

茶树菇降压肽制备工艺优化

伍津瑶^{1,2} 殷明月^{1,2} 杨美花^{1,2} 康晶晶^{1,2}

(1. 贵州医科大学公共卫生与健康学院, 贵州 贵阳 550025;

2. 贵州医科大学环境污染与疾病监控教育部重点实验室, 贵州 贵阳 550025)

摘要: [目的] 确定最优的茶树菇降压肽提取工艺, 以期得到得率更高、活性更好的降压肽。[方法] 以茶树菇为原料, 以多肽得率与 ACE 抑制率为评价指标, 探讨酶种类、底物浓度、酶浓度、pH、反应时间、反应温度等对茶树菇降压肽及活性的影响, 并采用响应面法优化茶树菇降压肽的最佳提取工艺。[结果] 茶树菇降压肽的最优提取条件为底物浓度 5.4%, 酶解时间 8 h, 酶解温度 23.3 °C, pH 8.0, 中性蛋白酶添加量 2 g, 此时茶树菇降压肽得率为 92.12%, ACE 抑制率为 93.75%。茶树菇降压肽活性成分主要分布于相对分子质量 < 3 kDa 的组分中, 该成分占总降压肽的 36.69%, ACE 抑制率为 95.36%。[结论] 试验优化了茶树菇降压肽的提取工艺, 确定了茶树菇降压肽的相对分子质量组成。

关键词: 茶树菇降压肽; 酶法制备; 多肽; 工艺优化

Optimization of the preparation process of hypotensive peptide of *Agrocybe cylindracea*

WU Jinyao^{1,2} YIN Mingyue^{1,2} YANG Meihua^{1,2} KANG Jingjing^{1,2}

(1. School of Public Health, Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou 550025, China;

2. The Key Laboratory of Environmental Pollution Monitoring and Disease Control, Ministry of Education, Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou 550025, China)

Abstract: [Objective] This study aimed to determine the optimal extraction process for antihypertensive peptide from *Agrocybe cylindracea* to achieve higher yield and enhanced activity. [Methods] With the polypeptide yield and ACE inhibition rate as the evaluation index, the effects of enzyme type, substrate concentration, enzyme concentration, pH value, reaction time, reaction temperature and other single factors on the antihypertensive peptide and its activity were investigated, and the optimal extraction process of antihypertensive peptide was optimized by response surface. [Results] The optimal extraction conditions were as follows: substrate concentration of 5.4%, enzymolysis duration of 8 h, reaction temperature was 23.3 °C, pH 8.0, and neutral protease dosage of 2 g. Under the control of these conditions, the antihypertensive peptide yield reached 92.12%, with an ACE inhibition rate of 93.75%. The active peptide fraction, primarily composed of peptides with molecular weight < 3 kDa, accounted for 36.69% of the total peptide and demonstrated an ACE inhibition rate of 95.36%. [Conclusion] The extraction process for antihypertensive peptides from *A. cylindracea* was successfully optimized, and the molecular weight distribution of the active peptide components was determined.

Keywords: *Agrocybe cylindracea* antipressure peptide; enzymatic preparation; polypeptide; process optimization

高血压是全世界最为常见的一种慢性病, 主要特征是体循环动脉血压增高。高血压往往伴有冠心病、脑中风、肾衰竭等疾病的发生, 是心血管疾病死亡的原因之一^[1]。由于机体血压超过正常范围, 病人罹患心脏、大

脑、肾脏疾病以及其他疾病的风险加大, 由高血压导致的死亡人数也逐年攀升。因此, 降低高血压患病率及遏制高血压病情, 已成为非传染性疾病领域的一项全球目标。常见的降压药物主要有钙离子拮抗剂、血管紧张 II 受体阻断剂、 β 受体阻断剂、利尿剂和血管紧张素转换酶 I (ACE I) 五类, 由于化学合成的降压药制备技术比较

基金项目: 贵州省科技厅项目 (编号: 黔科合基础 ZK 2022 一般 [356])

通信作者: 康晶晶 (1986—), 女, 贵州医科大学讲师, 博士。E-mail: kangjingjing1027@126.com

收稿日期: 2023-11-24 改回日期: 2024-09-16

完善且降压效果较好,被广泛应用于临床,但亦引发一系列的副作用,如皮疹、恶心、咳嗽,不利于消化系统及心脑血管等器官的功能发挥。故迫切需要从天然食物中获取安全性高、绿色天然的降血压药物^[2]。

降压肽是一类对血管紧张素转换酶(ACE)具有抑制活性的肽,又称ACE抑制肽。ACE是血压调节系统的关键组分,其作用肾素—血管紧张素系统(RAS)和激肽释放酶—激肽系统(KKS)^[3]后,将无升压活性的血管紧张素-I(Ang I)转化为有升压活性的血管紧张素-II(Ang II),进而提升机体血压。降压肽能够抑制ACE活性,降低血管紧张素-II的生成量,达到抑制血压升高的目的。天然来源的ACE抑制肽具有活性高、无副作用、经济成本低等特点。目前已从米糠^[4]、大蒜^[5]、豌豆^[6]、辣木籽^[7]、泥鳅^[8]、茶树菇^[9]等多种来源中分离纯化出高活性的ACE抑制肽。

