

DOI:10.13652/j.spjx.1003.5788.2022.90047

米糠蛋白源 ACE 抑制肽的酶解制备及活性研究

Enzymatic preparation and activity study of rice bran protein-derived ACE inhibitory peptides

张玲瑜¹ 苗建银¹ 曹愚² 戴伟杰²ZHANG Ling-yu¹ MIAO Jian-yin¹ CAO Yu² DAI Wei-jie²刘果¹ 李振伟³ 曹庸¹LIU Guo¹ LI Zhen-wei³ CAO Yong¹

(1. 华南农业大学食品学院广东省功能食品活性物重点实验室, 广东 广州 510642;

2. 广东惠尔泰生物科技有限公司, 广东 广州 511356; 3. 河源绿纯食品有限公司, 广东 河源 517000)

(1. *Guangdong Provincial Key Laboratory of Nutraceuticals and Functional Foods, College of Food Science, South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong 510642, China;*2. *Guangdong Huiertai Biotechnology Co., Ltd., Guangzhou, Guangdong 511356, China;*3. *Heyuan Luson Food Co., Ltd., Heyuan, Guangdong 517000, China*)

摘要:目的:开发米糠新产品。方法:以 ACE 抑制率为指标,通过单因素和响应面试验对米糠蛋白进行酶解工艺优化研究,并对最优酶解物活性肽进行超滤分离、活性评价和氨基酸组成分析。结果:米糠蛋白最优酶解工艺条件为:pH 7.2,底物质量浓度 8.2 g/100 mL,酶解温度 46 °C,酶解时间 3 h,酶添加量 0.3 g/100 g 米糠蛋白,在此条件下所得酶解物 ACE 抑制率为(73.15±0.64)%,而且酶解物含有丰富的疏水性氨基酸(23.09 g/100 g);活性分析表明,分子量<3 kDa 活性肽组分在同质量浓度(1.0 mg/mL)下 ACE 抑制活性[(81.68±1.08)%]优于分子量>3 kDa 活性肽组分[(58.65±2.21)%]和酶解物[(72.64±1.61)%]。结论:米糠蛋白酶解物具有显著的 ACE 抑制活性,活性肽组分的分子量对 ACE 抑制活性具有显著影响。

关键词:米糠蛋白;ACE 抑制肽;工艺优化;超滤;氨基酸组成

Abstract: Objective: This study aimed to develop new rice bran products. **Methods:** The ACE inhibition rate was used as an indi-

cator, and the rice bran protein was optimized by single factor and response surface experiments. The optimal enzyme hydrolysate peptides were separated by ultrafiltration, activity evaluation and amino acid composition analysis were performed.

Results: The optimal process conditions were as follows: pH 7.2, mass substrate concentration 8.2 g/100 mL, enzymolysis at 46 °C for 3 h, and enzyme addition 0.3 g/100 g rice bran protein. Under the control of these conditions, the ACE inhibition rate of the enzymatic hydrolysate was (73.15±0.64)%, and enzymatic hydrolysate was rich in hydrophobic amino acids (23.09 g/100 g). Activity analysis showed that the ACE inhibitory activity (81.68±1.08)% of <3 kDa active peptide component at the same concentration (1.0 mg/mL) was better than those of >3 kDa active peptide component (58.65±2.21)% and (72.64±1.61)%. **Conclusion:** The rice bran proteolysate obtained under the optimal process conditions has significant ACE inhibitory activity, and the molecular weight of the active peptide component significantly affects its ACE inhibitory activity.

Keywords: rice bran protein; ACE inhibitory peptide; process optimization; ultrafiltration; amino acid composition

基金项目:广州市农村科技特派员项目(编号:GZKTP201931);广东省企业科技特派员项目(编号:GDKTP2020029200);广东省现代农业产业共性关键技术研发创新团队建设项目(编号:2021KJ117)

作者简介:张玲瑜,女,华南农业大学在读硕士研究生。

通信作者:苗建银(1981—),男,华南农业大学副教授,博士。

E-mail: miaojy8181@scau.edu.cn

收稿日期:2021-08-10

高血压是一种心血管疾病,临床症状表现为血压升高,伴随头晕、头痛等^[1]。随着人口老龄化及城镇化进程的加速,高血压发病人数持续增加,目前中国高血压患者约 2.45 亿人^[2],高血压的防治已成为备受关注的问题。神经紧张素转换酶(Angiotensin I-converting Enzyme, ACE)是一类锌蛋白酶,主要存在于肺部毛细血管和肾脏

上皮细胞,在肾素—血管紧张素系统中,ACE 可以将血管紧张素 I 裂解为可引起血管收缩的血管紧张素 II,进而引起高血压^[3-5]。因此,研究中常用抑制 ACE 的手段达到降血压的效果。

市面上常见的降压药如卡托普利、赖诺普利等化学合成类药物,虽具有明显的降压效果,但服用会伴随一些副作用,如咳嗽、皮肤过敏、味觉紊乱等^[6]。食源性生物活性肽来源广泛,安全性高,是化学合成药品的理想替代物,而目前有大量研究表明具有 ACE 抑制活性的食源性生物活性肽有显著的降血压功效,如南瓜籽肽^[7]、大米肽^[8]、芝麻籽肽^[9]、香菇蛋白肽^[10]等。

