

酸乳中抗高血压肽的分离及其特性研究

潘道东

(南京师范大学食品科学与营养系, 江苏 南京 210097)

摘 要 本研究通过四步反相高压液相色谱从 *Lactobacillus helveticus* 和 *Lactobacillus casei* subsp. *casei* 制作的酸乳中分离到对 ACE 活性具有较强抑制作用并具有较强降高血压效果的活性肽 VPP 和 IPP。它们抑制 ACE 活性的 IC_{50} 分别为 8.89 和 5.17 mol/L; 给高血压老鼠灌胃试验结果显示, VPP 在 0.90、1.80、3.60 mg/kg 体重/天剂量下, 其最大降血压值分别为 12.3 ± 3.7 、 17.9 ± 4.2 和 25.3 ± 4.3 mmHg, 呈极显著性差异 ($p < 0.01$), IPP 在 0.60、1.20、1.80 mg/kg 体重/天剂量下, 其最大降血压值分别为 16.8 ± 3.4 、 25.5 ± 4.6 和 29.1 ± 3.5 mmHg, 呈极显著性差异 ($p < 0.01$)。

关键词: 酸乳; VPP; IPP; ACE; 抗高血压

Purification and Characterization of Antihypertensive Peptides Extracted from Sour Milk

PAN Dao-dong

(Food Science and Nutrition Department of Nanjing Normal University, Nanjing 210097, China)

Abstract: Peptides of VPP and IPP with potent inhibitory activity on angiotensin I-converting enzyme (ACE) and hypertensive function were purified from the sour milk fermented with *Lactobacillus helveticus* JCM1004 and *Lactobacillus casei* subsp. *Casei* ATCC393 by using four-step reverse-phase HPLC. The concentrations of VPP and IPP providing 50% inhibition of ACE (IC_{50}) were 8.89 and 5.17 M, respectively. The most effective values of 12.3 ± 3.7 , 17.9 ± 4.2 , 25.3 ± 4.3 and 16.8 ± 3.4 , 25.5 ± 4.6 , 29.1 ± 3.5 mmHg of decreasing systolic blood pressure (SBP) of spontaneously hypertensive rats after gastric intubation of VPP at the dosages of 0.90, 1.80, 3.60 mg/kg of body weight/day or IPP at the dosages of 0.60, 1.20, 1.80 mg/kg of body weight/day were obtained, respectively. Outstanding significance in the differences was showed in above results.

Key words: sour milk; VPP; IPP; ACE; antihypertensive

中图分类号: Q516

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2005)01-0205-06

血管紧张素转化酶 I (Angiotensin I-converting enzyme, ACE) 能将血管紧张素 I (Asp—Arg—Val—Tyr—Ile—His—Pro—Phe—His—Leu) 末端的二肽 (His—Leu) 切割下来, 使之转变为有较强血管收缩调节活性的血管紧张素 II (Asp—Arg—Val—Tyr—Ile—His—Pro—Phe) 它能促使血管平滑肌收缩, 导致血压升高, 一些降高血压药物通过抑制 ACE 的活性, 阻止血管紧张素 I 转化为血管紧张素 II 反应的发生, 从而高起到降低高血压的作用^[1, 2]。

近年来, 国外有研究报道从乳酪蛋白的酶解物中分离到对 ACE 活性具有一定抑制作用的肽类, 并发现一些发酵乳制品具有降低高血压的功能。发酵乳制品有无降低高血压的作用及降低血压功能的强弱与其所使用发酵

剂的种类及发酵乳中抗高血压肽的类别和含量有密切的关系^[3~5]。瑞士乳杆菌具有较强的蛋白分解酶系统, 有研究发现由它制作的发酵乳制品具有较强的抑制 ACE 及抗高血压活性, 如 Yamamoto 等用 *Lactobacillus helveticus* CP790 所分泌的蛋白酶来水解酪蛋白, 发现其水解物有较强的抗高血压功能, 并从中分离到具有抗高血压作用的活性肽^[6~11]。本文将研究从 *Lactobacillus helveticus* JCM 1004 和 *Lactobacillus casei* subsp. *casei* ATCC393 所制作的酸乳中分离具有较强抗高血压作用的活性肽, 并对其特性进行研究。

