

Kokumi 肽的特性及其制备研究进展

黄煜燃¹, 杨娟¹, 汪薇¹, 白卫东^{1,*}, 曾晓房¹, 黄文彪², 陈杰³

(1. 仲恺农业工程学院轻工食品学院, 广东广州 510225;

2. 佛山市海天(高明)调味食品有限公司, 广东佛山 528500;

3. 广东粤师傅调味食品有限公司, 广东开平 529300)

摘要:食物呈味特性十分复杂,无法用单一的基本味觉来进行描述,因此,习惯上用 kokumi 来形容食物中的浓厚感、丰富度、持续性、协调性和饱满圆润等一种综合性味觉感受。kokumi 肽广泛存在于动物、植物和发酵食品中,其本身没有味道或味道较淡,但少量添加便能增强复合溶液或肉汤的基本味觉,并能赋予其浓厚感、持续性和协调性等特性。本文概括了 kokumi 肽的来源、结构特性、味觉特性和呈味机制等方面的研究进展,并结合其制备方法进行综述,以期对 kokumi 肽的深入研究和新型调味品的研究开发提供依据和参考。

关键词: kokumi 肽, 结构特性, 味觉特性, 呈味机制, 制备方法

Research Progress on Characteristics and Preparation of Kokumi Peptides

HUANG Yu-ran¹, YANG Juan¹, WANG Wei¹, BAI Wei-dong^{1,*},

ZENG Xiao-fang¹, HUANG Wen-biao², CHEN Jie³

(1. College of Food Science and Technology, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510225, China;

2. Foshan Haitian (Gaoming) Seasoning Food Co., Ltd., Foshan 528500, China;

3. Guangdong Yueshifu Seasoning Food Co., Ltd., Kaiping 529300, China)

Abstract: Due to the taste characteristics of food are very complex and cannot be described by a single basic taste, it is customary to use "kokumi" to describe a comprehensive taste such as thickness, richness, consistency, harmony and fullness in food. Kokumi peptides were widely found in animals, plants, and fermented foods. They have no taste, or have only a light taste, but the addition of small amounts of kokumi peptide can enhance the basic taste of the compound solution or broth, and give it a sense of thickness, consistency and coordination. In this article, the research progress on the origin, structural characteristics, taste characteristics, taste mechanism and preparation methods of kokumi peptides are reviewed. This paper provides the basis and reference for in-depth research of kokumi peptides and development of new condiments.

Key words: kokumi peptides; structural characteristics; taste characteristics; taste mechanism; preparation method

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2020)21-0339-06

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020030207

引文格式: 黄煜燃, 杨娟, 汪薇, 等. Kokumi 肽的特性及其制备研究进展[J]. 食品工业科技, 2020, 41(21): 339-344.

HUANG Yu-ran, YANG Juan, WANG Wei, et al. Research Progress on Characteristics and Preparation of Kokumi Peptides[J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(21): 339-344. (in Chinese with English abstract)

http://www.spqkj.com

食物在满足人们基本需求的同时,也可以带给人们心理上的愉悦享受。除了香味以外,滋味是评价食物感官质量的最重要特性。滋味物质通常是亲

水性的小分子物质,这些小分子物质从食物提取到唾液后,与舌头味蕾细胞上特定味觉受体相互作用,从而产生各种味觉^[1-2]。酸、甜、苦、咸、鲜是人们

收稿日期: 2020-03-18

作者简介: 黄煜燃(1996-),男,硕士研究生,研究方向:食品化学, E-mail: 944866147@qq.com。

* 通信作者: 白卫东(1967-),男,博士,教授,研究方向:食品化学, E-mail: 767313893@qq.com。

基金项目: 国家重点研发计划 蓝色粮仓科技创新(2018YFD0901000); 广州市科技计划项目(201704020029)。

(10): 628-636.

[52] Huang Y L, Lu D Q, Liu H, et al. Preliminary research on the receptor-ligand recognition mechanism of umami by an hT1R1 biosensor[J]. Food & Function, 2019, 10(3): 1280-1287.

[53] 才英明. 基于生物传感器的牛肉中谷氨酸定量检测方法研究[D]. 长春: 吉林大学, 2018.

[54] 朱灵涛. 基于膜修饰传感器的牛肉滋味品质评价及呈鲜味氨基酸检测方法[D]. 长春: 吉林大学, 2019.

