

超声波辅助酶法制备辣木籽 ACE 抑制肽工艺优化

钟玉旺, 安姝璇, 王雪峰, 范江平, 黄艾祥, 田 洋

(云南农业大学 食品科学技术学院, 昆明 650201)

摘要:为进一步提高辣木籽蛋白资源的开发利用,采用盐提法提取辣木籽蛋白,再采用超声波辅助酶法制备辣木籽 ACE 抑制肽。以水解度和 ACE 抑制率为评价指标,通过单因素实验探究超声波功率、超声酶解时间、超声酶解温度及料液比对制备 ACE 抑制肽的影响,采用响应面法对制备工艺条件进行优化。结果表明:超声波辅助酶法制备辣木籽 ACE 抑制肽的最佳酶解工艺条件为碱性蛋白酶添加量 5.5 mg/mL、pH 9、超声波功率 500 W、超声酶解时间 1.7 h、超声酶解温度 55 °C、料液比 1:45,在此条件下制备的酶解物 ACE 抑制率达到 78.32%,水解度为 7.78%。以辣木籽为原料制备 ACE 抑制肽作为功能性蛋白肽产品,可有效提高辣木籽蛋白资源的开发利用。

关键词:辣木籽;辣木籽蛋白;ACE 抑制肽;超声波辅助酶法

中图分类号:TS201.2; TQ936.1 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2023)03-0047-06

Optimization of preparation of ACE inhibitory peptide from *Moringa oleifera* seeds by ultrasound – assisted enzymatic hydrolysis

ZHONG Yuwang, AN Shuxuan, WANG Xuefeng, FAN Jiangping,
HUANG Aixiang, TIAN Yang

(School of Food Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

Abstract:To further improve the exploitation of *Moringa oleifera* seed protein resources, the protein in *Moringa oleifera* seeds was extracted by salt extraction method, and then *Moringa oleifera* seeds ACE inhibitory peptide was prepared by ultrasound – assisted enzymatic hydrolysis. With the degree of hydrolysis and ACE inhibition rate as the evaluation indexes, the effects of the ultrasonic power, ultrasonic enzymolysis time, ultrasonic enzymolysis temperature and ratio of material to liquid on the preparation of ACE inhibitory peptide were studied through single factor experiment. The preparation process conditions of ACE inhibitory peptide were optimized by response surface methodology. The results showed that the optimal ultrasound – assisted enzymatic hydrolysis conditions were obtained as follows: Alkaline protease dosage 5.5 mg/mL, pH 9, ultrasonic power 500 W, ultrasonic enzymolysis time 1.7 h, ultrasonic enzymolysis temperature 55 °C and ratio of material to liquid 1:45. Under these conditions, the ACE inhibition rate of the prepared product reached 78.32% and the degree of hydrolysis was 7.78%. Using ACE inhibitory peptide prepared from *Moringa oleifera* seeds as a functional protein peptide product can effectively improve the exploitation of *Moringa oleifera* seed protein resources.

Key words: *Moringa oleifera* seed; *Moringa oleifera* seed protein; ACE inhibitory peptide; ultrasound – assisted enzymatic hydrolysis

收稿日期:2021-12-30;修回日期:2022-11-13

基金项目:国家自然科学基金地区项目(31960462);云南省基础研究计划面上项目(2019FB052);云南省农业联合专项(2018FG001-040)

作者简介:钟玉旺(1996),男,硕士研究生,研究方向为食品加工与安全(E-mail)2695996641@qq.com。

通信作者:王雪峰,副教授,博士(E-mail)364135728@qq.com。

辣木(*Moringa oleifera*)是一种特色植物,在我国以云南的种植量最多、产量最大。辣木籽富含蛋白质、油脂、维生素、多糖、矿质元素等营养成分

分^[1-2],具有较好的食用功能和药用价值,极具开发前景^[3]。目前,国内外在辣木籽研究方面,主要集中在黄酮、多糖、蛋白质和油脂的提取及其在抗氧化、抗菌、抗肿瘤、抗炎、降脂和改善糖尿病功效等方面的作用^[5-7]。