中国水稻产量丰富,稻谷年均总产量达 2 亿 t 以上,但稻米加工仍处于初加工状态,有效利用率只有 60%~65%,大量米糠等资源未得到有效开发^[11]。米糠是稻谷脱壳后精碾大米的副产物,稻米在加工为食用大米时约产生 10% 的米糠,而这些米糠含有的营养物质几乎占整个稻米的 65%^[12]。米糠中含有约 12%~20% 的蛋白质,氨基酸含量十分丰富^[13],米糠蛋白经水解后可获得多种生物活性肽,如阿片拮抗肽^[14]、抗氧化肽^[15]、免疫功能调节肽^[16]等。目前关于米糠蛋白 ACE 抑制肽的研究报道较少,且在酶解工艺上多采用碱性蛋白酶^[17-18],而过高的 pH 在实际生产中易对工厂设备造成腐蚀损耗且后续加工增加了脱盐环节。此外酶添加量、酶解时间、温度等因素的选择都会对实际生产的能耗产生影响,因此寻求经济、环保的生产工艺值得深入探讨。

试验拟以 ACE 抑制率为指标,从酶种类、pH、酶添加量、底物质量浓度、酶解温度等方面进行酶解工艺的优化以获取 ACE 抑制肽制备的最优工艺条件,并检测其氨基酸组成,通过超滤进行初步分离,以期为进一步对 ACE 抑制肽进行分离纯化和研究其 ACE 抑制机理提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

米糠:由实验室自制;

胃蛋白酶: 3.0×10^3 NF·U/mg,广西南宁庞博生物工程有限公司;

木瓜蛋白酶: 2.0×10^5 U/g,广西南宁庞博生物工程有限公司;

胰蛋白酶: 2.5×10^5 U/g,广西南宁庞博生物工程有限公司;

中性蛋白酶:5 U/mg,上海麦克林生化科技有限公司;

4-(2-羟乙基)-1-哌嗪乙磺酸(HEPES)、N-[3-(2-呋喃基)丙烯酰]-L-苯丙氨酸-甘氨酸-甘氨酸(FAPGG)、血

管紧张素转换酶(ACE,来源于兔肺):美国 Sigma 公司;
氢氧化钠:分析纯,上海麦克林生化科技有限公司;
盐酸:分析纯,河南标准物质研发中心。

1.1.2 主要仪器设备

pH 计:PHS-3CW 型,赛多利斯科学仪器(北京)有限公司;

数显恒温水浴锅:HH-4 型,金坛市华城海龙实验仪器厂;

电子天平:ME204/02 型,梅特勒—托利多仪器(上海)有限公司;

多功能酶标仪:2300 型,美国 Perkin Elmer 公司;

台式低速离心机:L530 型,湖南湘仪实验室仪器开发有限公司;

冷冻干燥机:FD-1 型,海门市其林贝尔仪器制造有限公司;

恒温振荡培养箱:HZQ-C 型,常州澳华仪器有限公司。

1.2 方法

1.2.1 米糠蛋白酶解物制备 称取一定量的米糠蛋白粉,用蒸馏水溶解后调节 pH 至合适范围,将样品放入水浴锅,待样液温度达到设定温度后添加一定比例蛋白酶,水浴酶解 3 h,90 °C 水浴灭酶 10 min,冷却至室温,4 000 r/min 离心 20 min,取上清液,即为米糠蛋白酶解物。

1.2.2 ACE 抑制率测定 参照骆琳等^[19]的方法,修改如下:用 96 孔板,在样品孔中分别添加 40 μ L 的样液、50 μ L 的吡喃丙酰三肽(FAPGG)和 10 μ L 的 ACE 酶;在空白孔中分别加入 40 μ L 的 HEPES 缓冲溶液、50 μ L 的 FAPGG 和 10 μ L 的 ACE 酶,使用酶标仪检测其 340 nm 处的吸光值并记录,在 37 °C 下恒温保存 30 min 后再检测一次其在 340 nm 处的吸光值并记录,按式(1)计算 ACE 抑制率。

$$R = \frac{(a_1 - a_2) - (b_1 - b_2)}{(a_1 - a_2)} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

R——ACE 抑制率,%;

a_1 ——空白孔 340 nm 处的初始吸光度;

a_2 ——37 °C 保温 30 min 后空白孔 340 nm 处的吸光度;

b_1 ——样品孔 340 nm 处的初始吸光度;

b_2 ——37 °C 保温 30 min 后样品孔 340 nm 处的吸光度。

1.2.3 最优酶的筛选 选取胰蛋白酶、中性蛋白酶、木瓜蛋白酶、胃蛋白酶,底物质量浓度为 4 g/100 mL 蒸馏水,酶添加量为 0.3 g/100 g 米糠蛋白,酶解 3 h,以及各自最适 pH 和温度条件下制备米糠蛋白酶解物,将酶解物稀释

