

德氏乳杆菌 QS701 产 ACE 抑制肽发酵条件的优化

吴楠, 万月, 许伟瀚, 双全*

(内蒙古农业大学食品科学与工程学院, 内蒙古呼和浩特 010018)

摘要:通过单因素和正交实验对德氏乳杆菌 QS701 产 ACE 抑制肽的发酵条件进行优化, 以期提高 ACE 抑制肽的产量, 并对该菌株的生长特征进行探讨。结果显示, 影响 ACE 抑制活性的发酵条件的顺序为: 发酵时间 > 发酵温度 > 接种量, 在此实验中, 德氏乳杆菌 QS701 的最佳发酵条件为: 接种量 3%、温度 43 ℃、发酵时间 72 h, 在此条件下 ACE 抑制率可达到 81.58%, 所以将此发酵条件应用于 ACE 抑制肽的制备中。

关键词:德氏乳杆菌 QS701, ACE 抑制肽, 正交实验, 发酵

Optimization of Fermentation Condition for Angiotensin Converting Enzyme Inhibitory Peptide from *Lactobacillus delbrueckii* QS701

WU Nan, WAN Yue, XU Wei-han, SHUANG Quan*

(College of Food Science and Engineering, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China)

Abstract: Single-factor test and orthogonal experiment was used to optimize fermentation condition of the *Lactobacillus delbrueckii* QS701 to prepare highly active angiotensin-I converting enzyme (ACE) inhibitory peptides. And the results showed the effect of these factors of angiotensin converting enzyme inhibitory active was the ratio of fermentation time > fermentation temperature > inoculum size. The optimum of fermentation conditions was inoculum size 3%, temperature 43 ℃, fermentation time 72 h, and the result of ACE inhibitory rate was 81.58%, so this fermentation condition used in to prepare highly active angiotensin-I converting enzyme (ACE) inhibitory peptides.

Key words: *Lactobacillus delbrueckii* QS701; angiotensin converting enzyme inhibitory peptide; orthogonal test; fermentation

中图分类号: TS201.3

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2018)13-0230-05

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2018.13.041

引文格式: 吴楠, 万月, 许伟瀚, 等. 德氏乳杆菌 QS701 产 ACE 抑制肽发酵条件的优化[J]. 食品工业科技, 2018, 39(13): 230-233, 280.

高血压是一种较常见的慢性疾病, 具有很高的致残及死亡率, 发达国家高血压的发病率已超过 20%, 而世界各国的平均发病率也已达到 10%~20%^[1]。目前, 我国至少有两亿人患高血压, 而且患病人数在不断的增长, 所以高血压的防治已成为国内外研究的热点。随着生物技术及医学技术的不断发展, 高血压的治疗方法也在不断的变革, 要求既有降血压的作用, 又对身体及靶器官没有伤害, 并且不会引起人体的免疫排斥反应^[2-8]。

血管紧张素转换酶 (Angiotensin converting enzyme, ACE) 是一种膜结合的二肽羧基酶, 在人体组织和血浆中广泛存在, 在肺部含量最多, 具有调节血压的作用^[3]。ACE 主要通过肾素-血管紧张素系统 (Renin-Angiotensin System, RAS) 和激肽释放酶-激

肽系统 (Kallikrein-kinin System, KKS) 对血压进行调节^[9]。在 RAS 中, ACE 使不具有活性的血管紧张素 I 转化为具有强烈收缩作用的血管紧张素 II。在 KKS 中, ACE 能催化具有降压作用的舒缓激肽降解。因此, 抑制 ACE 的活性被认为是治疗高血压的一种重要且有效的方法^[5]。目前用于治疗高血压的药物, 如: 卡托普利、赖诺普利、阿拉普利等, 都是化学合成的 ACE 抑制剂, 虽然其降压效果显著, 但长期使用会出现严重的副作用, 这就促使人们去寻找更有效的 ACE 抑制剂^[10]。

血管紧张素转化酶抑制肽 (Angiotensin converting enzyme inhibitory peptides, ACEI) 是一种具有降血压作用的生物活性肽, ACE 抑制肽的探究起源于 1965 年, Ferreira^[11] 从南美蝮蛇的毒液中发现,

收稿日期: 2017-09-21

作者简介: 吴楠 (1993-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品生物技术, E-mail: nndwunan@163.com。