广泛熟知的五种基本味觉^[3],但随着人们对于食物味道的追求不断提高,单一的味觉特性已经不能满足人们的需求,且食物中的浓厚、饱满圆润、回味悠长和平衡协调等复杂特性无法用这五种基本味感来表达。早在1900年,日本科学家发现了这种具有复杂味感的活性物质,并将此味感定义为“kokumi”^[4]。

呈味肽一般是对食品风味具有一定贡献的小分子寡肽类,根据其味觉特性又分为了酸味肽、甜味肽、苦味肽、咸味肽和鲜味肽五大类^[5]。在人们的认识中,鲜味肽的概念容易与 kokumi 肽混淆。研究表明,鲜味肽具有增强食物咸鲜味和醇厚感等特点,但 kokumi 是形容更为复杂的味感,它强调食物的协调感、丰富度和持续度,属于口感的范畴,这是鲜味与 kokumi 味感最本质的区别^[6-8]。Kokumi 肽作为一种新型活性肽类物质,具有良好的味觉特性,能够影响食品的营养和感官质量^[9-10],故成为近年来国内外的研究热点和新型调味剂开发的重点方向。

本文重点介绍了 kokumi 肽的来源、结构特性、味觉特性以及呈味机制等特性,加深对 kokumi 肽的系统认识和理解,并结合 kokumi 肽的制备方法进行综述,以期为 kokumi 肽的研究利用和进一步开发新型调味品提供理论依据和参考。

1 Kokumi 肽的来源

“Kokumi”一词最早源自于日本,由于食品中的滋味十分复杂,无法用单一的基本味觉去描述如浓汤和发酵食品等优良风味。因此,人们习惯上用这一词来表达食品的浓厚感、丰富度、持续性、协调性和饱满圆润等一种综合性的味觉感受^[11-12]。早在1990年,日本学者 Ueda 等^[4]在大蒜的水提取物中鉴定出赋予食品 kokumi 味感的物质主要是一些含硫化合物,如大蒜碱、S-甲基-L-半胱氨酸亚砷和 γ -L-谷酰基-S-烯丙基-L-半胱氨酸等。1994年,该学者在洋葱提取物中同样发现了如 γ -谷酰基-S-丙基-L-半胱氨酸亚砷和反-S-丙基-L-半胱氨酸亚砷等具有浓厚味感的含硫化合物^[13]。同年,法国学者 Roudot-Algaron 等^[14]从 Comté 奶酪中分离纯化了三种具有复杂、浓郁且略带咸鲜味和金属味的 γ -谷酰二肽(γ -Glu-Phe、 γ -Glu-Tyr 和 γ -Glu-Leu),并认为这三种肽是赋予奶酪风味的关键物质。1997年,Ueda 等^[15]发现,当 γ -谷胱甘肽(γ -L-Glu-L-Cys-Gly, GSH)添加到含有谷氨酸钠(MSG)和肌苷酸(IMP)的鲜味溶液后,鲜味溶液中的口感、厚度和连续性显著提升,并指出 GSH 是一种典型的 kokumi 肽。自此,越来越多的学者开始对 kokumi 肽进行研究和开发。

近年来,在许多食品中都能发现 kokumi 肽,包括 γ -谷酰二肽和一些小分子寡肽类等,主要来源于动物性食品,如河鲀、鸭肉、扇贝、牛骨髓,植物性食品,如菜豆、大豆、双孢蘑菇,以及发酵食品,如奶酪、发酵面团、发酵鱼、鱼酱、虾酱、酱油、酒精饮料和酵母提取物等。为了研究 kokumi 肽的特性,本文总结了文献已报道不同来源的 kokumi 肽的序列和呈味阈值,如表1所示。

2 Kokumi 肽的特性

2.1 Kokumi 肽的结构特性

Kokumi 肽的呈味特性与其分子结构密切相关。通过统计发现,大部分 kokumi 肽为 γ -谷酰二肽类物质,Wang 等^[38]通过将暗纹东方鲀肌肉水解物进行超滤分级后,发现 0.3~3 kDa 组分的浓厚味感和鲜味特性比大于 3 kDa 组分明显,且进行美拉德反应后,其浓厚味感会更加强烈。此外,在三种酵母抽提物的 kokumi 物质研究中发现,导致其浓厚味感的主要滋味物质为 <1000 kDa 分子量的寡肽^[23,39]。大量研究也证实了具有浓厚味活性的 γ -谷酰二肽类物质几乎都是 γ -谷酰二肽和三肽类物质。Kokumi 肽中官能团位置的差异也会明显影响其呈味效果。如 Toelstede 等^[34]研究古达奶酪中的 8 种 α -L-谷酰二肽和 γ -L-谷酰二肽时发现,只有 γ -L-谷酰二肽具有浓厚味特性,而 α -L-谷酰二肽没有此作用。

除此之外,部分 kokumi 肽的末端连接了如 Val、Ala、Leu、Met 和 Phe 等疏水性氨基酸,当这些疏水性氨基酸残基位于肽链的 C-端位置时,会产生苦味^[40],但这些 kokumi 肽并没有呈现出苦味,反而呈现出浓厚、饱满和持久的风味特性。其原因可能是因为 γ -谷酰化降低了肽的苦味,使它产生了更好的浓厚味感^[41]。另一项研究也表明, γ -谷酰转肽酶的转肽反应可以降低氨基酸的苦味^[42]。这说明了 kokumi 肽的呈味特性会受末端的疏水性氨基酸残基影响,但不能决定其总体的呈味效果。此外,当肽类物质含有 Cys 的肽段时,会因氨基酸侧链基团上含有-SH 而在舌尖上产生了轻微的收敛感,因而呈现出更低的味感阈值和显著的浓厚味感,说明了 Cys 残基对 kokumi 肽的味感具有重要影响^[31]。