10 倍后测定其 ACE 抑制率以筛选出最优蛋白酶。

1.2.4 单因素试验

(1) pH 对 ACE 抑制率的影响:用米糠蛋白与蒸馏水按 4 g/100 mL 底物质量浓度混合均匀,在 pH 为 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5 条件下加入 0.3 g/100 g 米糠蛋白的酶在 45 °C 下酶解 3 h,将酶解物稀释 10 倍后测定其 ACE 抑制率以筛选出最佳 pH 条件。

(2) 酶解温度对 ACE 抑制率的影响:用米糠蛋白与蒸馏水按 4 g/100 mL 底物质量浓度混合均匀,在 pH 为 7.0 条件下加入 0.3 g/100 g 米糠蛋白的酶分别在 35, 40, 45, 50, 55 °C 下酶解 3 h,将酶解物稀释 10 倍后测定其 ACE 抑制率以筛选出最佳酶解温度条件。

(3) 底物质量浓度对 ACE 抑制率的影响:用米糠蛋白与蒸馏水分别按 2, 4, 6, 8, 10 g/100 mL 的底物质量浓度混合均匀,在 pH 为 7.0 条件下加入 0.3 g/100 g 米糠蛋白的酶在 45 °C 下酶解 3 h,将酶解物稀释 10 倍后测定其 ACE 抑制率以筛选出最佳底物质量浓度条件。

(4) 酶添加量对 ACE 抑制率的影响:用米糠蛋白与蒸馏水按 4 g/100 mL 的底物质量浓度混合均匀,在 pH 为 7.0 条件下加入 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 g/100 g 米糠蛋白的酶在 45 °C 下酶解 3 h,将酶解物稀释 10 倍后测定其 ACE 抑制率以筛选出最佳酶添加量条件。

1.2.5 响应面优化试验 在单因素试验基础上,选取 pH、底物质量浓度和酶解温度 3 个因素,根据 Box-Behnken 试验设计原理,以米糠蛋白 ACE 抑制率为响应变量进一步优化酶解工艺。

1.2.6 酶解物和超滤组分 ACE 抑制活性评价 将最佳工艺条件下制备的酶解液通过超滤将其分成分子量 >3 kDa 和 <3 kDa 两部分,随后将最优酶解物和超滤组分冷冻干燥至粉末,在 0.5, 1.0 mg/mL 两个质量浓度下分别计算其 ACE 抑制率。

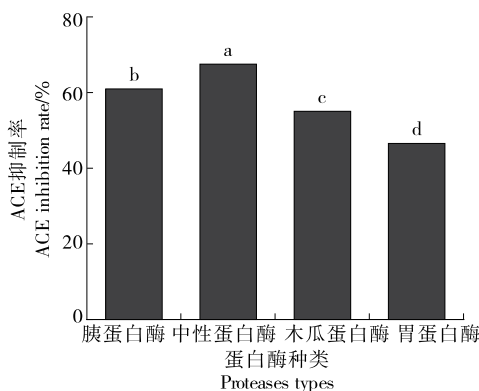
1.2.7 氨基酸组分测定 参照 GB 5009.235—2016《食品安全国家标准 食品中氨基酸态氮的测定》的外标法,酸水解后测定酶解物中氨基酸的组成及其含量,在此测定中色氨酸被完全破坏。

1.2.8 数据处理 部分数据图采用 Origin 8.6 进行绘制。采用 Design-Expert 8.0 软件进行响应面试验的设计与分析,采用 SPSS Statistics 21 软件以单因素 ANOVA 法和 Duncan 法分析数据间差异, $P < 0.05$ 表示存在显著性差异。

2 结果与分析

2.1 最优酶的筛选

天然食源性蛋白质经体外酶解或体内消化后,能产生具有特殊生理功能的肽段,而不同的蛋白酶因具有不同酶切位点,即使使用同种蛋白质原料,酶解后产生的肽段活性也存在差异^[20]。如图 1 所示,中性蛋白酶酶解产



字母不同表示在 $P < 0.05$ 水平存在显著性差异

图 1 蛋白酶种类对 ACE 抑制率的影响

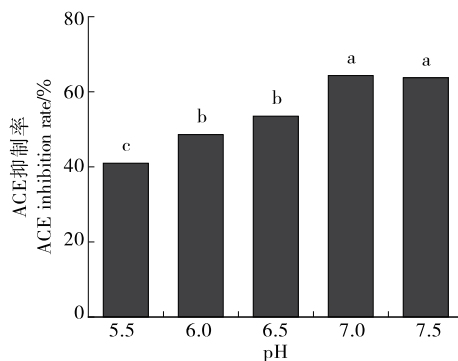
Figure 1 The effect of protease types on ACE inhibition rate

物显示出最高的 ACE 抑制活性,ACE 抑制率为 $(67.39 \pm 2.78)\%$,明显优于其他 3 种蛋白酶 ($P < 0.05$)。因此,后续试验均使用中性蛋白酶对米糠蛋白进行酶解。