* 通讯作者: 双全 (1964-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 食品科学, E-mail: shuangquan688@126.com。

基金项目: 国家自然科学基金 (31460443); 内蒙古自治区科创引导项目 (KCBJ2018011)。

由此开始 ACE 抑制肽成为国内外学者的研究热点, 1979 年^[12]以后人们不断的从乳酪蛋白^[13]、乳清蛋白^[14]、乳酸菌发酵乳^[15]、海洋生物蛋白^[16-17]、大豆蛋白^[18]、大麦蛋白^[19]、大麻蛋白^[20]等中发现了 ACE 抑制肽, 由于从食物中提取的 ACE 抑制肽无毒副作用且有较好的 ACE 抑制活性, 所以对食源性 ACE 抑制肽的探索和研究在不断的前进。

采用乳酸菌发酵法制备的乳源 ACE 抑制肽不仅易于吸收^[21]、安全性较高^[22], 而且仅对患高血压人群有降压作用, 对血压正常的人群无作用^[23], 因此采用乳酸菌制备乳源 ACE 抑制肽, 优化其发酵条件, 并为 ACE 抑制肽的进一步纯化及后期结构与功能的研究做准备。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

供试菌株德式乳杆菌 QS701 由内蒙古农业大学食品科学与工程学院民族特色功能食品实验室提供; MRS 液体培养基、MRS 固体培养基 广东环凯微生物科技有限公司; 脱脂乳培养基(脱脂乳含量 10%)、酪氨酸(分析纯) Coolaber; 血管紧张素转化酶(ACE)、马尿酸组氨酰亮氨酸(HHL)、脱脂乳粉、十二烷基硫酸钠(SDS, 20% (w/w), 分析纯) Sigma 公司; 邻苯二甲醛(OPA) 天津福晨化学试剂厂; 乙酸乙酯、β-巯基乙醇、邻苯二甲醛; NaOH、EDTA 二钠盐、HCL、四硼酸钠 分析纯, 国药; 甲醇 分析纯, 默克(美国)。

SW-CJ-2D 双人单面垂直净化工作台 苏州安泰空气技术有限公司; LRH-150 系列生化培养箱 上海一恒科技有限公司; KDC-140HR 台式高速离心机 安徽中科中佳科学仪器有限公司; DSH-300A 旋转式恒温振荡器 上海雅荣生化设备仪器有限公司; TU1810 紫外可见分光光度计 北京普析通用仪器有限责任公司。

1.2 实验方法

1.2.1 菌株 QS701 在脱脂乳中的生长特性 将活化^[24]三代的菌株 QS701, 以 3% 的接种量接种于脱脂乳培养基中, 在 37 ℃ 下发酵 5 d, 将发酵乳离心 20 min 制得发酵乳清, 并在发酵过程中的不同时间段对发酵液的 pH、生物量、多肽浓度和 ACEI 抑制率进行测定。

1.2.1.1 发酵乳中乳酸菌生物量的测定 取乳样 1 mL, 加入 0.2% 的 EDTA 二钠盐 9 mL, 混匀, 再用 12% 的 NaOH 调 pH 到 11 左右, 于 410 nm 处测定吸光度。

1.2.1.2 发酵乳中多肽浓度测定 a. OPA 试剂的配制^[25]: 将 40 mg OPA 溶于 1 mL 的甲醇中为 A 液, 0.5 g SDS 溶于 2.5 mL 蒸馏水中(质量分数为 20%) 为 B 液, 100 μL β-巯基乙醇为 C 液, 25 mL 四硼酸钠(0.1 mol/L) 为 D 液, 将 A、B、C 以及 D 混合后定容到 50 mL 棕色容量瓶中, 避光冷藏, 现配现用。

b. 酪氨酸标准曲线的绘制: 先将酪氨酸配制成 500 μg/mL 标准溶液, 后将 500 μg/mL 标准溶液稀释成 100、200、300、400 μg/mL, 分别取 25 μL 不同浓