2.2 Kokumi 肽的味觉特性

Kokumi 肽本身是没有味觉活性的,几乎所有具有浓厚味活性的 γ -谷酰二肽类物质在水溶液中只会表现出轻微的涩味或苦味,这是由 N-端的 γ -谷酰基和 C-端的氨基酸残基决定的^[41]。研究表明, γ -Glu-Val-Gly 和 γ -Glu-Cys-Gly 在甜味、咸味和鲜味等基本味觉溶液和鸡汤溶液中能显著增强其基本味觉效果并呈现出明显的浓厚味感^[43-44]。Yang 等^[36-37]通过研究 γ -谷酰二肽的酶促合成和感官特性分析发现, γ -[Glu]_n-Phe、 γ -[Glu]_(n>1)-Val 和 γ -[Glu]_(n>1)-Met 单独添加在水中时只有轻微的涩味,但当它们被添加到商业酱油和模拟鸡汤溶液中时,能够产生明显的浓厚味觉,并能显著增强商业酱油和鸡汤溶液的鲜味味觉。可见,只有将这些 kokumi 肽添加到含有两种或三种基本味觉物质的溶液中时才能呈现出浓厚味感,且能增强溶液中的咸鲜味感。这表明 kokumi 肽能有效协调其他基本味觉,显著增强复合溶液的厚度、丰富度和味感持续性,具有协同增效作用。

研究表明,kokumi 肽还具有剂量-浓度效应。即在溶液中添加的 kokumi 肽必须达到一定浓度,才能使其表现出浓厚味;且由于其本身具有涩味,当其添加浓度过高时会引起其浓厚味味觉的减退。例如,

表1 食品中 kokumi 肽的序列、来源及呈味阈值
Table 1 The sequence, source and taste threshold of kokumi peptides in food