1 材料与方法

1.1 材料

收稿日期: 2004-03-01

基金项目: 国家十五奶业重大科技专项(2002BA518A12); 江苏省十五攻关项目(BE2002302)

作者简介: 潘道东(1964-), 男, 教授, 博士, 硕士生导师, 主要从事乳品科学研究。

Lactobacillus helveticus JCM 1004, *Lactobacillus casei* subsp. *casei* ATCC393; 原发性高血压老鼠 (Spontaneously hypertensive rat; SHR) 购于 Charles River Japan, Inc. (Yokohama, Japan); Hippuryl-L-histidyl-L-leucine (Hip-His-Leu) 购于 Sigma μ Bondasphere C₁₈ (3.9 × 150mm I.D., Waters, Tokyo, Japan) 色谱柱, YMC—Pack ODS—AP—303 (4.6 × 250mm I.D., YMC, Co., Ltd, Japan) 色谱柱, TSK—Octadecyl 4PW (3.9 × 150mm I.D., Tosoh, Tokyo, Japan) 色谱柱, YMC—Pack ODS—100S (3.9 × 150mm I.D., YMC Co., Ltd, Japan) 色谱柱; ACE (Angiotensin-I-converting enzyme, 来源于兔肺) 及其他有关试剂购于日本 Wake Pure Chemicals Co., Ltd.; 尾动脉血压测定装置 (PE-300; NARCO Bio-Systems, Austin, TX)。

1.2 方法

1.2.1 酸乳的制备及预处理

10% 脱脂乳在 90℃ 下杀菌 15min, 杀菌结束后冷却到 37℃, 无菌操作条件下, 接种 4.0% 的 *Lactobacillus helveticus* JCM 1004 和 *Lactobacillus casei* subsp. *casei* ATCC393 所制作的发酵剂, 在 40℃ 下培养发酵 10h, 培养发酵结束后用 50% 的乳酸将其 pH 值调节到 3.4~3.6, 在 8000r/min 下离心 10min, 收集上清液, 再用 10N 的氢氧化钠溶液将 pH 值调节到 8.3, 在 8000r/min 下离心 10min, 收集上清液冷冻干燥后, 用于抑制 ACE 活性及多肽含量的测定。多肽含量的测定采用 Church 之方法^[12]。

1.2.2 抗高血压肽的分离

将上述酸乳冻干粉溶于洗脱液 A, 再用孔径为 0.2 μ m 的过滤膜过滤, 以除去大分子物质, 滤液再经下述四步反相高压液相色谱分离精制得抗高血压活性肽: 首先, 将 1.0ml 上述过滤通过 μ Bondasphere C₁₈ (3.9 × 150mm I.D., Waters, Tokyo, Japan) 色谱柱分离, 洗脱液 A 为乙腈: 水: 三氧乙酸 (100:900:1, V/V), 洗脱液 B 为乙腈: 水: 三氧乙酸 (100:900:1, V/V), 采用梯度洗脱法, 在 0~40min 洗脱时间内, B 液浓度从 0% 上升至 45%, 在 41~70min 洗脱时间内, B 液浓度从 45% 升至 75%, 在 71~90min 洗脱时间内, B 液浓度从 75% 升至 100%, 各阶段洗脱液的流速均为 1.0ml/min, 检测波长为 215nm, 收集各个峰的洗脱液, 冷冻干燥后进行抑制 ACE 活性试验; 第二步, 将上述对 ACE 活性具有较强抑制作用的样品溶于 A 洗脱液, 通过 YMC—Pack ODS—AP—303 (4.6 × 250mm I.D., YMC, Co., Ltd, Japan) 色谱柱分离, 洗脱液、洗脱梯度、洗脱液流速及检测波长均同第一步, 将各个洗脱峰之洗脱液收集起来, 冷冻干燥后进行抑制 ACE 活性试验; 第三步, 将第二步所得具有较高抗 ACE 活性之样品溶于洗脱液 A, 再经 YSK—Octadecyl 4PW (3.9 × 150mm I.D., Tosoh, Tokyo, Japan) 色