2.2 单因素试验

2.2.1 pH 对米糠蛋白酶解物 ACE 抑制率的影响 由图 2 可知,pH 为 7.0 时,酶解物显示最好 ACE 抑制率,明显优于当 pH 为 5.5, 6.0, 6.5 时的 ($P < 0.05$)。这可能是 pH 偏离中性时中性蛋白酶的活性受到抑制,活性基团的解离状态发生改变,酶和底物的结合能力降低从而导致酶解效果不佳^[21],所以最佳 pH 为 7.0。

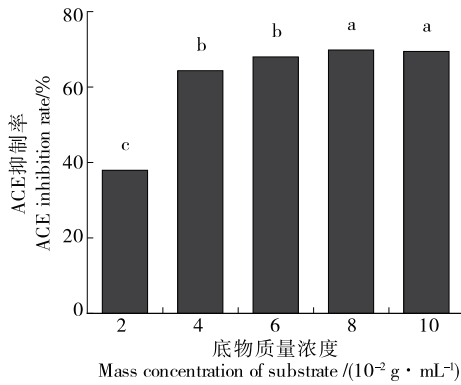
2.2.2 底物质量浓度对米糠蛋白酶解物 ACE 抑制率的影响 由图 3 可知,底物质量浓度在一定范围内变化较为明显,在到达 4 g/100 mL 的质量浓度后,虽有正增长,但变化缓慢,在 8 g/100 mL 的底物质量浓度条件下有最大 ACE 抑制率为 $(69.70 \pm 2.79)\%$,但与 10 g/100 mL 的底物质量浓度条件下 ACE 抑制率差异并不显著,可能是因为在酶添加量下,底物已达到饱和,所以即使再加大底物质量浓度也不会再提高酶解液的 ACE 抑制率。所以,确定最佳底物质量浓度条件为 8 g/100 mL。



字母不同表示在 $P < 0.05$ 水平存在显著性差异

图 2 pH 对 ACE 抑制率的影响

Figure 2 The effect of pH on ACE inhibition rate



字母不同表示在 $P < 0.05$ 水平存在显著性差异
图3 底物质量浓度对 ACE 抑制率的影响

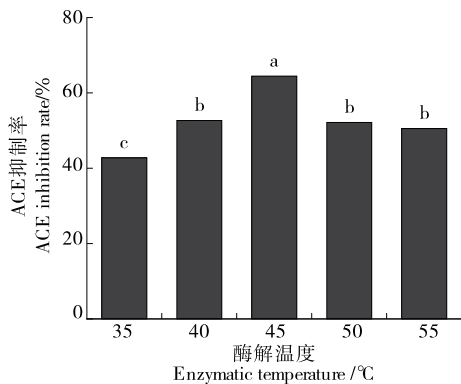
Figure 3 The effect of mass concentration of substrate on ACE inhibition rate

2.2.3 酶解温度对米糠蛋白酶解物 ACE 抑制率的影响

由图4可知,当酶解温度条件设置为45℃时,有最好的ACE抑制率(64.35±1.25)%,此结果明显优于其他温度下的($P < 0.05$)。中性蛋白酶最适宜的温度条件是45℃,温度在一定范围内升高,促进分子运动的加快,酶与底物的碰撞几率增大,从而提高酶的活性,得以释放更多肽段^[22]。但是过高的温度又会一定程度上破坏酶的结构,而导致酶的活力受到影响甚至失活。所以选取的最佳酶解温度条件为45℃。

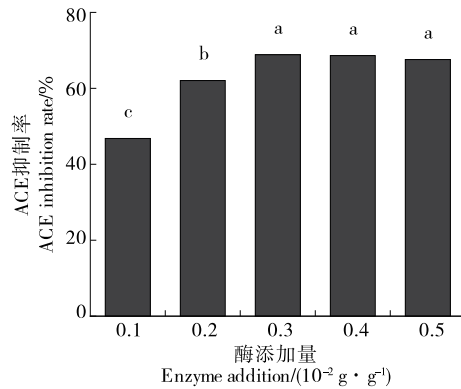
2.2.4 酶添加量对米糠蛋白酶解物 ACE 抑制率的影响

如图5所示,酶添加量与ACE抑制率在0.1~0.3 g/100 g米糠蛋白浓度范围内呈正相关关系,在酶到达0.3 g/100 g米糠蛋白的添加量后,基本不再变化,有最大ACE抑制率为(68.73±2.11)%,此时再加大酶添加量,ACE抑制率变化并不显著,可能是因为底物一定的情况下,酶添加量已达到饱和。从经济角度出发,确定最佳酶添加量为0.3 g/100 g米糠蛋白。