血管紧张素转化酶(ACE)抑制肽是一类可抑制ACE活性的小分子多肽物质,其通过抑制ACE的活性,从而起到降血压作用。目前,化学合成的ACE抑制类药物不但成本高而且有一定的毒副作用,而天然食品中的ACE抑制肽活性高、安全性好,没有降压药物的毒副作用,成为未来多肽类降压食品的主力军,同时也是研究降压药物很好的切入点。研究发现,从核桃^[8]、龙须菜^[9]、南瓜籽^[10]中均可制备高活性的ACE抑制肽。Aderinola等^[11]研究表明,辣木籽在胰蛋白酶作用下水解生成了具有潜在抗高血压特性的肽和肽组分,但未对提取工艺进行优化。ACE抑制肽通常采用酶解法、发酵法和DNA重组法制备^[12]。酶解法反应条件较温和,过程易操作和控制,制备的ACE抑制肽安全性较好^[13],被认为是大批量生产ACE抑制肽最有前途的方法之一。魏康^[14]、韩扬^[15]等分别通过超声波辅助酶法制备了大米ACE抑制肽和燕麦ACE抑制肽,其研究均表明超声波辅助酶法能有效提高酶解效率,促进ACE抑制肽的制备,但关于超声波辅助酶法制备辣木籽ACE抑制肽工艺优化的报道较少。

本实验以水解度和ACE抑制率为指标,采用超声波辅助酶法制备辣木籽ACE抑制肽,探究超声波功率、超声酶解时间、超声酶解温度以及料液比的影响,进一步优化酶法制备工艺,为辣木籽蛋白资源的进一步开发利用,以及后续开发功能性蛋白肽等高附加值辣木产品奠定一定的研究基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 原料与试剂

辣木籽,云南天佑科技开发有限公司;碱性蛋白酶(200 U/mg)、邻苯二甲醛(OPA)、2-巯基乙醇、马尿酸-组氨酸-亮氨酸(HHL)、血管紧张素转化酶(ACE),上海源叶生物科技有限公司。

盐酸、氯化钠、氢氧化钠、乙酸乙酯、甲醇,天津市风船化学试剂科技有限公司。

1.1.2 仪器与设备

Scientz-50C多功能恒温超声波萃取仪、Scientz-18N冷冻干燥机,宁波新芝生物科技股份有限公司;HWS24电热恒温水浴锅,北京市永光明医疗仪器有

限公司;BS 224 S精密电子天平,北京赛多利斯仪器系统有限公司;DHG-9070A电热鼓风干燥箱,上海一恒科学仪器有限公司;R-BIOPHARMWEL1酶标仪,赛默飞世尔科技(中国)有限公司;E-201-C pH复合电极,上海仪电科学仪器股份公司;L580R高速冷冻离心机、PHS-3C pH计,上海安亭科学仪器厂。

1.2 实验方法

1.2.1 辣木籽蛋白制备

辣木籽脱脂→盐提(0.3 mol/L氯化钠与辣木籽蛋白粉体积质量比1:10,pH 7.15,30℃下水浴30 min)→抽滤、离心(4℃,4 500 r/min,15 min)→取上清液冷冻干燥→辣木籽蛋白。

1.2.2 超声波辅助酶法制备辣木籽蛋白酶解物

用超纯水溶解辣木籽蛋白,加入5.5 mg/mL的碱性蛋白酶(在辣木籽蛋白溶液中的质量浓度),置于多功能恒温超声波萃取仪中,在pH 9、一定温度下酶解一定时间后,灭酶、冷却、低温离心,取上清液(酶解液),于-20℃保存备用。