肽序列	来源	水溶液味感	肉汤/鲜味溶液味感	水溶液阈值 (mmol·L ⁻¹)	肉汤/鲜味 溶液阈值 (mmol·L ⁻¹)	参考文献
Pro-A-Ala-B-Met*-Cys-Arg	暗纹东方鲀	浓厚味、鲜味	-	-	-	[16]
Cys-Ala-Leu-Thr-Pro	暗纹东方鲀	浓厚味、涩味、苦味、药味	-	-	-	[17]
Arg-Pro-Leu-Gly-Asn-Cys		鲜味、浓厚味、涩味、苦味	-	-	-	
Leu-Tyr-Glu-Arg		微甜、微鲜、浓厚味	-	-	-	
Val-Arg-Ser-Tyr		微甜、微鲜、浓厚味	-	-	-	
Lys-Gly-Arg-Tyr-Glu-Arg	暗纹东方鲀肌肉酶解液	微甜、微鲜、浓厚味	-	-	-	
Tys-Lys-Cys-Lys-Asp-Gly-Asp-Leu-Arg		浓厚味、鱼鲜香	-	-	-	[18]
Glu-His-Ala-Met-Leu-Asn		鲜味、浓厚味	-	-	-	
Pro-Gly-Gly-Val-Arg-Asn-Gly	红鳍东方鲀(4℃)	微鲜、浓厚味、微酸	-	-	-	
Thr-Leu-Arg-Arg-Cys-Met*	暗纹东方鲀(4℃)	鲜味、浓厚味	-	-	-	
Gly-Pro-Asp-Pro-Leu-Arg-Tyr-Met		鲜味、甜味、苦味、浓厚味	-	-	-	
Asp-Pro-Leu-Arg-Tyr-Met	盐水鸭	鲜味、甜味、苦味、浓厚味	-	-	-	[19]
Val-Val-Thr-Asn-Pro-Ser-Arg-Pro-Trp		鲜味、甜味、苦味、浓厚味	-	-	-	
Cys-Pro-Arg	牛骨髓提取物	酸味、甜味	酸味、提高浓厚味	1.67	0.84	
Cys-Met-Thr	牛骨髓提取物酶解物	浓厚味	酸味、提高浓厚味	0.89	1.78	
Pro-Cys		酸味、甜味	酸味、提高浓厚味	2.87	5.73	[20]
Leu-Met	牛骨髓提取物美拉德产物	酸味、苦味	苦味、提高浓厚味	2.39	2.39	
Glu-Glu-Leu-Asn-Val-Pro-Gly		浓厚味	-	-	-	
Cys-Lys-Glu-Val-Val-Arg-Asn-Ala-Asn-Glu	乳蛋白酶解产物	浓厚味	-	-	-	[21]
Lys-Asp-Leu-Phe-Asp-Pro-Val-Ile-Gln-Asp	鸡肉酶解物	酸味、涩味	提高肉味、浓厚味	-	-	[22]
Leu-Lys		苦味	苦味、浓厚味	2.4	1.2	
Leu-Gln		苦味	苦味、浓厚味	1.2	0.6	
Leu-Ala		苦味	苦味、浓厚味	3.1	0.4	
Leu-Glu		苦味	苦味、浓厚味	2.4	0.3	
Leu-Thr		苦味	苦味、浓厚味	1.3	0.7	
Ala-Leu	酵母提取物	苦味	苦味、浓厚味	6.2	1.5	[23]
Glu-Cys-Gly		酸味	浓厚味	4.1	1.0	
Glu-Leu		苦味	苦味、浓厚味	4.8	0.6	
Glu-Val		无味	浓厚味	>20.2	0.6	
Glu-Tyr		苦味	苦味、浓厚味	4.0	1.0	
Gly-His-Gly-Asp	双孢蘑菇	涩味、苦味	鲜味、咸味、酸味、浓厚味	-	-	[24]
Gly-Leu-Pro-Asp		涩味、酸味	鲜味、咸味、浓厚味	-	-	
γ-Glu-Val-Gly	扇贝/鱼酱/虾酱/酱油/酒精饮料/发酵鱼	-	浓厚味	-	-	[25-30]
γ-Glu-Leu		涩味	浓厚味	9.4	0.8(0.4-1.6)	
γ-Glu-Val	菜豆	涩味	浓厚味	3.3	0.4(0.2-0.8)	[31]
γ-Glu-Cys-β-Ala		涩味	浓厚味	3.8	0.2(0.1-0.4)	
γ-Glu-Tyr	大豆	涩味、苦味	浓厚味	-	3.0 μmol/L	[32-33]
γ-Glu-Phe		涩味、苦味	浓厚味	-	2.0 μmol/L	
γ-Glu-Glu		-	浓厚味	-	17.5 μmol/kg	
γ-Glu-Gly		-	浓厚味	-	17.5 μmol/kg	
γ-Glu-His		-	浓厚味	-	10.0 μmol/kg	
γ-Glu-Gln	奶酪/发酵面团	-	浓厚味	-	7.5 μmol/kg	[34-35]
γ-Glu-Met		-	浓厚味	-	5.0 μmol/kg	
γ-Glu-Leu		-	浓厚味	-	5.0 μmol/kg	
γ-Glu-Ile	发酵面团	-	浓厚味	-	-	[35]
γ-Glu-Phe		涩味	浓厚味、满口感	2.5	0.78	
γ-[Glu] ₂ -Phe		涩味	浓厚味、满口感	3.34	0.96	
γ-[Glu] ₃ -Phe	酶合成	涩味	浓厚味、满口感	3.58	1.10	[36]
γ-[Glu] ₄ -Phe		涩味	浓厚味、满口感	3.69	1.25	
γ-[Glu] ₅ -Phe		涩味	浓厚味、满口感	3.92	1.33	
γ-[Glu] ₂ -Val		涩味	浓厚味	3.01	0.65	
γ-[Glu] ₃ -Val		涩味	浓厚味	2.89	0.73	
γ-[Glu] ₄ -Val		涩味	浓厚味	2.60	0.85	
γ-[Glu] ₂ -Met	酶合成	涩味	浓厚味	2.61	0.61	[37]
γ-[Glu] ₃ -Met		涩味	浓厚味	2.58	0.70	
γ-[Glu] ₄ -Met		涩味	浓厚味	2.49	0.89	

注:A和B均为氨基酸代码, Met*表示氧化型甲硫氨酸;-表示文献中未阐述。

来源于酵母提取物中的 kokumi 肽在浓度超过其阈值浓度的 16 倍时,其浓厚味感开始下降,而且 Ala-Val、Tyr-Glu 和 Ala-Tyr 在浓度分别达到 26.4、16.1 和 19.8 mmol·L⁻¹ 时才开始呈现出浓厚味感^[23]。Yang 等^[36-37]在对 γ-[Glu]_n-Phe、γ-[Glu]_(n+1)-Val 和 γ-[Glu]_(n+1)-Met 的研究中也发现,当这些 γ-谷氨酰胺的浓度超过 3 mmol·L⁻¹ 时,能产生鲜味和浓厚感,但当剂量浓度超过 5 mmol·L⁻¹ 时,浓厚味感会减退并产生涩味。

2.3 Kokumi 肽的呈味机制

目前的研究认为, kokumi 肽具有激活钙敏感受体 (calcium-sensing receptor, CaSR) 的能力,从而产生浓厚味感^[43,45,10]。CaSR 位于味感细胞的膜表面,是属于典型的 G 蛋白偶联受体 C 家族的第二组成员,由 1078 个氨基酸残基组成^[46-47]。早在 2009 年, San 等^[46]发现小鼠的味感细胞中存在 CaSR,并首次证实了 CaSR 是引起哺乳动物浓厚味感的潜在味觉组织。此后,多位学者开始研究浓厚感味觉与 CaSR