字母不同表示在 $P < 0.05$ 水平存在显著性差异
图4 酶解温度对 ACE 抑制率的影响

Figure 4 The effect of enzymatic temperature on ACE inhibition rate



字母不同表示在 $P < 0.05$ 水平存在显著性差异
图5 酶添加量对 ACE 抑制率的影响

Figure 5 The effect of the enzyme addition on ACE inhibition rate

2.3 响应面优化试验

在单因素试验基础上,选定酶添加量为0.3 g/100 g米糠蛋白,以pH、底物质量浓度和酶解温度3个因素(见表1)进行进一步优化,响应面设计及结果如表2所示。

运用Design-Expert 8.0对响应面结果进行多元回归拟合,得到ACE抑制率对于pH、底物质量浓度和酶解温度的二次回归方程为:

$$Y = 72.08 + 4.02A + 3.20B + 2.02C - 0.065AB + 2.31AC - 0.35BC - 4.06A^2 - 1.47B^2 - 3.72C^2 \quad (2)$$

根据方差分析(表3),回归模型高度显著($P < 0.01$),失拟项不显著($P > 0.01$),表明此模型比较稳定和理想。决定系数 $R^2 = 0.9642$,表明模型与实际试验拟合较好。因素A、B、C的一次项均显著($P < 0.01$),说明pH、底物质量浓度和酶解温度均对酶解产生显著的影响。交互项AB、AC、BC均不显著,说明任意两因素间交互作用不显著,两个因素间的交互作用详见图6。比较表3各因素的F值,可以得知3个因素对酶解液ACE抑制率的影响作用大小顺序为:pH > 底物质量浓度 > 酶解温度。

根据模型预测,在pH 7.23,底物质量浓度8.22 g/100 mL,酶解温度46.43℃时有最好的ACE抑制率73.96%,按实际情况将工艺调整为pH为7.2,底物质量浓度为8.2 g/100 mL,酶解温度为46℃,酶解3 h后测其ACE抑制率为(74.63±1.01)%,结果符合模型预测,

表1 响应面因素水平设计表

Table 1 Response surface factor level design

水平	A pH	B 酶解温度/°C	C 底物质量浓度 / (10 ⁻² g · mL ⁻¹)
-1	6.5	40	6
0	7.0	45	8
1	7.5	50	10

表 2 响应面设计方案及试验结果

Table 2 Response surface design scheme and experimental results

序号	A	B	C	ACE 抑制率/%
1	0	0	0	71.05
2	-1	0	-1	60.61
3	1	1	0	72.96
4	0	0	0	71.94
5	-1	0	1	60.52
6	0	0	0	73.68
7	1	0	-1	63.46
8	1	0	1	72.60
9	0	1	-1	69.71
10	1	-1	0	68.75
11	0	1	1	72.55
12	0	0	0	72.85
13	0	-1	1	64.78
14	-1	-1	0	60.00
15	0	0	0	70.86
16	-1	1	0	64.47
17	0	-1	-1	60.53

证明此模型与实际情况较为相符。因此,米糠蛋白源 ACE 抑制肽的酶解制备最优工艺为:pH 7.2,底物质量浓度 8.2 g/100 mL,酶解温度 46 °C,酶添加量 0.3 g/100 g 米糠蛋白,酶解时间 3 h。

2.4 酶解物和超滤组分 ACE 抑制活性评价

利用 3 kDa 超滤膜超滤分离酶解物,冷冻干燥后测定酶解物 and 不同超滤组分在同一浓度条件下的 ACE 抑制率,同时与降血压药物卡托普利、马来酸依那普利进行阳性对照,结果如图 7 所示。在 1.0 mg/mL 的质量浓度下,阳性药物卡托普利和马来酸依那普利有最好的 ACE 抑制活性,其他组分都表现出显著的 ACE 抑制活性,分

表 3 回归模型方差分析†

Table 3 Analysis of variance of regression model

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	Prob>F	显著性
模型	415.887	9	46.210	20.972	0.000 3	**
A	129.364	1	129.364	58.711	0.000 1	**
B	82.136	1	82.136	37.277	0.000 5	**
C	32.578	1	32.578	14.785	0.006 3	**
AB	0.017	1	0.017	0.008	0.932 7	
AC	21.299	1	21.299	9.667	0.017 1	
BC	0.500	1	0.500	0.227	0.648 4	
A ²	69.492	1	69.492	31.538	0.000 8	**
B ²	9.080	1	9.080	4.121	0.081 9	
C ²	58.141	1	58.141	26.387	0.001 3	**
残差	15.424	7	2.203			
失拟项	9.702	3	3.234	2.261	0.223 5	不显著
纯误差	5.722	4	1.430			
总和	431.310	16				

† ** 代表影响高度显著(P<0.01);信噪比为 1.48,R²=0.964 2,R²_{Adj}=0.918 3,R²_{Pred}=0.619 4。

子量<3 kDa 组分的 ACE 抑制率[(81.68±1.08)%]显著优于酶解物[(72.64±1.61)%]和分子量>3 kDa 组分的 [(58.65±2.31)%]。Yu 等^[23]将鱼胶原蛋白酶解物超滤分成 4 个不同分子量大小的组分,结果表明最小分子量组分有最好的 ACE 抑制率;Yang 等^[24]将阿拉斯加鲑鱼皮蛋白酶解物分成分子量>10,3~10,<3 kDa 的组分,其中<3 kDa 组分有最好的 ACE 抑制率。说明分子量大小与 ACE 抑制率有显著的联系,分子量越小,其 ACE 抑制率越高。