1.2.3 水解度测定

参考文献[16]采用OPA法测定辣木籽蛋白水解度。

1.2.4 ACE抑制率测定

参考文献[17]采用体外检测方法测定酶解液的ACE抑制率。根据表1按顺序将各试剂加入试管中,在反应结束后加入50 μL 1 mol/L的HCl(空白组不加)终止反应;向各试管中加入0.4 mL乙酸乙酯,混合后离心;取0.3 mL乙酸乙酯层,放入烘箱烘干,取出冷却,加入0.6 mL去离子水,在228 nm处测定吸光度。按式(1)计算ACE抑制率(x)。

$$x = (A_b - A_a) / (A_b - A_c) \times 100\% \quad (1)$$

式中: A_a 为实验组吸光度; A_b 为对照组吸光度; A_c 为空白组吸光度。

表1 ACE抑制率体外检测方法

试剂	添加量/μL		
	实验组	对照组	空白组
HCl(1 mol/L)	0	0	50
ACE(0.1 U/mL)	0	0	5
HHL(1 mg/mL)	15	15	15
酶解液	5	0	5
去离子水	0	5	0
ACE(0.1 U/mL)	5	5	0

注:加入去离子水后37℃水浴预热4 min,然后二次加入ACE,37℃水浴预热30 min

2 结果与分析

2.1 酶解工艺单因素实验

2.1.1 超声波功率对水解度及 ACE 抑制率的影响

在超声酶解时间 2 h、料液比 1:15、超声酶解温度 45℃ 的条件下,考察超声波功率对水解度及 ACE 抑制率的影响,结果见图 1。

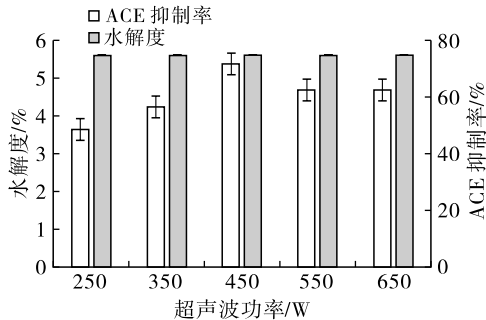


图1 超声波功率对水解度及 ACE 抑制率的影响

由图 1 可知,随着超声波功率的增大,辣木籽蛋白水解度变化不大,而 ACE 抑制率先增大,在 450 W 时达到最大值,随后逐渐降低。随超声波功率增大 ACE 抑制率先升高后降低的原因可能是:较低的超声波功率超声空化作用较小,随着超声波功率的增大空化作用逐渐增强,使蛋白质的结构发生变化,暴露了新的酶切位点^[18],从而可能产生更多的 ACE 抑制肽;当超声波功率超过 450 W 后,ACE 抑制率逐渐降低,可能是产生了较强的瞬间空化作用,导致具有 ACE 抑制活性的肽的结构被破坏^[19]。因此,选择 450 W 为最佳的超声波功率。

2.1.2 超声酶解时间对水解度及 ACE 抑制率的影响

在料液比 1:15、超声波功率 450 W、超声酶解温度 45℃ 的条件下,考察超声酶解时间对水解度及 ACE 抑制率的影响,结果见图 2。

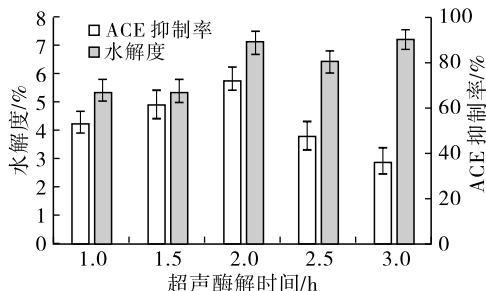


图2 超声酶解时间对水解度及 ACE 抑制率的影响

由图 2 可知,随着超声酶解时间的延长,ACE 抑制率先增大,在 2 h 达到最大,随后迅速下降,而辣木籽蛋白水解度先大幅上升,超过 2 h 后上下波动。原因可能是随着超声酶解时间的延长,酶与底物反应得更加充分,水解度逐渐上升,得到的 ACE