之间的关联性。Kuroda 等^[45]研究发现, GSH、 γ -Glu-Ala、 γ -Glu-Val、 γ -Glu-Cys、 γ -Glu-Abu-Gly (Abu: α -氨基丁酸) 和 γ -Glu-Val-Gly 等物质的浓厚味强度与 CaSR 活性呈显著正相关。此研究还发现, 当加入 CaSR 特异性拮抗剂 NPS-2143 后, 能显著降低 GSH 和 γ -Glu-Val-Gly 的味觉强度, 这说明 CaSR 参与了 kokumi 物质的呈味效应。Yutaka 团队的研究同样也证实了上述的结论, 并且还发现 CaSR 不直接参与鲜味或甜味的信号传递, 证明了表达 CaSR 的味觉细胞是区别于 T1R3 表达鲜味或甜味受体细胞的细胞亚群, 是 kokumi 物质的主要检测器^[10]。

此外, 具有浓厚味活性的 γ -谷氨酰胺的氨基酸序列可能对 CaSR 的激活有一定的影响。Amino 等^[48]通过研究具有浓厚味活性的 γ -谷氨酰胺结构与 CaSR 活性的关系中发现, N-端为 L-构型的 γ -谷氨酰胺残基, 且第二个残基连接的中等大小、脂肪族中性取代基的 γ -谷氨酰胺二或者三肽具有很强的激活 CaSR 的能力。但是, 由于氨基酸的排列顺序复杂多样, 单一的排列规则无法代表具有浓厚味活性的 γ -谷氨酰胺的氨基酸序列特点。因此, kokumi 肽的浓厚味机制仍有待进一步研究。

3 Kokumi 肽的制备方法

由于 kokumi 肽独特的呈味特性, 含有 kokumi 肽的食用调味品生产日益受到人们的关注。根据现有的研究, kokumi 肽的制备方法主要分为化学合成法、酶合成法和微生物发酵法。

3.1 化学合成法

化学合成法是以氨基酸为原料, 利用一系列化学反应来进行肽键缩合的方法。该法主要集中在二肽和三肽的合成, 特点是纯度高、稳定性好, 但操作繁琐、反应复杂、产率低、价格昂贵, 且制备过程中需要用到一些合成试剂如偶联剂和酰化试剂等, 存在一定的毒副作用^[49]。化学合成法多适用于纯度要求极高的 kokumi 肽的制备, 其产物主要应用于实验室的分析检测, 无法满足 kokumi 肽产业化生产的需求。

3.2 酶合成法

目前最常见的 kokumi 肽为 γ -谷氨酰胺, 多项研究报道该类 kokumi 肽是由生物酶合成的。酶合成法是利用酶制剂在特定的底物和反应条件下催化合成 γ -谷氨酰胺的方法。最常用的两种酶是 γ -谷氨酰转氨酶 (γ -glutamyl transpeptidase, GGT) 和谷氨酰胺酶 (glutaminase)。GGT 属于转移酶, 它能诱导 γ -谷氨酰基的转移反应和谷氨酰胺的水解反应, 使 γ -谷氨酰基与不同的氨基酸结合生成不同的 γ -谷氨酰胺, 且反应不需要消耗 ATP。早在 2009 年, Toelstede 等^[50]研究发现, 对蓝色脉纹奶酪具有浓厚味贡献的一组 γ -谷氨酰胺二肽是由青霉菌 (*Penicillium roquefortii*) 中的 GGT 参与合成的。同样地, Hillmann 等^[51]利用 GGT 活性检测 and 同位素标记法证实了帕玛森乳酪成熟过程中的浓厚味 γ -谷氨酰胺二肽是由牛奶原料中的 GGT 催化产生的。另一项研究也发现, 将 GGT 添加到日本发酵豆酱中能显著提高 γ -Glu-Val 和 γ -Glu-Val-Gly 的浓度, 并使豆酱的鲜

味和浓厚味得到提升^[52]。另一种谷氨酰胺酶同样具有合成 γ -谷氨酰胺的能力。Yang 等研究发现, 来源于淀粉芽孢杆菌的谷氨酰胺酶可以催化合成几种 γ -谷氨酰胺 (γ -[Glu]_(n≤5)-Phe/Val/Met), 且这些短肽都具有良好的浓厚味活性^[36-37, 53]。此外, Suzukit 等^[54]同样证明了淀粉芽孢杆菌中的谷氨酰胺酶可以显著增加大豆蛋白和谷蛋白水解产物的浓厚味感。简言之, 利用生物酶的催化特性生产 kokumi 肽, 能够克服化学合成法的产率低、成本高和毒副作用的缺点, 为 kokumi 肽的食用调味品生产提供良好的发展前景。