2.5 氨基酸组成分析

由表 4 可知,米糠蛋白酶解物中有 16 种氨基酸,包含除色氨酸外的 7 种必需氨基酸和 9 种非必需氨基酸,其中谷氨酸含量最高(11.88 g/100 g),占氨基酸总量的 18.75%,其次是精氨酸(5.62 g/100 g)和亮氨酸(5.14 g/100 g)。

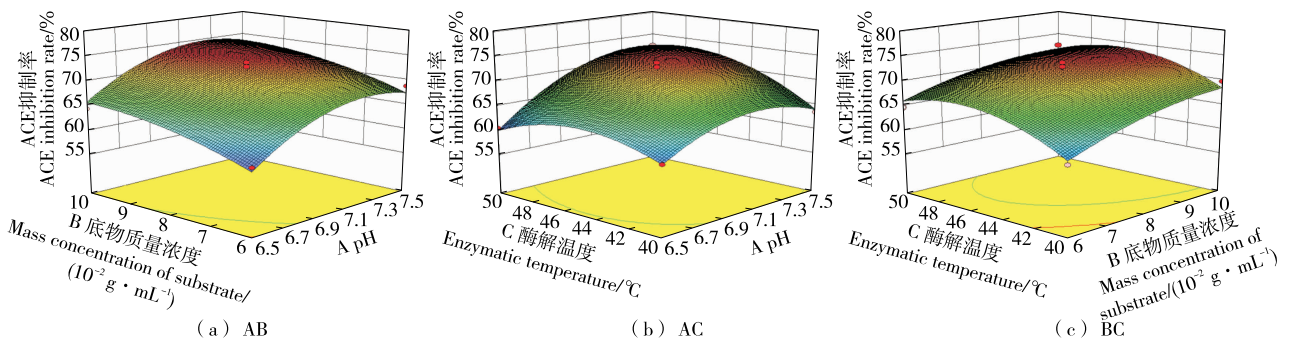


图 6 pH、酶解温度、底物质量浓度交互作用对 ACE 抑制率的影响

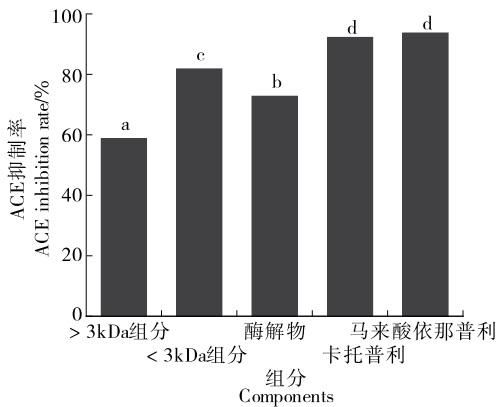
Figure 6 The influence of the interaction of pH, enzymatic hydrolysis temperature, and substrate mass concentration on the inhibition rate of ACE

必需氨基酸总含量为 22.82 g/100 g,占氨基酸总量的 36.01%,符合 FAO/WHO 提出的理想蛋白模式^[25]。同时,酶解物中疏水性氨基酸含量丰富,约为 23.09 g/100 g。研究^[26-27]发现,氨基酸 C 端疏水性和正电荷正向影响肽的 ACE 抑制活性,这是因为肽的 C 端氨基酸有助于抑制剂在 ACE 活性位点的结合,ACE 抑制活性依赖疏水性氨基酸,所鉴定的疏水氨基酸含量较高的 ACE 抑制肽通常比疏水氨基酸含量较低的 ACE 抑制肽活性更高。说明米糠是提取 ACE 抑制肽的理想原料,有很好的应用前景。

3 结论

以米糠蛋白为原料,以神经紧张素转换酶抑制率为指标,利用响应面法优化酶解工艺。用4种不同的蛋白

酶对其进行酶解,选取中性蛋白酶进行单因素以及响应面实验,最佳酶解工艺参数为:pH 7.2,底物质量浓度 8.2 g/100 mL,酶解温度 46 °C,酶添加量 0.3 g/100 g 米糠蛋白,酶解时间 3 h,此工艺参数反应条件温和,应用于工业生产较为经济友好。在此条件下制备获得的酶解物的神经紧张素转换酶抑制率为(74.63±1.01)%,有显著的 ACE 抑制活性。酶解物超滤后通过活性分析表明分子量大小显著影响其神经紧张素转换酶抑制活性。氨基酸分析显示米糠蛋白酶解物有 22.82 g/100 g 的必需氨基酸和 23.09 g/100 g 的疏水性氨基酸,与前人^[26-27]认为神经紧张素转换酶抑制活性与疏水性氨基酸有关的研究一致。试验仅限于体外的神经紧张素转换酶抑制功效,后续将继续对酶解物进行分离纯化和结构鉴定以得到单体肽段,并深入探究其抑制神经紧张素转换酶的具体机制。