抑制肽也越来越多,但过长的超声酶解时间可能导致 ACE 抑制肽进一步水解成为无 ACE 抑制活性的氨基酸碎片^[20];另外因为超声酶解时间较短时,超声波的空化作用和热效应增加了底物分子和酶分子的能量,加大了酶与底物的结合速率和产物的释放速率,从而促进了酶解过程,但是随着超声酶解时间的继续延长,酶的活性中心被底物分子饱和,部分与酶结合但尚未酶解的底物分子在超声波的空化扰动作用下有可能重新离开酶的活性中心,而且此过程中还伴随着酶的失活和底物分子构象的变化^[21-22],超声波对酶解的促进作用减弱,水解度也有所波动。因此,超声时间不宜太长。综合考虑,选择 2 h 为最佳超声酶解时间。

2.1.3 超声酶解温度对水解度及 ACE 抑制率的影响

在料液比 1:15、超声波功率 450 W、超声酶解时间 2 h 的条件下,考察超声酶解温度对水解度及 ACE 抑制率的影响,结果见图 3。

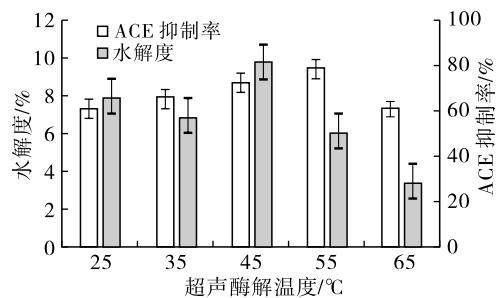


图3 超声酶解温度对水解度及 ACE 抑制率的影响

由图 3 可知,随超声酶解温度的升高,辣木籽蛋白水解度和 ACE 抑制率总体先逐渐增大后降低,二者分别在 45、55℃ 时达到最大。当超声酶解温度上升时酶活力逐渐增强,水解度增大,产生的 ACE 抑制肽增多,ACE 抑制率也上升;当超声酶解温度过高时,酶的空间结构发生变化,活性受到抑制甚至失活,导致水解度下降^[23],酶解物中 ACE 抑制肽的含量降低,ACE 抑制率降低。超声酶解温度为 45℃ 时有最高的水解度,但 ACE 抑制率较低,可能是酶解物中含有的 ACE 抑制肽种类和含量较少,而在 55℃ 时,水解度较低,而 ACE 抑制率最高,可能是因为此温度下酶解物中 ACE 抑制肽的含量最高。综合考虑,选择 55℃ 为最佳超声酶解温度。

2.1.4 料液比对水解度及 ACE 抑制率的影响

在超声波功率 450 W、超声酶解时间 2 h、超声酶解温度 55℃ 的条件下,考察料液比对水解度及 ACE 抑制率的影响,结果见图 4。

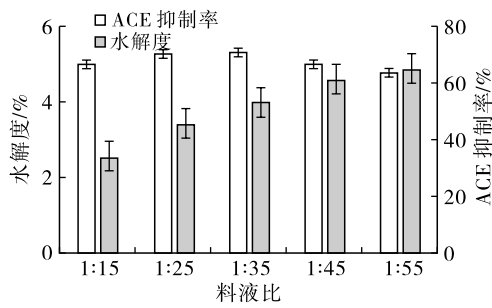


图4 料液比对水解度及ACE抑制率的影响

由图4可知,随着料液比的降低,辣木籽蛋白的水解度逐渐升高,而ACE抑制率先升高后降低,料液比为1:35时,ACE抑制率最高。当料液比降低时溶液中辣木籽蛋白浓度降低,碱性蛋白酶可以充分水解蛋白质,故水解度逐渐增大。而ACE抑制率先增加后降低的原因可能是当料液比降低时水解度逐渐增大,ACE抑制肽含量逐渐增加,但随着进一步水解,可能将ACE抑制肽水解为无ACE抑制活性的氨基酸碎片^[20]。因此,选择1:35为最佳料液比。

2.2 酶解工艺的响应面优化

2.2.1 响应面实验结果

综合单因素实验结果,固定超声酶解温度55℃,根据Box-Behnken实验设计原理,选择超声波功率(A)、超声酶解时间(B)、料液比(C)为自变量,ACE抑制率(Y)为响应值,进行响应面实验,确定超声波辅助酶解辣木籽蛋白制备ACE抑制肽工艺的最佳条件。响应面实验因素与水平见表2,响应面实验设计方案与结果见表3。