茶树菇(*Agrocybe aegerita*)属于担子菌纲伞菌目粪锈伞科田头菇属,主要存在于亚热带以及温带地区,是较为重要的可食用菌之一^[10],素有“中华神菇”之称^[11]。茶树菇中蛋白质含量丰富(约29.72%),是食用菌功能多肽的重要来源之一。茶树菇蛋白由谷氨酸、丙氨酸、亮氨酸、天门冬氨酸、赖氨酸、酪氨酸及苯丙氨酸等18种氨基酸组成,其中必需氨基酸占总氨基酸的42.70%,氨基酸评分和生物价分别为61.53,60.73,具有较高的营养价值^[12]。伍善广等^[13]优化了茶树菇降压肽的水提工艺,当固液比为1:40(g/mL),提取时间为3 h,提取温度为30℃,提取液pH为8.0时,茶树菇降压肽得率为87.7%,ACE抑制活性为54.0%;孙红娜^[9]分别用水和50%乙醇提取茶树菇降压肽,结果显示,水提法优于乙醇提取法,优化水提工艺后的茶树菇蛋白得率为88.3%,ACE抑制率为49.3%。

目前,以食用菌为原料制备ACE抑制肽的主要方法有水提法、硫酸铵沉淀法和甲醛沉淀等^[14]。而且多数以大白口蘑^[15]、蟹味菇^[16]、灵芝^[17]、侧耳菌^[18]等栽培食用菌子实体和灰树花、双色牛肝菌等野生食用菌为原料,利用直接提取法制取ACE抑制肽。这些方法提取工艺简单、快捷、提取率较高,但得到的ACE抑制肽种类比较单一,且原料利用率较低。而使用酶法水解制取ACE抑制肽,不仅可以更充分地利用原料中的蛋白资源,还有可能获得种类更丰富的ACE抑制肽。然而,酶法水解茶树菇蛋白制备ACE抑制肽的研究尚未见报道。

研究拟以茶树菇粉为原料,以多肽得率、ACE抑制率为评价指标,先筛选出合适的酶,再研究各因素对ACE抑

制肽提取效率的影响,优化茶树菇降压肽的制备工艺,并判断茶树菇降压肽主要活性成分的相对分子质量分布,为茶树菇利用价值的开发提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与设备

茶树菇:粉末,西安中科达生物科技有限公司;

Folin-酚试剂:分析纯,索莱宝科技有限公司;

胃蛋白酶、胰蛋白酶、中性蛋白酶:生物技术级,索莱宝科技有限公司;

咪唑丙烯酸三肽(FAPGG)、4-羟乙基哌嗪乙磺酸(HEPES)、血管紧张素转化酶(ACE):生物技术级,麦克林生化有限公司;

NaCl、浓硫酸、硼酸、酒石酸、四硼酸钠等:分析纯,科密欧化学试剂有限公司;

酶标仪:Multiskan GO型,德国Thermo分析仪器世尔科技有限公司;

恒温摇床:TS 111B型,上海天呈试验仪器有限公司;

磁力搅拌水浴锅:HCH-4E型,常州朗越仪器设备有限公司;

台式低速离心机:TD-4Z型,四川蜀科仪器有限公司;

电子天平:JC-JA2003型,上海蒲春计量仪器有限公司。

1.2 方法

1.2.1 水提法制备茶树菇降压肽 参照孙红娜^[9]的方法。

1.2.2 单因素试验

(1) 蛋白质水解酶种类:茶树菇水溶液中加入1%蛋白质水解酶,于最适pH和温度下酶解2 h,灭酶处理后,水提茶树菇降压肽,考虑中性蛋白酶、胰蛋白酶、胃蛋白酶对茶树菇降压肽得率与活性的影响。

(2) 酶解温度:茶树菇水溶液中加入4%中性蛋白酶,调整溶液pH为8,酶解8 h,考察酶解温度(15,25,35,45,55,65,75℃)对茶树菇降压肽得率与活性的影响。

(3) 茶树菇溶液浓度:茶树菇水溶液中加入4%中性蛋白酶,调整溶液pH为8,55℃下酶解8 h,考察茶树菇溶液浓度(1%,3%,5%,7%,9%,11%)对茶树菇降压肽得率与活性的影响。

(4) 加酶量:茶树菇水溶液中分别加入不同量的中性蛋白酶,调整溶液pH为8,55℃下酶解8 h,考察加酶量(2%,6%,10%,14%,22%)对茶树菇降压肽得率与活性的影响。

(5) 酶解pH:茶树菇水溶液中加入4%中性蛋白酶,调整溶液至不同pH,55℃下酶解8 h,考察酶解pH(5,6,

7,8,9,10)对茶树菇降压肽得率与活性的影响。

(6) 酶解时间:茶树菇水溶液中加入 4% 中性蛋白酶,调整溶液 pH 为 8,55 ℃ 下酶解,考察酶解时间(4,8,12,16,20,24 h)对茶树菇降压肽得率与活性的影响。