度的标准液加入 1 mL OPA 试剂中, 轻轻混匀, 在室温(25 ℃)下反应 2 min 后, 在 340 nm 处测定吸光值, 结果如图 1 所示。

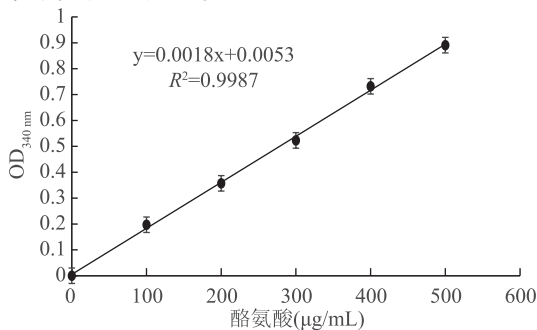


图 1 酪氨酸标准曲线

Fig.1 Standard curve of tyrosine

c. 多肽浓度: 吸取发酵乳 2.5 mL, 加入 0.5 mL 去离子水后混匀, 再加入 5 mL 0.75 mol/L 的 OPA, 室温下静置 15 min, 离心(8000 × g, 5 min)。取上清液 50 μL, 加入 1 mL OPA 试剂, 漩涡混匀, 在室温下反应 3 min, 空白对照(同等浓度灭菌脱脂乳)。340 nm 处测定吸光值, 由酪氨酸标准曲线 $y = 0.0018x + 0.0053$ 可得发酵乳中多肽浓度。

1.2.1.3 ACE 抑制率的测定 根据 Cushman^[26]的方法略做改动, 具体步骤如表 1 所示。

表 1 ACE 抑制活性的检验方法

Table 1 The method of the determination of ACE inhibitory activity

试剂	样品量		
	Aa	Ab	Ac
HCL	0	0	200 μL
ACE	40 μL	40 μL	40 μL
乳清	0	40 μL	0
37 ℃ 水浴 5 min			
HHL	80 μL	80 μL	80 μL
37 ℃ 水浴 30~60 min			
HCL	200 μL	200 μL	
乙酸乙酯	1 mL	1 mL	1 mL

将经过处理的样品漩涡混匀, 3000 × g 10 min, 取 0.8 mL 的上层清液至 1 mL 离心管中, 45 ℃ 水浴蒸干后(时间大约为 5 h), 加入 1 mL 去离子水, 漩涡混匀 30 s, 使其充分溶解, 228 nm 处测定吸光值, 按下式计算 ACE 抑制肽的抑制率:

$$\text{ACE 抑制率 ACE}(\%) = (Aa - Ab) / (Aa - Ac) \times 100$$

式中: Aa: 未加入发酵乳清对照组吸光值; Ab: 反应组吸光值; Ac: 空白组吸光值。

1.2.2 菌株 QS701 发酵条件的优化

1.2.2.1 发酵温度对菌株 QS701 产 ACE 抑制肽的影响 活化三代后的菌株以 3% 的接种量接种于灭菌脱脂乳培养基中, 分别以 37、39、41、43、45 ℃ 条件下发酵 3 d, 并分别测定其乳清的 ACE 抑制活性和多肽浓度。

1.2.2.2 接种量对菌株 QS701 产 ACE 抑制肽的影响 活化三代后的菌株分别以 1%、2%、3%、4% 和

5%的接种量接种于灭菌脱脂乳培养基中,42℃发酵3 d,并分别测定其乳清的ACE抑制活性和多肽浓度。

1.2.2.3 发酵时间对菌株QS701产ACE抑制肽的影响 活化三代后的菌株以3%的接种量接种灭菌脱脂乳培养基中,在42℃下分别发酵52、62、72、82、92 h,并分别测定其乳清的ACE抑制活性和多肽浓度。

1.2.3 菌株QS701发酵条件正交实验 以单因素实验为基础,对菌株QS701产ACE抑制肽的发酵条件进行正交实验,其因素水平如表2:

表2 正交实验因素与水平
Table 2 Factors and levels of test

水平	因素		
	A 发酵温度(℃)	B 接种量(%)	C 发酵时间(h)
1	42	2	62
2	43	3	72
3	44	4	82

1.3 数据处理

采用SPSS 19.0对数据进行统计学分析,用Excel及Origin 8.0作图。

2 结果与讨论

2.1 菌株QS701发酵过程中生长情况的测定

将活化3代后的德式乳杆菌QS701接种于10%的灭菌脱脂乳培养基中连续培养5 d,每天都在固定时间取样,测其pH、生物量、多肽浓度、ACE抑制活性,结果如图2所示。