谱柱分离, 洗脱液、洗脱梯度、洗脱液流速及检测波长均同第一步, 将各个吸收峰的洗脱液收集起来, 冷冻干燥后进行抑制 ACE 活性试验; 第四步, 将第三步分离所得具有较高抗 ACE 活性样品溶于洗脱液 A, 经 YMC—Pack ODS—100S (3.9 × 150mm I.D., YMC Co., Ltd, Japan) 色谱柱分离, 洗脱液 A 为乙腈: 水: 三氟乙酸 (100:900:0.8, V/V), 洗脱液 B 为乙腈: 水: 三氟乙酸 (100:900:0.8, V/V); B 液洗脱梯度如下, 在 0~45min 洗脱时间内, 浓度从 0% 升至 40%, 在 46~75min 洗脱时间内, 浓度从 41% 升至 70%, 在 76~90min 洗脱时间内, 浓度从 71% 升至 100%, 洗脱液流速为 1.0ml/min, 检测波长为 215nm, 将各个吸收峰洗脱液收集起来冷冻干燥后, 再进行抑制 ACE 活性试验。

1.2.3 抑制 ACE 活性测定

抑制 ACE 活性的测定采用 Cushman 和 Cheung 的方法^[13]。用含有 0.3mol/L NaCl 的 0.1mol/L 硼酸盐缓冲液 (pH 8.3) 将 Hip-His-Leu 配成 5.0mmol/L 的溶液。在 10ml 试管中分别加入 200 μ l 的 5mmol/L Hip-His-Leu 溶液和 80 μ l 的酸乳上清液 (或溶于蒸馏水的多肽溶液), 于 37℃ 下保温 3min 后, 再加入 20 μ l ACE 溶液 (溶解于蒸馏水中, 活力为 0.1U/ml), 混匀后在 37℃ 下保温 30min, 再加入 250 μ l 的 1.0N 盐酸溶液以终止反应, 再加入 1.7ml 醋酸乙酯, 经 15s 振荡混匀后, 静置 5min, 用移液管吸取 1.0ml 的醋酸乙酯层, 真空冷冻干燥后, 加入 1.0ml 蒸馏水, 混匀后在 228nm 处测定吸光度。在上述条件下, 抑制 50% 的 ACE 活性 (IC₅₀) 为样品的一个活性单位。IC₅₀ 为抑制 50% 的 ACE 活性所需抑制剂的浓度。

$$\text{ACE 抑制率} = [(B-A)/(B-C)] \times 100\%$$

其中 A 为含有酸乳乳清 (或溶于蒸馏水的多肽溶液) 和 ACE 溶液的吸光度; B 为不含发酵乳乳清 (或溶于蒸馏水的多肽溶液) 样品, 但含有 ACE 溶液; C 为含脱脂乳乳清 (或蒸馏水) 和 ACE 溶液。

1.2.4 抗高血压试验

将 SHR 老鼠按体重随机分为以下八组: 对照组、IPP 0.60、1.20、1.80mg/kg bw · d 剂量组, VPP 0.90、1.80、3.60 mg/kg bw · d 剂量组及冻干酸乳粉 800mg/kg bw · d 剂量组, 每组 6 只 (雌雄各 3 只), 单笼饲养, 自由进食和饮水, 多肽及酸乳冻干粉按剂量比例溶于 0.2 mmol/L 的磷酸缓冲液中 (pH 7.2), 等体积不同浓度灌胃 3d, 灌胃体积为 1.0ml/只, 每天一次, 连续灌胃 3d, 每次灌胃结束后 2、4、6、8、10、12 和 24h, 分别测定 SHR 老鼠的尾动脉收缩压 (Systolic blood pressure, SBP) 按 Furushiro 等的方法^[14], 在测定收缩压前, 将老鼠在 32 ± 5℃ 的条件下保温 5min 再测定, 每次重复测 3 次, 取平均值。

1.2.5 肽的氨基酸组成及序列测定

将多肽溶解于 6N HCl 中, 在真空下于 110℃ 下水解 24h, 用高压液相色谱系统 (JASCO PU—980, JASCO, Tokyo Japan) 测定其氨基酸的组成, 肽的氨基酸序列分析采用序列分析仪 (PPSQ-10; Shimadzu, Kyoto Japan)。