1.2.3 响应面优化 在单因素试验基础上,选取茶树菇溶液浓度、酶解时间和酶解温度作为因素,采用响应面法优化茶树菇多肽酶解制备工艺。

1.2.4 ACE 抑制活性测定 参照宋小玲等^[19]的方法,按式(1)计算茶树菇降压肽的 ACE 抑制活性。

$$R = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{B_1 - B_2} \right) \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

R ——ACE 抑制率, %;

A_1 ——空白组的初始吸光度;

A_2 ——空白组反应 30 min 的吸光度;

B_1 ——样品组的初始吸光度;

B_2 ——样品组反应 30 min 的吸光度。

1.2.5 茶树菇降压肽得率测定 采用 Lowry 法^[20]。

1.2.6 茶树菇降压肽相对分子质量分布测定 采用 3,5,8 kDa 的透析袋对茶树菇降压肽溶液进行超滤,37 ℃ 下搅拌超滤 12 h,获得 <3,3~5,5~8,>8 kDa 4 种茶树菇活性肽,计算各区域的降压肽含量分布及活性。

1.2.7 数据分析 所有试验重复 3 次,结果以均数±标准差表示。采用 Origin 9.0 和 SPSS 17.0 进行统计分析, Duncan 多组检验各组间的显著差异性($P < 0.05$)。

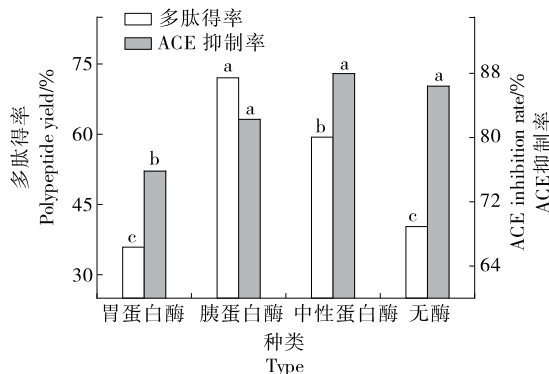
2 结果与讨论

2.1 蛋白质水解酶种类的筛选

由图 1 可知,与水提工艺相比,加入胃蛋白酶后,多肽得率和活性均有所降低,分别为 35.91% 和 75.81%;加入胰蛋白酶后,多肽得率增加至 72.1%,但其 ACE 抑制活性有所降低;相对而言,中性蛋白酶的效果最好,酶解后的多肽得率和 ACE 抑制率分别增加了 19.12% 和 1.60%,可能是由茶树菇蛋白质中酪氨酸、苯丙氨酸和色氨酸的大量酶切分解造成的^[21]。由于茶树菇蛋白中不同作用位点的数量各异,最终导致不同蛋白酶作用下多肽得率不同^[22]。故选择中性蛋白酶作为酶法制备茶树菇降压肽的试验用酶。

2.2 单因素试验

2.2.1 酶解温度 由图 2 可知,当酶解温度从 35 ℃ 升高至 75 ℃ 时,茶树菇降压肽的得率和 ACE 抑制活性均呈 M 型发展趋势,即多肽得率在 25,65 ℃ 时达到最高,ACE 抑制率在 25,55 ℃ 时增至最高。高温条件下(>55 ℃),茶树

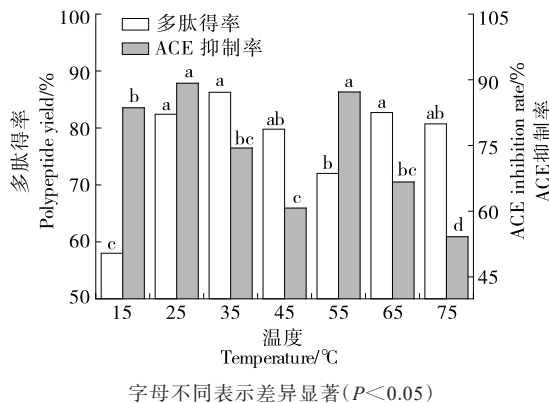


字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)

图 1 茶树菇降压肽试验用酶的筛选

Figure 1 Enzyme screening for preparing the antihypertensive peptides of *A. cylindracea*

菇蛋白不仅会发生断裂分解,蛋白酶也会失活,形成水溶性肽类,进而导致多肽得率升高,而多肽由于非特异性降解其降压活性下降。当酶解温度 < 55 ℃ 时,茶树菇降压肽得率和 ACE 抑制活性均呈抛物线趋势,在 25 ℃ 下达到最佳。这可能与中性蛋白酶的最适温度有关,酶解温度过高会导致酶失活,过低则不利于酶水解反应的发生。综上,选择 25 ℃ 为茶树菇降压肽的最佳酶解温度。



字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)

图 2 酶解温度对茶树菇降压肽制备效果的影响

Figure 2 Effects of hydrolysis temperature on the antihypertensive peptide preparation of *A. cylindracea*

2.2.2 茶树菇溶液浓度 由图 3 可知,随着茶树菇溶液浓度的增加多肽得率先增后降,当茶树菇溶液浓度为 3% 时,多肽得率最高(为 64.71%),可能是茶树菇溶液浓度过高,增加了底物与酶的竞争性作用,蛋白酶与底物的结合率下降,导致了茶树菇多肽得率下降^[23]。而 ACE 抑制率则随茶树菇溶液浓度的增加而增大,可能是高浓度体系下底物与酶的竞争性作用及非特异性结合有利于 ACE 抑