字母不同表示在 $P < 0.05$ 水平存在显著性差异

图 7 不同组分在同一质量浓度(1 mg/mL)下的 ACE 抑制率

Figure 7 ACE inhibition rate of different components at the same mass concentrations (1 mg/mL)

表 4 米糠蛋白酶解物中的氨基酸含量[†]

Table 4 Amino acid content in rice bran enzymatic hydrolysate

氨基酸种类	氨基酸含量/ (10 ⁻² g · g ⁻¹)	氨基酸种类	氨基酸含量/ (10 ⁻² g · g ⁻¹)
天冬氨酸	6.68	亮氨酸*#	5.14
苏氨酸*	2.42	酪氨酸	3.03
丝氨酸	3.19	苯丙氨酸*#	3.17
谷氨酸	11.88	组氨酸*	1.72
甘氨酸	3.14	赖氨酸*	2.58
丙氨酸#	4.07	精氨酸	5.70
缬氨酸*#	3.88	脯氨酸#	2.92
蛋氨酸*#	1.23	必需氨基酸	22.82
异亮氨酸*#	2.68	疏水性氨基酸	23.09

† * 为必需氨基酸; # 为疏水性氨基酸。

参考文献

[1] 唐金平, 徐强. 中医治疗高血压病的研究进展[J]. 光明中医, 2021, 36(6): 1 007-1 009.
TANG Jin-ping, XU Qiang. Research progress on traditional Chinese medicine in treating hypertension[J]. Guangming Journal of Chinese Medicine, 2021, 36(6): 1 007-1 009.

[2] 中国心血管健康与疾病报告 2019 概要[J]. 中国循环杂志, 2020, 35(9): 833-854.
Report on cardiovascular health and diseases in China 2019: An updated summary [J]. Chinese Circulation Journal, 2020, 35 (9): 833-854.

[3] WANG W, MCKINNIE S M K, FARHAN M, et al. Angiotensin-Converting enzyme 2 metabolizes and partially inactivates pycapelin-13 and apelin-17[J]. Hypertension, 2016, 68(2): 365-377.

[4] DOU B X, LIU Y, LIU Y M, et al. Isolation and characterization of angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitory peptides from rice bran proteins and evaluation of activity and stability [J]. Pakistan Journal of Zoology, 2020, 52(4): 1 383-1 391.

[5] 魏冬. 白酒糟中 ACE 抑制肽的鉴定与活性探究[D]. 无锡: 江南大学, 2020: 3-5.
WEI Dong. Identification and activity of ACE inhibitory peptides in distilled spent grain[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2020: 3-5.

[6] 李晶晶. 扇贝裙边 ACE 抑制肽的分离纯化及活性研究[D]. 大连: 大连海洋大学, 2018: 4.
LI Jing-jing. Separation, purification and activity of ACE inhibitory peptides from scallop skirts[D]. Dalian: Dalian Ocean University, 2018: 4.

[7] 何海艳, 刘梦婷, 杨爱萍, 等. 南瓜籽蛋白源 ACE 抑制肽的制备及其降血压活性[J/OL]. 食品科学. [2021-07-05]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20210309.0909.002.html>.
HE Hai-yan, LIU Meng-ting, YANG Ai-ping, et al. Preparation of pumpkin seed protein ACE inhibitory peptide and its antihypertensive activity[J/OL]. Food Science. [2021-07-05]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20210309.0909.002.html>.