表4 回归模型方程方差分析

来源	平方和	自由度	均方	F	p
模型	2 252.34	9	250.26	14.40	0.001 0**
A	1 018.58	1	1 018.58	58.60	0.000 1**
B	1.51	1	1.51	0.09	0.776 5
C	30.93	1	30.93	1.78	0.224 0
AB	47.82	1	47.82	2.75	0.141 2
AC	23.33	1	23.33	1.34	0.284 6
BC	236.70	1	236.70	13.62	0.007 8**
A ²	584.45	1	584.45	33.62	0.000 7**
B ²	260.73	1	260.73	15.00	0.006 1**
C ²	4.70E-003	1	4.70E-003	2.70E-004	0.987 3
残差	121.67	7	17.38		
失拟项	57.28	3	19.09	1.19	0.420 5
净误差	64.39	4	16.10		
总和	2 374.01	16			

注: * $p < 0.05$, 显著; ** $p < 0.01$, 极显著

表2 响应面实验因素与水平

水平	超声波功率/W	超声酶解时间/h	料液比
-1	350	1.5	1:25
0	450	2.0	1:35
1	550	2.5	1:45

表3 响应面实验设计方案与结果

实验号	A	B	C	Y/%
1	0	0	0	72.22
2	0	-1	1	75.33
3	1	0	-1	76.60
4	0	0	0	70.59
5	0	-1	-1	58.96
6	-1	0	1	43.27
7	-1	0	-1	56.95
8	0	0	0	74.42
9	0	1	-1	72.58
10	1	1	0	61.33
11	0	0	0	72.41
12	-1	-1	0	40.65
13	1	0	1	72.58
14	0	0	0	80.85
15	0	1	1	58.18
16	-1	1	0	47.59
17	1	-1	0	68.22

对表3数据进行多元回归拟合,得到回归模型方程: $Y = 74.098 + 11.284A - 0.435B - 1.966C - 3.458AB + 2.415AC - 7.693BC - 11.782A^2 - 7.869B^2 + 0.0334C^2$ 。

2.2.2 方差分析

回归模型方程的方差分析结果见表4。

由表4可知,该回归模型的 p 值小于0.01,极显著,失拟项的 p 值大于0.05,不显著,表明该模型的拟合程度较好,回归模型的决定系数(R^2)为94.87%,只有5.13%的响应值不能被此模型解释,说明此模型较准确、可靠,可以用来分析和预测超声波功率、超声酶解时间和料液比对辣木籽蛋白酶解物ACE抑制率的影响。该模型中 A^2 、 B^2 、 BC 、 A 对ACE抑制率的影响极显著,3个因素对ACE抑制率的影响大小顺序为超声波功率>料液比>超声酶解时间。

2.2.3 最佳酶解条件的确定及验证

通过对回归模型方程分析,得到超声波辅助酶法制备辣木籽ACE抑制肽的最佳工艺条件为碱性蛋白酶添加量5.5 mg/mL、pH 9、超声波功率517.915 W、超声酶解时间1.667 h、超声酶解温度55℃、料液比1:45,在此条件下ACE抑制率的预测值为79.521%。结合实际将此工艺条件修正为碱性蛋白酶添加量5.5 mg/mL、pH 9、超声波功率500 W、超声酶解时间1.7 h、料液比1:45、超声酶解温度55℃,在此条件下水解度为7.78%,ACE抑制率为(78.32±0.21)%,与预测值接近,表明通过响应面法优化工艺得到的回归模型方程以及最佳条件可靠。

3 结论

采用超声波辅助酶法制备辣木籽ACE抑制肽,通过单因素实验和响应面实验得到最佳酶解条件为超声波功率500 W、超声酶解时间1.7 h、超声酶解温度55℃、料液比1:45、碱性蛋白酶添加量5.5 mg/mL、pH 9,在此条件下ACE抑制率达(78.32±0.21)%。