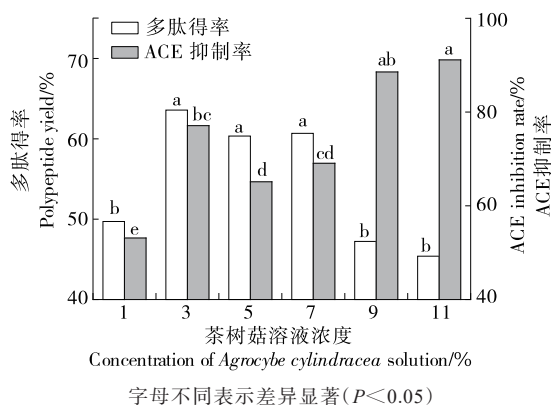


图3 茶树菇溶液浓度对茶树菇降压肽制备效果的影响
Figure 3 Effects of *A. cylindraceus* concentration on the antihypertensive peptide preparation of *A. cylindraceus*

制肽活性位点的生成。综合考虑,选择3%作为茶树菇溶液的最佳浓度。

2.2.3 加酶量 由图4可知,随着中性蛋白酶添加量的增加,多肽得率先增加后发生轻微波动,可能是酶添加量过高,加剧了酶与底物竞争性结合,进而不利于ACE得率的持续提高^[24];ACE抑制率随酶添加量的增加呈V形变动,但无显著性影响,可能是中性蛋白酶复杂的酶切位点使肽段进一步水解成无ACE抑制活性的小肽或游离的氨基酸^[22]。综合考虑,选择14%作为最适宜的酶添加量。

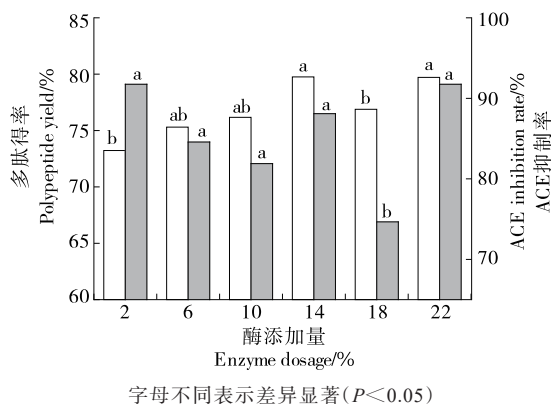


图4 酶添加量对茶树菇降压肽制备效果的影响
Figure 4 Effects of enzyme dosage on the antihypertensive peptide preparation of *A. cylindraceus*

2.2.4 酶解 pH 由图5可知,当pH<8时,随着pH的不断增大,茶树菇降压肽得率与ACE抑制率逐渐增加。当pH>8时,中性蛋白酶为适应新的环境其空间结构发生扭曲,导致酶的活性基团的解离状态改变,与底物的结合率

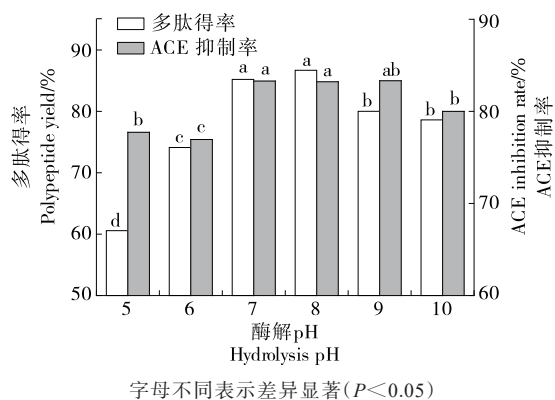


图5 酶解pH对茶树菇降压肽制备效果的影响
Figure 5 Effects of hydrolysis pH value on the antihypertensive peptide preparation of *A. cylindraceus*

下降,因而茶树菇降压肽的得率和活性均有所下降^[25]。因此,pH 8为酶法制备茶树菇降压肽的最佳pH。

2.2.5 酶解时间 由图6可知,随着酶解时间的增加,茶树菇降压肽得率整体呈降低趋势,ACE抑制率呈V形变化,可能是酶解时间延长,茶树菇降压肽过度酶解,产生了大量的游离氨基酸,导致降压肽得率和活性下降^[26]。综合考虑,选择4 h作为茶树菇降压肽的最佳酶解时间。

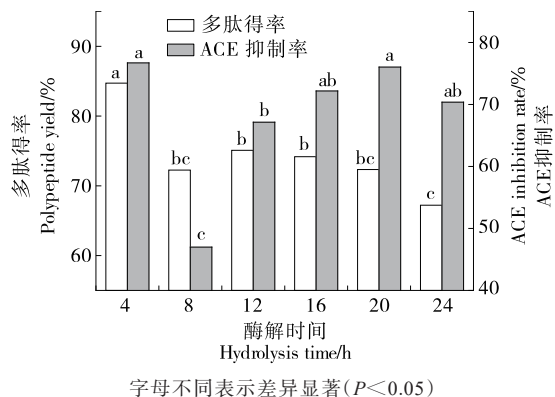


图6 酶解时间对茶树菇降压肽制备效果的影响
Figure 6 Effects of hydrolysis time on the antihypertensive peptide preparation of *A. cylindraceus*