- [8] 封张萍, 岳阳, 刘东红, 等. 大米 ACE 抑制肽制备工艺优化和生物活性研究[J]. 食品科技, 2021, 46(2): 210-217.
FENG Zhang-ping, YUE Yang, LIU Dong-hong, et al. Optimization of preparation and bioactivity of rice ACE inhibitory peptides[J]. Food Science and Technology, 2021, 46(2): 210-217.
- [9] LU X, SUN Q, ZHANG L X, et al. Dual-enzyme hydrolysis for preparation of ACE-inhibitory peptides from sesame seed protein: Optimization, separation, and identification[J]. Journal of Food Biochemistry, 2021, 45(4): e13638.
- [10] SUPAWEE P, PAPASSARA S, PIROONPORN S, et al. Angiotensin-I converting enzyme inhibitory peptide derived from the shiitake mushroom (*Lentinula edodes*) [J]. Journal of Food Science and Technology, 2021, 58(1): 85-97.
- [11] 李楠楠, 赵思明, 张宾佳, 等. 稻米副产物的综合利用[J]. 中国粮油学报, 2017, 32(9): 188-192.
LI Nan-nan, ZHAO Si-ming, ZHANG Bin-jia, et al. Comprehensive utilization of rice byproducts[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2017, 32(9): 188-192.
- [12] FRATERRIGO GAROFALO S, TOMMASI T, FINO D. A short review of green extraction technologies for rice bran oil [J]. Biomass Conversion and Biorefinery, 2021, 11(2): 569-587.
- [13] 谭书琪, 张燕鹏, 张维衣, 等. 米糠蛋白加工利用研究进展[J]. 食品科技, 2020, 45(2): 185-189.
TAN Shu-qi, ZHANG Yan-peng, ZHANG Wei-nong, et al. Research progress in the processing and utilization of rice bran protein[J]. Food Science and Technology, 2020, 45(2): 185-189.
- [14] 陈季旺, 孙庆杰, 姚惠源, 等. 利用米糠蛋白制备类阿片拮抗肽和降血压肽的研究[J]. 食品科技, 2005(4): 88-91.
CHEN Ji-wang, SUN Qing-jie, YAO Hui-yuan, et al. Study on development of opioid antagonist peptides and antihypertensive peptides from rice bran protein[J]. Food Science and Technology, 2005(4): 88-91.
- [15] PHONGTHAI S, D'AMICO S, SCHOENLECHNER R, et al. Fractionation and antioxidant properties of rice bran protein hydrolysates stimulated by in vitro gastrointestinal digestion [J]. Food Chemistry, 2018, 240: 156.
- [16] 樊金娟, 付岩松, 罗霞, 等. 米糠肽的抗氧化作用[J]. 食品与发酵工业, 2009, 35(12): 78-81.
FAN Jin-juan, FU Yan-song, LUO Xia, et al. Study on anti-oxidation effect of rice bran peptide [J]. Food and Fermentation Industries, 2009, 35(12): 78-81.
- [17] 邹智鹏, 王明洁, 刘梦婷, 等. 小米米糠蛋白水解物及其膜分离组分的降血压相关活性研究[J]. 中国粮油学报, 2020, 35(6): 31-38.
ZOU Zhi-peng, WANG Ming-jie, LIU Meng-ting, et al. Antihypertensive properties of enzymatic hydrolysate of millet bran protein and its ultrafiltered fractions[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2020, 35(6): 31-38.
- [18] 张焱. 米糠蛋白 ACE 抑制肽分离纯化工艺的研究[D]. 大庆: 黑龙江八一农垦大学, 2013: 21.
ZAHNG Yan. The separation and purification of rice bran protein peptide ACE [D]. Daqing: Heilongjiang Bayi Agricultural University, 2013: 21.
- [19] 骆琳, 丁青芝, 马海乐. 96 孔板法用于高通量血管紧张素转化酶抑制剂体外检测[J]. 分析化学, 2012, 40(1): 129-134.
LUO Lin, DING Qing-zhi, MA Hai-lei. Establishment of in vitro high-throughput activity detection method for angiotensin converting enzyme inhibitors based on 96 well plates[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2012, 40(1): 129-134.
- [20] 李莹. 泥鳅蛋白源 ACE 抑制肽的酶法制备及其降活活性研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2012: 13-14.
LI Ying. Preparation of angiotensin-i-converting enzyme inhibitory peptides by enzymolysis from loach (*misgurnus anguillicaudatus*) protein and its antihypertensive activities[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2012: 13-14.
- [21] 陈秋奎, 陈雪芹, 马倩, 等. 酶解法制备牡丹籽 ACE 抑制肽及其稳定性[J]. 食品工业科技, 2020, 41(19): 149-156.
CHEN Qiu-luan, CHEN Xue-qin, MA Qian, et al. Preparation and stability of ACE inhibitory peptides from peony seed meal by enzymatic hydrolysis[J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(19): 149-156.
- [22] 卫萍, 游向荣, 张雅媛, 等. 酶法制备大麻肽及其血管紧张素转化酶抑制活性研究[J]. 食品工业科技, 2019, 40(18): 127-132.
WEI Ping, YOU Xiang-rong, ZHANG Ya-yuan, et al. Preparation of cannabis sativa L. peptides by enzyme method and their activities of inhibiting angiotensin converting enzyme[J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(18): 127-132.
- [23] YU Z P, WU S J, ZHAO W Z, et al. Identification of novel angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptide from collagen hydrolysates and its molecular inhibitory mechanism[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2020, 55(9): 3 145-3 152.
- [24] YANG G L, QIN S, LI W J. Purification and characterization of a novel angiotensin I-converting enzyme-inhibitory peptide derived from Alaska pollack skins[J]. Journal of Food Science, 2021, 86(6): 2 457-2 467.
- [25] 姚雨杉. 鱿鱼加工副产物酶解、发酵工艺的优化和抗高血压肽的制备[D]. 广州: 华南理工大学, 2020: 23.
YAO Yu-shan. Optimization of enzymatic hydrolysis process and fermentation process of squid processing by-product and preparation of antihypertensive peptide [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2020: 23.
- [26] ISHAK N H, SHAIK M I, YELLAPU N K, et al. Purification, characterization and molecular docking study of angiotensin-I converting enzyme (ACE) inhibitory peptide from shortfin scad (*Decapterus macrosoma*) protein hydrolysate[J]. Journal of Food Science and Technology, 2021, 58(12): 4 567-4 577.
- [27] CHEN Y H, LI J, DONG N G, et al. Separation and identification of ACE inhibitory peptides from defatted walnut meal[J]. European Food Research and Technology, 2020, 246(10): 2 029-2 038.