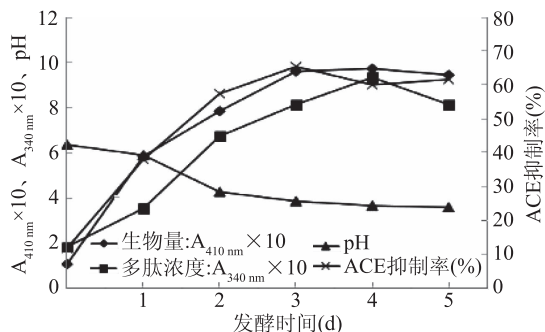


图2 *Lb.delbrueckii* QS701在脱脂乳中的生长特性

Fig.2 The characteristics of *Lb.delbrueckii* QS701 growth in skim milk

由图2可知,生物量、ACE抑制率和多肽浓度随着菌株的不断发酵,有明显的增长,尤其是在发酵2~3 d时生物量和ACE抑制率上升幅度较大,发酵3 d时达到最大值,生物量和ACE抑制率分别为9.46 ($OD_{410\text{ nm}} \times 10$)和64.29%,根据所得吸光值,带入酪氨酸标曲中得到此时多肽浓度为449.87 $\mu\text{g/mL}$;发酵过程中pH变化不明显,尤其是发酵2 d后pH趋于稳定。由于QS701在脱脂乳发酵第三天时,生长状况稳定,多肽浓度较高,ACE抑制活性较高,pH稳定,更有利于日后菌株的研究与开发,所以暂定发酵时间为3 d。

2.2 菌株QS701发酵脱脂乳产ACE抑制肽条件的优化

2.2.1 发酵温度对菌株QS701产ACE抑制肽的影响

由图3可知,从37℃开始,在发酵温度上升的同时,多肽浓度和ACE抑制率均有所提高,尤其是当发酵温度为43℃时,多肽浓度和ACE抑制率都达到最大值,但当温度超过43℃时,多肽浓度和ACE抑制率均呈下降趋势。所以当发酵温度在一定范围内,适当的温度上升有利于菌体的生长和蛋白的分解,ACE抑制率也有明显提高,但当发酵温度进一步升高,达到菌体的耐受度后,影响菌体的正常生长代谢,使得ACE抑制活性下降,因此最适发酵温度为43℃,此时多肽浓度为521.25 $\mu\text{g/mL}$,ACE抑制率为73.24%。

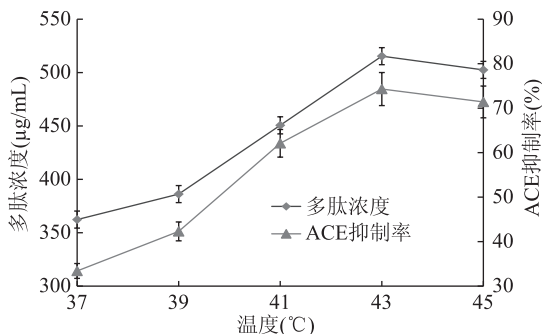


图3 发酵温度对ACE抑制率和多肽浓度的影响

Fig.3 Effect of fermentation temperature on ACE inhibitory rate and the proteolytic activity

2.2.2 接种量对菌株QS701产ACE抑制肽的影响

由图4可知,当接种量达到3%后多肽浓度和ACE抑制率的变化趋势有明显的差异,当接种量为4%时,多肽浓度为478.52 $\mu\text{g/mL}$,ACE抑制率达到72.4%,当接种量大于4%时,ACE抑制率具有明显的下降趋势,据研究表明,当接种量增大而底物浓度和含量不变,导致发酵底物满足不了菌株生长代谢的需求,导致菌株代谢中所产生的小分子肽段及其他发酵产物被重新利用,小分子肽段的减少,使得ACE抑制率下降^[27]。而多肽浓度随着接种量的加大呈上升趋势,这可能是由于菌株QS701在发酵过程中产生分泌较多的蛋白酶所致。结果与梁美艳等^[28]对*L.helveticus* TS6034的研究结果相似,因此最佳接