参考文献:

- [1] ROCKWOOD J L, ANDERSON B G, CASAMATTA D A. Potential uses of *Moringa oleifera* and an examination of antibiotic efficacy conferred by *M. oleifera* seed and leaf extracts using crude extraction techniques available to under-served indigenous populations[J]. *Int J Phytother Res*, 2013, 3: 61-71.
- [2] OLAGBEMIDE P T, ALIKEWE P C. Proximate analysis and chemical composition of raw and defatted *Moringa oleifera* kernel[J]. *Adv Life Sci Technol*, 2014, 24: 92-99.
- [3] COPPIN J P H, JULIANI H R, WU Q L, et al. Variations in polyphenols and lipid soluble vitamins in *Moringa oleifera*[M]//PREEDY V. Processing and impact on active components in food. Pittsburgh: Academic Press, 2015: 655-663.
- [4] BRILHANTE R S N, SALES J A, PEREIRA V S, et al. Research advances on the multiple uses of *Moringa oleifera*: a sustainable alternative for socially neglected population[J]. *Asian Pac J Trop Med*, 2017, 10 (7): 621-630.
- [5] 王云龙,房岐,郑超.辣木籽化学成分、药理作用及开发利用研究进展[J]. *中医药信息*, 2020, 37(3): 125-128.
- [6] 王宏,刘月,饶露,等.辣木籽油对慢性高脂血症小鼠的降脂作用[J/OL]. *中国油脂*: 1-9 [2022-12-30]. <https://doi.org/10.19902/j.cnki.zgyz.1003-7969.210412>.
- [7] WANG X F, HE L, HUANG Z Y, et al. Isolation, identification and characterization of a novel antimicrobial peptide from *Moringa oleifera* seeds based on affinity adsorption[J/OL]. *Food Chem*, 2023, 398: 133923 [2021-12-30]. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133923>.
- [8] 裴璞花,安传相,刘晓燕,等.酶解核桃蛋白制备降血压肽的工艺优化[J]. *食品研究与开发*, 2018, 39(14): 69-75.
- [9] 沈嘉森,苏永昌,陈晓婷,等.龙须菜ACE抑制肽的体外稳定性和抗氧化活性研究[J]. *食品工业科技*, 2022, 43(7): 384-392.
- [10] 何海艳,刘梦婷,杨爱萍,等.南瓜籽蛋白源血管紧张素转化酶抑制肽的制备及其降血压活性[J]. *食品科学*, 2021, 42(23): 214-220.
- [11] ADERINOLA T A, FAGBEMI T N, ENUJUGH A V N, et al. In vitro antihypertensive and antioxidative properties of trypsin-derived *Moringa oleifera* seed globulin hydrolyzate and its membrane fractions[J]. *Food Sci Nutr*, 2019, 7(1): 132-138.
- [12] 王琳琳,陈立,李建科.食源血管紧张素转化酶抑制肽研究进展[J]. *中国果菜*, 2020, 40(6): 71-76.
- [13] PELLEGRINI A. Antimicrobial peptides from food proteins[J]. *Curr Pharm Design*, 2003, 9(16): 1225-1238.
- [14] 魏康,李云亮,杨雪,等.逆流超声辅助酶解法制备大米ACE抑制肽[J]. *食品工业科技*, 2018, 39(4): 100-105.
- [15] 韩扬,何聪芬,董银卯,等.响应面法优化超声波辅助酶法制备燕麦ACE抑制肽的工艺研究[J]. *食品科学*, 2009, 30(22): 44-49.
- [16] 罗艳华,王全杰,陈沛海,等.蛋白水解物水解度测定方法的研究[J]. *皮革与化工*, 2017(2): 32-37.
- [17] 余冰宾.生物化学实验指导[M].北京:清华大学出版社,2004:136-138.
- [18] 赵伟睿,马海乐,贾俊强,等.超声波对麦胚蛋白质性质及其酶解物ACE抑制活性的影响[J]. *食品与生物学报*, 2010, 29(2): 177-182.