1.2.6 数据处理

以 $\bar{x} \pm S$ 表示, 用 Statistics 软件对数据作方差分析, 确定差异显著性。

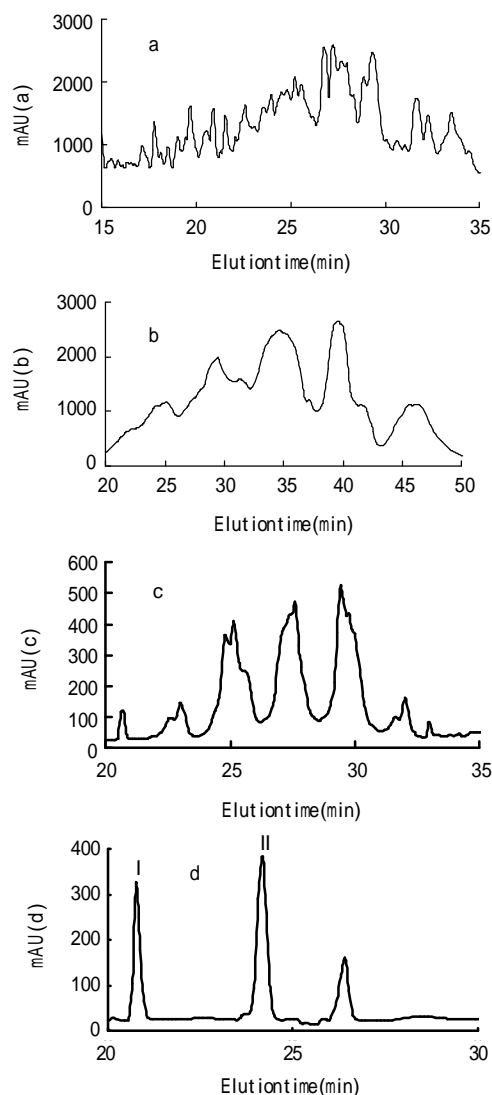
2 结果与分析

2.1 抗高血压肽的分离

抗高血压肽的分离结果如图 1 所示。μ Bondasphere C₁₈ 分离产生无数个洗脱峰, 抑制 ACE 活性试验结果显示, 洗脱时间在 20~25min 之间的收集液具有较大的抗 ACE 活性 (图 1a)。将这部分收集液经 YMC—Pack ODS—AP—303 色谱柱分离并经抑制 ACE 活性试验, 其中洗脱时间在 25~35min 之间的收集液具有较高的抗 ACE 活性 (图 1b); 这部分收集液继续用于 TSK—Octadecyl 4PW 色谱柱的分离, 经抑制 ACE 活性试验, 洗脱时间在 23~26min 之间的收集液具有较高的抗 ACE 活性 (图 1c); 将这部分收集液再用于 YMC—Pack ODS—100S 色谱柱分离, 结果如图 1d 所示, 出现 3 个单独吸收峰, 其中峰 I 和 II 具有较强的抗 ACE 活性功能, 将这二个峰的收集液分别用其它色谱柱分离均显示单一吸收峰, 这表明经上述四步反相高压液相色谱分离已比较纯净。由表 1 可知, 在每步分离纯化过程中, 峰 I 和峰 II 抗 ACE 活性回收率之和占原分离样品 (酸乳粉) 抗 ACE 活性的 68.18%, 由此表明酸乳的抗 ACE 活性主要是峰 I 和峰 II 所含之活性肽所起的作用。

2.2 IPP 和 VPP 抗高血压效果

对照组、IPP 0.60、1.20、1.80mg/kg 剂量组, VPP



(a) μBondasphere C₁₈, (b) ODS—AP—303, (c) TSK—Octadecyl 4PW, (d) ODS—100S.