2.3 茶树菇降压肽酶解工艺优化

在单因素试验基础上,以茶树菇溶液浓度、酶解时间和酶解温度为影响因素,以多肽得率和ACE抑制率为响应值进行响应面优化。试验因素水平见表1,试验设计与结果见表2。

借助 Design-Expert 11 软件进行多元回归拟合,得到二次回归方程:

表 1 响应面因素水平表

Table 1 Factors and levels of response surface			
水平	A 茶树菇溶液浓度/%	B 酶解时间/h	C 酶解温度/℃
−1	3	4	20
0	5	6	30
1	7	8	40

$$Y_1 = 89.38 + 1.86A - 3.39B - 3.34C + 1.45AB - 5.68AC - 4.90BC - 5.78A^2 + 2.45B^2 - 4.61C^2, \quad (2)$$

$$Y_2 = 92.06 + 2.27A + 0.7412B - 0.275C + 1.01AB - 1.14AC + 0.6625BC - 5.99A^2 + 1.19B^2 - 2.17C^2. \quad (3)$$

由表 3 可知,多肽得率和 ACE 抑制率的回归模型显著,拟合性较好,并且可以解释 94.83% 和 91.61% 的数据分布。对于茶树菇降压肽多肽得率模型, $F=14.26, P<0.05$,失拟项 $P=0.1135$ (不显著),表明模型的误差主要由随机误差构成,其中茶树菇溶液浓度的影响最显著。对于茶树菇降压肽 ACE 抑制率模型, $F=8.49, P<0.05$,失拟项 $P=0.08887$ (不显著),表明模型的误差主要来自随机误差,其中酶解时间和酶解温度的影响最显著。

由图 7 可知,随着酶解温度与茶树菇溶液浓度的增

表 2 响应面试验设计与结果

Table 2 Actual and predicted values of response surface					
试验号	A	B	C	多肽得率/%	ACE 抑制率/%
1	−1	−1	0	84.51	86.00
2	0	0	0	91.07	90.70
3	0	−1	−1	90.48	90.74
4	1	−1	0	88.71	91.18
5	−1	0	1	82.63	82.49
6	0	1	1	93.00	73.89
7	1	0	1	83.22	70.47
8	1	0	−1	87.46	86.84
9	0	0	0	93.00	91.00
10	0	0	0	91.20	87.00
11	−1	1	0	83.80	78.02
12	0	0	0	92.91	90.57
13	−1	0	−1	82.30	76.14
14	0	0	0	92.13	87.62
15	1	1	0	92.02	89.00
16	0	1	−1	90.82	92.06
17	0	−1	1	90.01	92.18