3.3 微生物发酵法

微生物发酵法是利用特定微生物代谢活动产生的多种酶类, 使大分子蛋白质降解生成小分子肽段的方法。最为典型具有浓厚味活性的 GSH 是仅有的利用酵母菌发酵实现产业化生产的 γ -谷氨酰胺^[55-56]。但是利用微生物发酵法生产其他浓厚味活性的 γ -谷氨酰胺仍处于初步阶段。Zhao 等^[35]研究发现, 在面团发酵过程中添加罗伊氏乳杆菌能显著增加 6 种 γ -谷氨酰胺二肽的含量, 且当添加不同的罗伊氏乳杆菌株时, 其发酵液中的 γ -谷氨酰胺二肽含量也会产生差异。此外, 许多研究证实了 γ -Glu-Val-Gly 的形成与多种微生物有关。Kuroda 等^[26]推断鱼酱中 γ -Glu-Val-Gly 的形成可能与芽孢杆菌 (*Bacillus*)、假单胞菌 (*Pseudomonas*)、盐杆菌 (*Halobacterium*)、弧杆菌 (*Vibrionaceae*) 和棒状杆菌 (*Corynebacterium*) 等的代谢活动有关。Sofyanovich 团队^[58]的研究发现, γ -Glu-Val-Gly 是酿酒酵母生理反应的重要产物。另一项研究利用主成分分析同样地证实了 γ -Glu-Val-Gly 的形成与嗜盐四联球菌属 (*Tetragenococcus* spp.) 和芽孢杆菌属 (*Lentibacillus* spp.) 呈显著的正相关关系^[30]。由此可见, 具有浓厚味活性的 γ -谷氨酰胺的形成与多种微生物有关, 利用微生物发酵法生产 γ -谷氨酰胺同样具有良好的前景, 但是微生物发酵法所得到的 γ -谷氨酰胺组成一般较为复杂, 无法获得单一的目标 γ -谷氨酰胺, 分离纯化微生物发酵产物中具有浓厚味活性的 γ -谷氨酰胺是实现产业化生产亟需攻克的难题。

4 结语

随着人们生活水平的提高, 对食品的风味和质量有了新的追求, 越来越趋向于“低盐、低糖、低脂”的健康饮食方式。Kokumi 肽是继鲜味肽之后的一种新型食品调味剂, 具有增强食品浓厚味感、延长回味、提升食品整体协调性和丰富度的特点, 并且味觉阈值低, 少量添加便能增加其他基本味感, 能够有效地减少盐和糖等食品调味剂的使用量, 符合人们追求食品天然属性的心理需求。但是, 目前我国对 kokumi 肽的研究开发仍处于初步阶段, 且停留在实验室的分离鉴定和 kokumi 肽与其它味感物质的复合应用研究上, 对 kokumi 肽的制备技术尚未成熟, 未能利用现有的生物工程技术实现 kokumi 肽的产业化生产。因此, 如何科学地利用酶和微生物生产 kokumi 肽, 提高产物的获得率和稳定性, 以及进一步加强

kokumi 的味感特性和呈味机制的研究, 并有目的地合成、改造或设计 kokumi 肽, 对于丰富调味品种类, 推动 kokumi 肽实现产业化生产和调味品行业的健康发展具有重要意义。