- 56-63,71.
- [3] MANAF Y N, OSMAN A, LAI O M, et al. Characterisation of musk lime (*Citrus microcarpa*) seed oil[J]. J Sci Food Agric, 2010, 88(4):676-683.
- [4] 刘欣,马金爽,张晓青,等. 基于近红外技术快速检测青金桔果粉中 β -胡萝卜素含量[J]. 海南师范大学学报(自然科学版), 2018, 31(3):264-269.
- [5] CHEONG M W, CHONG Z S, LIU S Q, et al. Characterisation of calamansi (*Citrus microcarpa*). Part I: volatiles, aromatic profiles and phenolic acids in the peel [J]. Food Chem, 2012, 134(2):686-695.
- [6] 李一喆. 橘皮油微胶囊制备及其理化性质研究[D]. 辽宁大连:大连理工大学,2020.
- [7] 贾有青,李哲,代岚,等. 元宝枫籽油微胶囊化及其稳定性研究[J]. 中国粮油学报,2022,37(4):141-146.
- [8] 江连洲,王朝云,古力那孜·买买提努,等. 干燥工艺对鱼油微胶囊结构和品质特性的影响[J]. 食品科学, 2020,41(3):86-92.
- [9] 徐清云,潘南,陈丽娇,等. 紫海胆黄油微胶囊制备工艺的研究[J]. 渔业现代化, 2018, 45(2):73-80.
- [10] SCHMITT C, TURGEON S L. Protein/polysaccharide complexes and coacervates in food systems [J]. Adv Colloid Interfac, 2011, 167(1/2):63-70.
- [11] 张亚婷. 大豆蛋白酶解/糖基化接枝复合改性制备微胶囊壁材的研究[D]. 江苏无锡:江南大学,2015.
- [12] 黄强,杨连生,罗发兴,等. 高粘度十二烯基琥珀酸淀粉钠理化性质的研究(I):糊的性质[J]. 华南理工大学学报(自然科学版),2001(12):42-45.
- [13] 孙羽. 喷雾干燥制备棕榈油微胶囊的研究[D]. 辽宁大连:大连理工大学,2018.
- [14] 苗欣月,朱立斌,朱丹,等. 糜子壳油微胶囊工艺优化及其理化特性分析[J]. 中国粮油学报,2022,37(5):136-143.
- [15] TORINI L, ARGILLIER J F, ZYDOWICZ N. Interfacial polycondensation encapsulation in miniemulsion [J]. Macromolecules, 2005, 38(8):995-1004.
- [16] JIANG J, ZHU B, LIU Y, et al. Interfacial structural role of pH-shifting processed pea protein in the oxidative stability of oil/water emulsions[J]. J Agric Food Chem, 2014,67(7):1683-1691.
- [17] 常馨月. 奇亚籽油微胶囊的制备及其性质研究[D]. 重庆:西南大学,2021.
- [18] 盖旭,李荣,姜子涛. 以大豆分离蛋白为壁材喷雾干燥法制备芥末油微胶囊[J]. 中国调味品,2012,37(3):72-75.
-
- (上接第51页)
- [19] 徐敏,武爱群. 超声波协同双酶复合酶解米渣蛋白制备ACE抑制肽工艺研究[J]. 粮食与饲料工业,2019(1):1-7.
- [20] 杨攀,李玲,黄丽,等. 水牛乳酶解液ACE抑制率及其稳定性研究[J]. 食品工业,2016,37(12):109-111.
- [21] 丁青芝,马海乐,骆琳,等. 超声处理对菜籽蛋白酶解效果的影响[J]. 农业工程学报, 2009, 25(1):294-299.
- [22] 吴月. 枸杞籽粕ACE抑制肽的筛选鉴定及作用机理研究[D]. 银川:宁夏大学,2022.
- [23] 汤海霞,张艳,葛武鹏,等. 酶解法制备绵羊乳酪蛋白ACE抑制肽的工艺优化及其抑制机制[J]. 中国食品学报,2022,22(6):220-231.