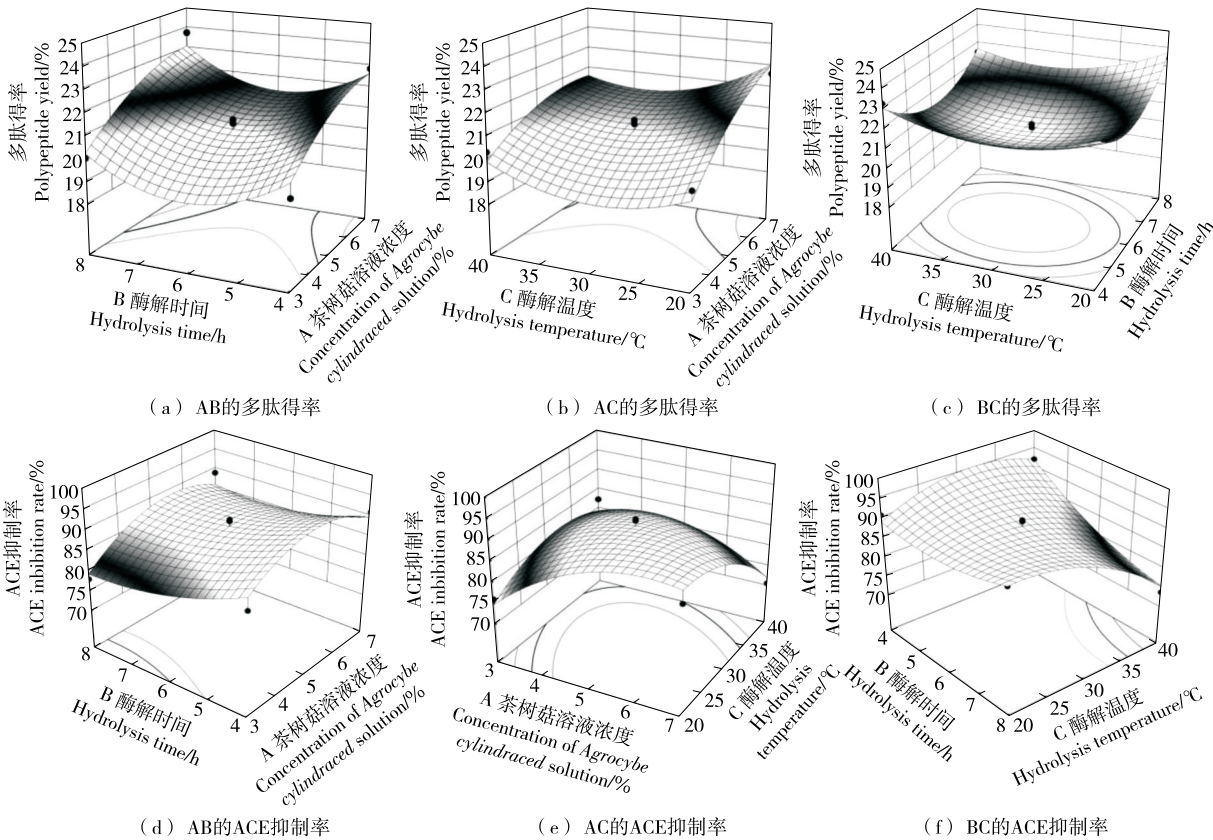


图 7 各因素对多肽得率和 ACE 抑制率的交互影响

Figure 7 Interaction of various factors on polypeptide yield and ACE inhibition rate

表3 回归模型方差分析[†]

Table 3 Analysis of variance of regression equation

来源	多肽得率					ACE抑制率				
	平方和	自由度	均方度	F值	P值	平方和	自由度	均方度	F值	P值
模型	236.66	9	26.30	14.26	0.001 0**	700.22	9	78.82	8.49	0.005 0**
A	41.27	1	41.27	22.38	0.002 1**	27.53	1	27.53	3.00	0.126 7
B	4.40	1	4.40	2.38	0.166 5	92.00	1	92.00	10.04	0.015 7*
C	0.61	1	0.61	0.33	0.584 7	89.45	1	89.45	9.76	0.016 8*
AB	4.04	1	4.04	2.19	0.182 3	8.41	1	8.41	9175	0.370 0
AC	5.22	1	5.22	2.83	0.136 3	129.05	1	129.05	14.08	0.007 1**
BC	1.76	1	1.76	0.95	0.361 7	96.14	1	96.14	10.49	0.014 3*
A ²	151.00	1	151.00	81.90	<0.000 1**	140.68	1	140.68	15.35	0.005 8**
B ²	5.93	1	5.93	3.21	0.116 1	25.32	1	25.32	2.76	0.140 5
C ²	19.85	1	19.85	10.76	0.013 5*	89.59	1	89.59	9.77	0.016 7*
残差	12.91	7	1.84			64.16	7	9.17		
失拟项	9.58	3	3.19	3.83	0.113 5	49.62	3	16.54	4.55	0.088 9
纯误差	3.33	4	0.83			14.54	4	3.64		
总离差	12.91	7	1.84	R ² =0.948 3	R ² _{Adj} =0.881 8	764.39	16	764.39	R ² =0.916 1	R ² _{Adj} =0.808 1

† *表示显著($P<0.05$);**表示极显著($P<0.01$)。

加,茶树菇降压肽得率先升高后降低,说明在试验范围内存在中性蛋白酶酶解茶树菇蛋白制备降压肽的最适酶解温度和底物浓度,当低于或高于该温度或底物浓度时,都会影响酶解液中ACE抑制率 and 多肽得率。同理,对于加酶量、温度和pH都存在适合中性蛋白酶酶解的最优值。根据模型得出最优酶解工艺为茶树菇溶液浓度5.632%,酶解时间7.865 h,酶解温度23.268 ℃,pH 8.0,中性蛋白酶添加量4%,此时茶树菇降压肽得率为93.23%,ACE抑制率为93.232%。

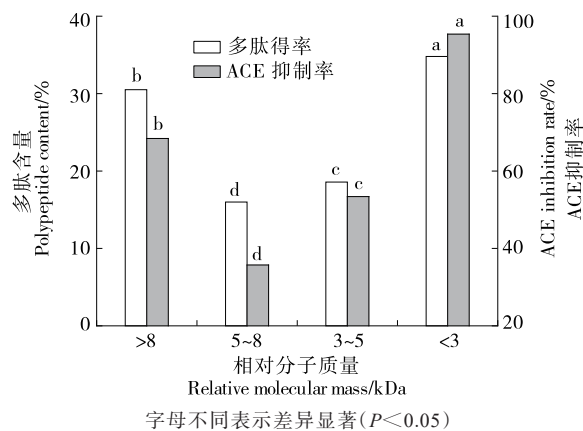
根据实验室情况调整酶解工艺为茶树菇溶液浓度5.4%,酶解时间8 h,酶解温度23.3 ℃,pH 8.0,中性蛋白酶添加量2 g,测得茶树菇多肽得率为92.12%,ACE抑制率为93.75%,与预测值较接近,说明采用酶法制备茶树菇降压肽的工艺可行。

2.4 茶树菇降压肽的相对分子质量分布

由图8可知,相对分子质量为<3,3~5,5~8,>8 kDa的茶树菇降压肽分别占比34.84%,18.59%,16.01%,30.55%,降压活性分别为95.35%,53.40%,35.72%,68.42%。由此可判断,茶树菇降压肽的有效成分主要分布于相对分子质量<3 kDa的组分中。