参考文献

- [1] 张晓鸣, 夏书芹, 贾承胜, 等. 食品风味化学[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2009: 16-31.
- [2] Hiroshi M, Hisayuki U, Misako K. Taste-active components in foods, with concentration on umami compounds [J]. *Journal of Health Science*, 2009, 55(5): 667-673.
- [3] Kurihara K. Glutamate: From discovery as a food flavor to role as a basic taste (umami) [J]. *American Journal of Clinical Nutrition*, 2009, 90(3): 719S-722.
- [4] Ueda Y, Sakaguchi M, Hirayama K, et al. Characteristic flavor constituents in water extract of garlic [J]. *Agricultural & Biological Chemistry*, 1990, 54(1): 163-169.
- [5] 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.
- [6] 韩富亮, 郭安鹤, 王华, 等. 食源性鲜味肽和浓厚感肽的研究进展[J]. *食品科学*, 2015, 36(23): 314-320.
- [7] Yin Z, Chandrasekar V, Zhong L P, et al. Novel umami ingredients; Umami peptides and their taste [J]. *Journal of Food Science*, 2017, 82(1): 16-23.
- [8] Chris W, Adri D K, Jan V, et al. New developments in umami (enhancing) molecules [J]. *Chemistry & Biodiversity*, 2008, 5(6): 1195-1203.
- [9] 姚玉静, 崔春, 黄俊伟. γ -谷氨酰胺呈味特性、鉴定及制备方法研究进展[J]. *中国调味品*, 2016, 41(3): 146-152.
- [10] Maruyama Y, Yasuda R, Kuroda M, et al. Kokumi substances, enhancers of basic tastes, induce responses in calcium-sensing receptor expressing taste cells [J]. *PLoS One*, 2012, 7(4): 34489.
- [11] Kurobayashi Y, Katsumi Y, Fujita A, et al. Flavor enhancement of chicken broth from boiled celery constituents [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, 56(2): 512-516.
- [12] Kaoru K. Oral sensing of food properties [J]. *Journal of Texture Studies*, 2015, 46(3): 138-151.
- [13] Ueda Y, Tsubuku T, Miyajima R. Composition of sulfur-containing components in onion and their flavor characters [J]. *Bioscience Biotechnology & Biochemistry*, 1994, 58(1): 108-110.
- [14] Roudot-Algaron F, Kerhoas L, Le Bars D, et al. Isolation of γ -glutamyl peptides from comté cheese [J]. *Journal of Dairy Science*, 1994, 77(5): 1161-1166.
- [15] Ueda Y, Yonemitsu M, Tsubuku T, et al. Flavor characteristics of glutathione in raw and cooked foodstuffs [J]. *Bioscience Biotechnology & Biochemistry*, 1997, 61(12): 1977-1980.
- [16] 刘源, 仇春洪, 王锡昌, 等. 养殖暗纹东方鲀肌肉中呈味肽的分离鉴定[J]. *现代食品科技*, 2014, 30(8): 38-42.
- [17] 刘源, 马垒, 仇春洪, 等. 热加工暗纹东方鲀肌肉中呈味肽分离鉴定及呈味特性研究[J]. *现代食品科技*, 2016, 32(3): 152-157.
- [18] 刘源, 王文利, 张丹妮. 食品鲜味研究进展[J]. *中国食品学报*, 2017, 17(9): 1-10.
- [19] 陶正清, 刘登勇, 戴琛, 等. 盐水鸭呈味肽的分离纯化及结构鉴定[J]. *南京农业大学学报*, 2014, 37(5): 135-142.
- [20] Xu X, You M, Song H, et al. Investigation of umami and kokumi taste-active components in bovine bone marrow extract produced during enzymatic hydrolysis and Maillard reaction [J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2018, 53(11): 2465-2481.
- [21] 王蓓, 许时婴. 乳蛋白酶解产物呈味肽序列的研究[J]. *食品科学*, 2010, 31(7): 140-145.
- [22] Zhang Y S, Ma Y, Zaheer A, et al. Purification and identification of kokumi-enhancing peptides from chicken protein hydrolysate [J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2019, 54(6): 2151-2158.
- [23] Liu J B, Song H L, Liu Y, et al. Discovery of kokumi peptide from yeast extract by LC-Q-TOF-MS/MS and sensomics approach [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2015, 95(15): 3183-3194.
- [24] Feng T, Wu Y, Zhang Z W, et al. Purification, identification, and sensory evaluation of kokumi peptides from *Agaricus bisporus* mushroom [J]. *Foods (Basel, Switzerland)*, 2019, 8(2): 43.
- [25] Motonaka K, Yumiko K, Junko Y, et al. Determination of γ -glutamyl-valyl-glycine in raw scallop and processed scallop products using high pressure liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Food Chemistry*, 2012, 134(3): 1640-1644.
- [26] Kuroda M, Kato Y, Yamazaki J, et al. Determination and quantification of γ -glutamyl-valyl-glycine in commercial fish sauces [J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2012, 60(29): 7291-7296.
- [27] Miyamura N, Kuroda M, Kato Y, et al. Determination and quantification of a kokumi peptide, γ -glutamyl-valyl-glycine, in fermented shrimp paste condiments [J]. *Food Science & Technology Research*, 2014, 20(3): 699-703.
- [28] Kuroda M, Kato Y, Yamazaki J, et al. Determination and quantification of the kokumi peptide, γ -glutamyl-valyl-glycine, in commercial soy sauces [J]. *Food Chemistry*, 2013, 141(2): 823-828.
- [29] Miyamura N, Iida Y, Kuroda M, et al. Determination and quantification of kokumi peptide, γ -glutamyl-valyl-glycine, in brewed alcoholic beverages [J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2015, 120(3): 311-314.
- [30] Phewpan A, Phuwaprisrisan P, Takahashi H, et al. Investigation of kokumi substances and bacteria in thai fermented freshwater fish (pla-ra) [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2019. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jafc.9b06107>.
- [31] Hofmann T, Dunkel A. Molecular and sensory characterization of gamma-glutamyl peptides as key contributors to the kokumi taste of edible beans (*Phaseolus vulgaris* L.) [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, 55(16): 6712-6719.