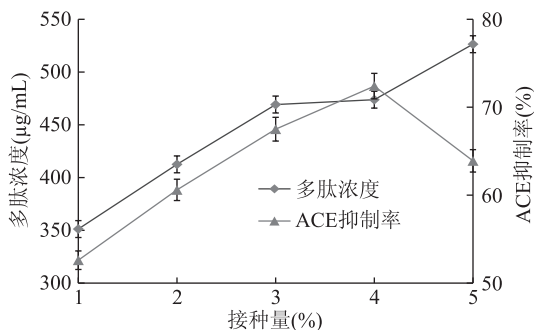


图4 接种量对ACE抑制率和多肽浓度的影响

Fig.4 Effect of inoculum on ACE inhibitory rate and the proteolytic activity

种量为 3%。

2.2.3 发酵时间对菌株 QS701 产 ACE 抑制肽的影响 由图 5 可知,随着发酵时间的变化,ACE 抑制率和多肽浓度呈现相同的变化趋势,在发酵 72 h 时,ACE 抑制率和多肽浓度达到了最大值,随着发酵时间的延长,ACE 抑制率和多肽浓度开始下降,发酵时间长,乳酸增多,pH 下降,而且发酵后期副产物的增加和积累,使菌体的生长受到了抑制,蛋白酶活力也下降,小分子肽段减少,使 ACE 抑制率降低,因此,最佳发酵时间为 72 h,此时多肽浓度为 494.62 $\mu\text{g/mL}$,ACE 抑制率为 76.41%。

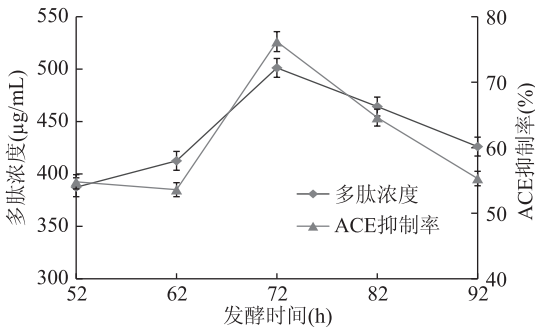


图5 发酵时间对 ACE 抑制率和多肽浓度的影响
Fig.5 Effect of fermentation time on ACE inhibitory rate and the proteolytic activity

2.3 正交实验

根据单因素的实验结果,选取对 ACE 抑制率影响较大的三个因素(发酵温度(42、43、44 $^{\circ}\text{C}$)、接种量(2%、3%、4%)、发酵时间(62、72、82 h))进行正交实验,确定最佳发酵条件。采用 $L_9(3^4)$ 正交因子水平表(见表 2),设计 $L_9(3^4)$ 正交实验,正交结果见表 3:

表3 正交实验优化发酵条件下的 ACE 抑制率

Table 3 The ACE inhibitory activity under orthogonal experiment

实验号	A	B	C	ACE 抑制率 (%)
1	1	1	1	50.50
2	1	2	2	66.70
3	1	3	3	57.91
4	2	1	2	80.36
5	2	2	3	76.50
6	2	3	1	56.11
7	3	1	3	71.36
8	3	2	1	66.85
9	3	3	2	68.82
k ₁	58.37	67.41	57.82	
k ₂	70.99	70.02	71.96	
k ₃	69.01	60.94	68.59	
R	12.62	9.08	14.14	
最优组合	A ₂ B ₂ C ₂			
主次顺序	C>A>B			

由正交实验可知,以 ACE 抑制率为评价指标,直观分析发现,各发酵因素对 ACE 抑制率的影响顺序为 C>A>B,分析可知发酵时间对 ACE 抑制率影响

最大。因此德式乳杆菌 QS701 发酵脱脂乳产 ACE 抑制肽的最佳发酵条件为 A₂B₂C₂,即发酵温度(A) 43 $^{\circ}\text{C}$,接种量(B)3%,发酵时间(C)72 h,测定此时的多肽浓度为 487.65 $\mu\text{g/mL}$,ACE 抑制率为 81.23%。

2.4 最佳发酵条件验证

根据最佳发酵条件,进行 5 组平行实验,结果见表 4:

表4 验证实验结果

Table 4 Verify the experimental results

发酵条件	实验序号	多肽浓度 ($\mu\text{g/mL}$)	ACE 抑制率 (%)
A ₂ B ₂ C ₂	1	472.31	79.63
	2	489.72	82.54
	3	471.52	78.43
	4	469.84	79.77
	5	476.51	80.18
平均值		475.98	81.58