3 结论

以茶树菇为原料,研究了酶法制备降压肽的工艺。结果表明,与水提法相比,加入中性蛋白酶可以提高茶树



字母不同表示差异显著($P<0.05$)

图8 茶树菇降压肽的活性成分分布

Figure 8 Distribution of active components of antihypertensive peptides of *A. cylindracea*

菇降压肽的制备效率,多肽得率和降压活性均有所提升。酶法制备茶树菇降压肽的最优工艺参数为茶树菇溶液浓度5.4%,酶解时间8 h,酶解温度23.3 ℃,pH 8.0,中性蛋白酶添加量4%,此时茶树菇多肽得率为92.12%,血管紧张素转换酶抑制率为93.75%。茶树菇降压肽的主要活性成分为相对分子质量<3 kDa的肽段,其血管紧张素转换酶抑制率为95.36%,占总茶树菇降压肽质量的36.69%。后续将纯化鉴定茶树菇降压肽的活性成分,且茶树菇降压肽的活性仍需高血压动物模型进行验证。

参考文献

- [1] 陈燕. 高血压病的危害及合理药物治疗[J]. 中国医药指南, 2012, 10(26): 63-64.
- CHEN Y. The harm of hypertension and rational drug treatment [J]. Chinese Medical Guide, 2012, 10(26): 63-64.
- [2] 刘桂剑, 程宽, 朱文青, 等. 高血压的药物治疗进展[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2022, 27(4): 446-449.
- LIU G J, CHENG K, ZHU W Q, et al. Progress of hypertension pharmacological treatment[J]. Chinese Clinical Pharmacology and Therapeutics, 2022, 27(4): 446-449.
- [3] ONDETTI M A, RUBIN B, CUSHMAN D W. Design of specific inhibitors of angiotensin-converting enzyme: new class of orally active antihypertensive agents[J]. Science, 1977, 196 (4 288): 441-444.
- [4] 张玲瑜, 苗建银, 曹愚, 等. 米糠蛋白源 ACE 抑制肽的酶解制备及活性研究[J]. 食品与机械, 2022, 38(3): 160-166.
- ZHANG L Y, MIAO J Y, CAO Y, et al. Enzymatic preparation and activity study of rice bran protein-derived ACE inhibitory peptides[J]. Food & Machinery, 2022, 38(3): 160-166.
- [5] 宋凯强, 刘鹏莉, 郑振佳, 等. 大蒜降压肽的制备及超滤分离[J]. 食品工业科技, 2019, 40(19): 73-80.
- SONG K Q, LIU P L, ZHENG Z J, et al. Preparation and ultrafiltration separation of garlic antihypertensive peptide[J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(19): 73-80.
- [6] 张烁, 郑喜群, 刘晓兰, 等. 豌豆 ACE 抑制肽对诱导损伤的 EA.hy. 926 细胞的保护作用[J]. 食品与机械, 2022, 38(10): 187-193.
- ZHANG S, ZHENG X Q, ZHENG Z J, et al. Protective effects of the pea ACE inhibitory peptide on induced damage of EA.hy. 926 cells[J]. Food & Machinery, 2022, 38(10): 187-193.
- [7] 陈冰冰, 杨奕, 李嘉颐, 等. 富硒辣木籽蛋白降压肽的酶法制备、硒含量及稳定性研究[J]. 食品与机械, 2022, 38(8): 213-221.
- CHEN B B, YANG Y, LI J Y, et al. Preparation, selenium content and stability of antihypertensive peptides from selenium-enriched Moringa oleifera seed protein by enzymatic hydrolysis [J]. Food & Machinery, 2022, 38(8): 213-221.
- [8] 董婧琪, 何泽贺, 田桂芳, 等. 大鳞副泥鳅蛋白 ACE 抑制肽的分离纯化与鉴定[J]. 食品与机械, 2022, 38(12): 145-150.
- DONG J Q, HE Z H, TIAN G F, et al. Isolation, purification and identification of ACE inhibitory peptide from *Paramisgurnus dabryanus* protein[J]. Food & Machinery, 2022, 38(12): 145-150.
- [9] 孙红娜. 茶树菇降血压活性肽的提取分离研究[D]. 南宁: 广西大学, 2008: 1-65.
- SUN H N. Study on the extraction and purification progress of angiotensin-converting enzyme inhibitor from *Agrocybe Aegirit* [D]. Nanning: Guangxi University, 2008: 1-65.
- [10] 才晓玲, 安福全, 邹瑶, 等. 柱状田头菇研究进展[J]. 食用菌学报, 2011, 18(2): 65-69.
- CAI X L, AN F Q, ZOU Y, et al. Progress of *Agrocybe aegirit* research[J]. Journal of Edible Fungi, 2011, 18(2): 65-69.
- [11] 王龙, 周庆平, 石国华, 等. 茶树菇 *Agrocybe cylindracea* 及近缘种种质资源研究现状[J]. 北方园艺, 2021, 15: 134-142.
- WANG L, ZHOU Q P, SHI G H, et al. Status on germplasm resources of *Agrocybe cylindracea* and related species[J]. Northern Horticulture, 2021, 15: 134-142.
- [12] 罗正明, 刘秀丽, 贾艳青, 等. 四种五台山野生食用菌蛋白质营养价值评价[J]. 食品工业科技, 2015, 36(2): 349-354.
- LUO Z M, LIU X L, JIA Y Q, et al. Protein nutritional assessments of four kinds of wild edible fungi in Mount Wutai [J]. Science and Technology of Food Industry, 2015, 36(2): 349-354.
- [13] 伍善广, 孙红娜, 孙建华, 等. 茶树菇中降压活性蛋白提取工艺优化[J]. 南方医科大学学报, 2010, 30(6): 1 264-1 267.
- WU S G, SUN H N, SUN J H, et al. Technical optimization for extracting hypotensive active peptides from *Agrocybe aegerita* [J]. Journal of Southern Medical University, 2010, 30(6): 1 264-1 267.
- [14] 许新月, 崔文玉, 柏雨岑, 等. 食用菌 ACE 抑制肽制备及其功能活性研究进展[J]. 山东农业科学, 2019, 51(11): 157-160, 167.
- XU X Y, CUI W Y, BAI Y C, et al. Research progress of preparation and functional activity of ACE inhibitory peptides from edible fungi[J]. Shandong Agricultural Science, 2019, 51 (11): 157-160, 167.
- [15] PAIVA L, LIMA E, NETO AI, et al. Isolation and characterization of angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory peptides from *Ulva rigida* C. Agardh protein hydrolysate[J]. Journal of Functional Foods, 2016, 26(7): 65-76.
- [16] KANG M G, KIM Y H, BOLORMAA Z, et al. Characterization of an antihypertensive angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptide from the edible mushroom *Hypsizygus marmoreus*[J]. BioMed Research International, 2013, 29: 283-964.
- [17] 伍强. 灵芝菌丝 ACE 抑制肽的鉴定、抑制机理及其降血压分子机制研究[D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2020: 1-159.
- WU Q. Identification, inhibition mechanism and anti-hypertension molecular mechanism of the angiotensin-I