- [32] Masayuki S, Motohiko H, Yukiko M, et al. Isolation and characterization of key contributors to the “kokumi” taste in soybean seeds [J]. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 2017, 81(11):2168–2177.
- [33] Masayuki S, Motohiko H, Yukiko M, et al. Diversity of γ -glutamyl peptides and oligosaccharides, the “kokumi” taste enhancers, in seeds from soybean mini core collections [J]. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 2018, 82(3):507–514.
- [34] Toelstede S, Dunkel A, Hofmann T. A series of kokumi peptides impart the long-lasting mouthfulness of matured Gouda cheese [J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2009, 57(4):1440–1448.
- [35] Zhao C J, Gänzle M G. Synthesis of taste-active γ -glutamyl dipeptides during sourdough fermentation by *Lactobacillus reuteri* [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2016, 64(40):7561–7568.
- [36] Yang J, Sun-Waterhouse D, Cui C, et al. Synthesis and sensory characteristics of kokumi γ -[Glu]-n-Phe in the presence of glutamine and phenylalanine: Glutaminase from *Bacillus amyloliquefaciens* or *Aspergillus oryzae* as the catalyst [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2017, 65(39):8696–8703.
- [37] Yang J, Sun-Waterhouse D, Xie J, et al. Comparison of kokumi γ -[Glu] ($n > 1$)-Val and γ -[Glu] ($n > 1$)-Met synthesized through transpeptidation catalyzed by glutaminase from *Bacillus amyloliquefaciens* [J]. *Food Chemistry*, 2018, 247(1):89–97.
- [38] Wang W L, Zhang L, Wang Z Q, et al. Physicochemical and sensory variables of Maillard reaction products obtained from *Takifugu obscurus* muscle hydrolysates [J]. *Food Chemistry*, 2019, 290:40–46.
- [39] 刘建彬, 宋焕禄. 酵母抽提物鲜味 (umami) 及浓厚味 (kokumi) 滋味活性的评价与研究 [J]. *中国酿造*, 2014, 33(1):99–104.
- [40] Zhang M X, Wang X C, Liu Y, 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.
- [41] Yang J, Bai W D, Zeng X F, et al. Gamma glutamyl peptides: The food source, enzymatic synthesis, kokumi-active and the potential functional properties – A review [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2019, 91:339–346.
- [42] Kajimoto Y, Suzuki H, Kumagai H. Improvement of the bitter taste of amino acids through the transpeptidation reaction of bacterial γ -glutamyl transpeptidase [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002, 50(2):313–318.
- [43] Ohsu T, Amino Y, Nagasaki H, et al. Involvement of the calcium-sensing receptor in human taste perception [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2010, 285(2):1016–1022.
- [44] Miyaki T, Kawasaki H, Kuroda M, et al. Effect of a kokumi peptide, γ -glutamyl-valyl-glycine, on the sensory characteristics of chicken consommé [J]. *Flavour*, 2015, 4(1):1–8.
- [45] Kuroda M, Miyamura N. Mechanism of the perception of “kokumi” substances and the sensory characteristics of the “kokumi” peptide, γ -Glu-Val-Gly [J]. *Flavour*, 2015, 4(1):1–3.
- [46] San-Gabriel A, Uneyama H, Maekawa T, et al. The calcium-sensing receptor in taste tissue [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2009, 378(3):414–418.
- [47] Geng Y, Mosyak L, Kurinov I, et al. Structural mechanism of ligand activation in human calcium-sensing receptor [J]. *eLife*, 2016, 5, e13662.
- [48] Amino Y, Nakazawa M, Kaneko M, et al. Structure-CaSR-activity relation of kokumi γ -glutamyl peptides [J]. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 2016, 64(8):1181–1189.
- [49] 马洪龙, 韩飞, 李爱科, 等. 谷氨酰胺及其结合肽的研究进展 [J]. *粮油食品科技*, 2014, 22(3):76–81.
- [50] Toelstede S, Hofmann T. Kokumi-active glutamyl peptides in cheeses and their biogenesis by *Penicillium roquefortii* [J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2009, 57(9):3738–3748.
- [51] Hillmann H, Behr J, Ehrmann M A, et al. Formation of kokumi-enhancing γ -glutamyl dipeptides in parmesan cheese by means of γ -glutamyltransferase activity and stable isotope double-labeling studies [J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2016, 64(8):1784.
- [52] Vanho T, Suzuki H. Increase of “umami” and “kokumi” compounds in miso, fermented soybeans, by the addition of bacterial γ -glutamyltranspeptidase [J]. *International Journal of Food Studies*, 2013, 2(1):39–47.
- [53] Yang J, Sun-Waterhouse D, Cui C, et al. Gamma-glutamyl peptides: Favorable catalytic actions of glutaminase [J]. *LWT – Food Science and Technology*, 2018, 96:315–321.
- [54] Suzukit H, Nakafuji Y, Tamura T. New Method to produce kokumi seasoning from protein hydrolysates using bacterial enzymes [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2017, 65(48):10514–10519.
- [55] 王大慧, 卫功元. 谷胱甘肽的应用前景及生产研究现状 [J]. *化学与生物工程*, 2004, 21(3):10–12.
- [56] 刘宜锋, 曹新志. 新型食品添加剂——谷胱甘肽 [J]. *福州大学学报 (自然科学版)*, 2002, 30(S1):714–717, 721.
- [57] Sofyanovich O A, Nishiuchi H, Yamagishi K, et al. Multiple pathways for the formation of the γ -glutamyl peptides γ -glutamyl-valine and γ -glutamyl-valyl-glycine in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *PLoS One*:2019, 14(5), e0216622.