通过验证实验说明:A₂B₂C₂ 发酵条件稳定可行,ACE 抑制率较高,达到后期进一步研究的要求。

3 结论

Lb.delbrueckii QS701 在脱脂乳培养基中生长缓慢,3 d 时达到最大值 9.46 ($\text{OD}_{410\text{ nm}} \times 10$),在发酵过程中多肽浓度和 ACE 抑制率均逐渐上升,在培养 3 d 时多肽浓度和 ACE 抑制率分别达到最大值 449.87 $\mu\text{g/mL}$ 和 64.29%。

通过单因素实验考察了不同发酵条件对菌株 QS701 发酵脱脂乳产 ACE 抑制肽的影响。利用正交实验得到优化后的发酵条件为:接种量为 3%,温度为 43 $^{\circ}\text{C}$,发酵时间为 72 h。在此最佳发酵条件下进行验证实验,所得多肽平均浓度为 475.98 $\mu\text{g/mL}$,ACE 抑制率平均值为 81.58%。实验表明此发酵条件下 ACE 抑制率较高,适用于今后的制备和研究中。

参考文献

[1]于志鹏,赵文竹,刘博群,等.血管紧张素转化酶抑制肽研究进展[J].食品科学,2010,31(11):308-311.
[2]Wang J,Hu J,Cui J,et al.Purification and identification of a ACE inhibitory peptide from oyster proteins hydrolysate and the antihypertensive effect of hydrolysate in spontaneously hypertensive rats[J].Food Chemistry,2008,111(2):302-308.
[3]梁美艳,陈庆森.具有降低心血管疾病危险的相关生物活性肽的研究现状[J].食品科学,2009,30(19):335-340.
[4]徐鑫,赵谋明,王金水,等.酪氨酸钠制备 ACE 抑制肽的研究(英文)[J].食品科学,2005,26(8):185-187.
[5]Otte J,Shalaby SMA,Zakora M,et al.Fractionation and identification of ACE-inhibitory peptides from α -lactalbumin and β -casein produced by thermolysin-catalysed hydrolysis[J].International Dairy Journal,2007,17(12):1460-1472.
[6]Paola O C,Joséa G,Roberta R,et al.Production of novel ACE inhibitory peptides from β -lactoglobulin using Protease N Amano

(下转第 280 页)

- [31]肖丽梅,钟梅,吴斌,等.1-甲基环丙烯和二氧化氯对新疆蟠桃保鲜效果的研究[J].食品科学,2009,30(12):276-280.
- [32]李素清,张艳梅,秦文.青椒气调贮藏工艺研究[J].食品工业科技,2014,35(1):318-322.
- [33]陈莲,王璐璐,林河通,等.1-MCP 延缓采后台湾青枣果实衰老及其与能量代谢的关系[J].热带作物学报,2017,38(1):175-182.
- [34]张鹏,李鑫,李江阔,等.1-MCP 处理对海棠果常温货架品质和风味的影响[J].保鲜与加工,2017,17(1):1-6.
- [35]王剑功,李江阔,张鹏,等.不同浓度1-甲基环丙烯处理

- 对油菜保鲜效果的影响[J].食品科技,2016,41(3):40-45.
- [36]赵明慧,饶景萍,辛付存,等.红富士苹果采后二氧化氯处理的保鲜作用[J].果树学报,2011,28(2):252-256.
- [37]杨娟侠,王晓芳,孙家正,等.1-MCP 和 ClO_2 对甜樱桃布鲁克斯的防腐保鲜效果[J].南方农业学报,2012(11):1745-1748.
- [38]冯叙桥,关筱歆,张鹏,等.1-MCP 结合 ClO_2 处理对冰温贮藏玫瑰香葡萄生理和品质的影响[J].食品工业科技,2012,33(17):333-338.