- converting enzyme inhibitory peptide derived from *Ganoderma lingzhi* mycelia[D]. Changsha: Centra South University of Forestry and Technology, 2020: 1-159.
- [18] 许新月. 超声辅助酶法制备杏鲍菇降压活性多肽工艺优化[D]. 泰安: 山东农业大学, 2020: 1-56.
- XU X Y. Optimization of ultrasonic assisted enzymatic preparation of antihypertensive peptides from *Pleurotus eryngii* [D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2020: 1-56.
- [19] 宋小玲, 高冀婷, 曹菲薇, 等. 产ACE抑制肽乳酸菌的筛选、益生特性评定及应用[J]. 食品工业科技, 2022, 43(10): 149-157.
- SONG X L, GAO J T, CAO F W, et al. Screening, probiotic properties evaluation and application of ACE-inhibitory peptide-producing lactic acid bacteria[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(10): 149-157.
- [20] LOWRY O H, ROSEBROUGH N J, FARR A L, et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent[J]. The Journal of Biological Chemistry, 1951, 193(1): 265-275.
- [21] GEREZ C L, TORINO M L, ROLLNET G, et al. Prevention of bread mould spoilage by using lactic acid bacteria with antifungal properties[J]. Food Control, 2009, 20(2): 144-148.
- [22] 秦莹, 马丹妮, 陆节堃, 等. 复合酶解南美白对虾虾头制备ACE抑制肽的工艺优化[J]. 食品研究与开发, 2024, 45(13): 120-128, 149.
- QIN Y, MA D N, LU J K, et al. Optimization of ACE inhibitory peptide preparation from the head of *Penaeus albus* by complex enzymatic hydrolysis[J]. Food Research and Development, 2024, 45(13): 120-128, 149.
- [23] 贾叶叶, 田洪磊, 詹萍, 等. 酶法制备沙漠果蛋白ACE抑制肽工艺的研究[J]. 食品工业科技, 2016, 37(6): 264-269.
- JIA Y Y, TIAN H L, ZHAN P, et al. Preparation of ACE inhibitory peptides from Brazil nut protein by enzymatic hydrolysis[J]. Science and Technology of Food Industry, 2016, 37(6): 264-269.
- [24] 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.
- XU M, WU A Q. Preparation of ACE inhibitory peptide using double enzyme hydrolysis assisted with ultrasonic from rice residue protein[J]. Cereal & Feed Industry, 2019(1): 1-7.
- [25] 陈秋莹, 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): 49-56.
- CHEN Q L, CHEN X Q, MA Q, 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): 49-56.
- [26] 殷海洋, 刘振春, 张世康, 等. 响应面优化超声波辅助酶法提取油莎豆ACE抑制肽的工艺[J]. 食品工业科技, 2021, 42(14): 182-187.
- YIN H Y, LIU Z C, ZHANG S K, et al. Optimization of ultrasonic-assisted enzymatic extraction of ACE inhibitory peptides from *Cyperus esculentus* by response surface method [J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(14): 182-187.