420: 136090.
- [25] YU Z P, KANG L X, ZHAO W Z, et al. Identification of novel umami peptides from myosin via homology modeling and molecular docking[J]. Food Chemistry, 2021, 344: 128728.
- [26] 刘希, 谭志辉, 朱立才, 等. 食品中鲜味肽和浓厚味肽的研究进展[J]. 广东化工, 2020, 47(8): 91-93.
- LIU X, TAN Z H, ZHU L C, et al. Research progress on fresh flavor peptides and strong flavor peptides in foods[J]. Guangdong Chemical Industry, 2020, 47(8): 91-93.
- [27] SUN X X, ZHONG K, ZHANG D, et al. The enhancement of the perception of saltiness by umami sensation elicited by flavor enhancers in salt solutions[J]. Food Research International, 2022, 157: 111287.

- [28] ZHU W H, LUAN H W, BU Y, et al. Flavor characteristics of shrimp sauces with different fermentation and storage time[J]. *LWT-Food Sci Technol*, 2019, 110: 142-151.
- [29] ZHANG T, HUA Y, ZHOU C Y, et al. Umami peptides screened based on peptidomics and virtual screening from *Ruditapes philippinarum* and *Macra veneriformis* clams[J]. *Food Chemistry*, 2022, 394: 133504.

Flavor Characteristics and Structure-activity Relationship of Wuding Chicken Umami Peptides KE-4 and LR-4

Jia Rong^{1,2}, Yang Yuan^{1,2}, Liao Guozhou^{2*}, Zheng Zhijie^{1,2}, Chen Guanghui^{1,2}, Wang Guiying^{1,2*}
(¹College of Food Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201
²Livestock Product Processing and Engineering Technology Research Center of Yunnan Province, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201)

Abstract Quantitative descriptive analysis, triangulation tests, and electronic tongue analysis were used to study the flavor characteristics of two umami peptides from Wuding stewed chicken. The results showed that the two peptides showed other basic flavor properties besides umami, such as salty. The umami thresholds of the peptides KIDE (KE-4) and LELR (LR-4) were 0.03 mg/mL and 0.06 mg/mL, respectively. The molecular docking results showed that the main binding regions for the docking between the umami peptides KE-4 and LR-4 and the umami receptor TIR1/TIR3 were all TIR3 subunits, the key amino acid residues for binding were Glu and Asp, and the main forces for binding were hydrogen bonding interactions and hydrophobic interactions. These results of experiment complemented the existing database of umami peptides and provided a theoretical basis for the production and application of umami peptides.

Keywords umami peptide; umami threshold; TIR1/TIR3; binding sites; key amino acid residues