(上接第233页)

- [J].International Dairy Journal,2009,19(2):69-76.
- [7]Tsai J S, Pan C B S. ACE-inhibitory peptides identified from the muscle protein hydrolysate of hard clam (*Meretrix lusoria*) [J]. Process Biochemistry, 2008, 43(7):743-747.
- [8]Zhao Y, Li B, Dong S, et al. A novel ACE inhibitory peptide isolated from *Acaudina molpadioides* hydrolysate [J]. Peptides, 2009, 30(6):1028.
- [9]Ferreira S H. A Bradykinin-Potentiating Factor (BPF) present in the venom of *Bothrops jararaca* [J]. British Journal of Pharmacology & Chemotherapy, 1965, 24(1):163.
- [10]刘金明,郝玉明,祖秀光,等.关注降压药物的选择,促使更有效的降压达标[J].医学与哲学,2007,28(14):18-19.
- [11]Oshima G, Shimabukuro H, Nagasawa K. Peptide inhibitors of angiotensin I-converting enzyme in digests of gelatin by bacterial collagenase. [J]. Biochimica Et Biophysica Acta, 1979, 566(1):128-37.
- [12]Maeno M, Yamamoto N, Takano T. Identification of an antihypertensive peptide from casein hydrolysate produced by a proteinase from *Lactobacillus helveticus* CP790 [J]. Journal of Dairy Science, 1996, 79(8):1316-1321.
- [13]A Pihlanto-Leppälä, P Koskinen, K Piilola, et al. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory properties of whey protein digests: Concentration and characterization of active peptides [J]. Journal of Dairy Research, 2000, 67(1):53-64.
- [14]王宇.乳酸菌发酵乳抑制血管紧张素转化酶活性的研究[D].无锡:江南大学硕士论文,2008.
- [15]R Balti, A Bougatef, A Sila, et al. Nine novel angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory peptides from cuttlefish (*Sepia officinalis*) muscle protein hydrolysates and antihypertensive effect of the potent active peptide in spontaneously hypertensive rats [J]. Food Chemistry, 2015, 170:519-525.
- [16]T Kleekayai, PA Harnedy, MB O'Keeffe, et al., Extraction of antioxidant and ACE inhibitory peptides from Thai traditional fermented shrimp pastes [J]. Food Chemistry, 2015, 176:441-447.
- [17]S Wu, X Feng, X Lan, et al, Purification and identification of Angiotensin-I Converting Enzyme (ACE) inhibitory peptide from

- lizard fish (*Saurida elongata*) hydrolysate [J]. Journal of Functional Foods, 2015, 13:295-299.
- [18]J Wu, X Ding. Hypotensive and physiological effect of angiotensin converting enzyme inhibitory peptides derived from soy protein on spontaneously hypertensive rats [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2001, 49(1):501-6.
- [19]Gangopadhyay N, Wynne K, O'Connor P, et al. In silico and in vitro analyses of the angiotensin-I converting enzyme inhibitory activity of hydrolysates generated from crude barley (*Hordeum vulgare*) protein concentrates [J]. Food Chemistry, 2016, 203:367-374.
- [20]Teh S S, Ael-D B, Carne A, et al. Antioxidant and ACE-inhibitory activities of hemp (*Cannabis sativa* L.) protein hydrolysates produced by the proteases AFP, HT, Pro-G, actinidin and zingibain [J]. Food Chemistry, 2016, 203:199-206.
- [21]Li G H, Le G W, Shi Y H, et al. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides derived from food proteins and their physiological and pharmacological effects [J]. Nutrition Research, 2004, 24(7):469-486.
- [22]安桂香,庄桂东,徐镇凯,等.食物中血管紧张素转化酶抑制肽的研究进展[J].食品研究与开发,2006,27(6):173-175.
- [23]卫生部心血管防治研究中心.中国心血管病报告[R].北京:中国大百科全书出版社,2009:12-13.
- [24]沈启琳.高血压的治疗现状[J].中国现代医生,2010,48(20):21-22.
- [25]Suh H J, Whang J H, Kim Y S, et al. Preparation of angiotensin I converting enzyme inhibitor from corn gluten [J]. Process Biochemistry, 2015, 38(8):1239-1244.
- [26]Minervini F, Algaron F, Rizzello C G, et al. Angiotensin I-converting-enzyme-inhibitory and antibacterial peptides from *Lactobacillus helveticus* PR4 proteinase-hydrolyzed caseins of milk from six species [J]. Applied & Environmental Microbiology, 2003, 69(9):5297-5305.
- [27]谷娟,许丛丛,蔡旋,等.复合多肽对早期断奶仔猪生长性能、血液理化指标和肠道主要菌群数量的影响[J].动物营养学报,2013,25(3):579-586.
- [28]梁美艳,陈庆森.瑞士乳杆菌发酵乳制备 ACE 抑制肽的条件优化[J].食品科学,2009,30(21):155-160.