图 1 酸奶中抗 ACE 活性肽的反相高压液相分离色谱图
Fig.1 Reversed-phase HPLC elution profiles detected at 215nm of sour milk on columns

0.90、1.80、3.60mg/kg 剂量组及冻干酸乳粉组, 在灌胃前的血压值分别为 226.5 ± 3.8 、 220.1 ± 3.9 、 224.5 ± 3.2 、 221.8 ± 3.6 、 224.3 ± 3.5 、 225.7 ± 4.1 、 219.8 ± 3.9 和 220.2 ± 4.2 mmHg; 灌胃后不同时间内的血压变化状况及变化值分别如图 2、3 和表 2 所示。

由表 2 及图 2、3 可知, 给 SHR 老鼠分别灌胃 VPP、IPP 和酸乳对其血压有极显著的影响。酸乳组在灌胃 6h 后, 血压下降值达到最大; VPP 组在灌胃 8h 后, 血压下降值达到最大; IPP 组在灌胃后 4h, 血压下降值达到最大, 而对照组老鼠在灌胃后 12h 之内, 其血压无显著性差异, 各试验组老鼠在灌胃 24h 后, 血压基本上恢复到原值。

表 1 酸奶中 ACE 活性抑制物质的分离

Table 1 Purification of inhibitors of angiotensin I-converting enzyme (ACE) from sour milk

Purification steps	Total peptide (μg)	ACE inhibition (U)	Specific activity (U/μg)	Yield of activity (%)
Lyophilized sour milk whey powder	7630	1342	0.18	100
μ Bondasphere C ₁₈	1090	1254	1.15	93.44
ODS-AP-303	774	1150	1.49	85.69
TSK-Octadecyl 4PW	356	994	2.79	74.07
ODS-100S	277	957	3.45	71.31
Peck I	112	419	3.74	31.22
Peck II	95	496	5.22	36.96

表2 高血压老鼠灌胃多肽后的收缩压变化值
Table 2 Changes of systolic blood pressure (SBP) of spontaneously hypertensive rats after gastric intubation
($\bar{X} \pm S$, n=6)

Time (h)		2	4	6	8	10	12
Control		3.6±2.1	1.5±1.7	-3.1±2.4	-1.7±1.8	2.3±1.2	-1.4±1.6
VPP	A	-6.3±2.1	-8.2±3.2*	-10.1±2.8**	-12.3±3.7**	-8.2±2.1*	-3.5±1.9
	B	-10.2±3.1*	-12.9±4.1**	-14.8±3.6**	-17.9±4.2**	-12.4±2.1*	-6.1±2.3
	C	-14.4±3.7**	-20.8±4.2**	-23.4±3.1**	-25.3±4.3**	-19.1±2.1**	-8.5±1.9*
	D	-12.5±2.7*	-16.8±3.4**	-14.8±3.6**	-12.2±2.1*	-9.2±3.2*	-4.6±3.1
IPP	E	-20.8±2.5**	-25.5±4.6**	-22.1±2.7**	-19.3±3.8**	-14.0±3.5**	-6.5±2.9
	F	-25.8±3.4**	-29.1±3.5**	-28.4±4.1**	-24.9±3.7**	-17.8±3.8**	-8.3±2.6*
	G	-17.6±2.1**	-30.7±3.9**	-31.5±3.6**	-27.9±4.2**	-20.8±4.1**	-10.5±3.2*

Note: A, B and C are the dosage of 0.90, 1.80, 3.60mg/kg·d of VPP, respectively; D, E and F are the dosage of 0.60, 1.20, 1.80 mg/kg·d of IPP, respectively; G is the dosage of 800 mg/kg·d of frozen dry sour milk powder; (*, p<0.05; **, p<0.01).

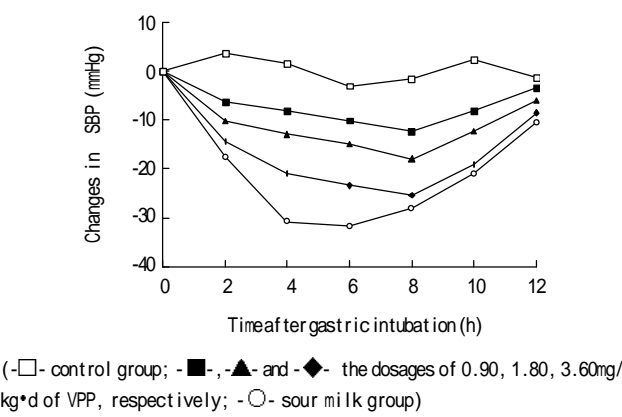


图2 高血压老鼠灌胃VPP或酸奶后的收缩压变化
Fig.2 Changes in mean SBP of SHR after gastric intubation of VPP or sour milk

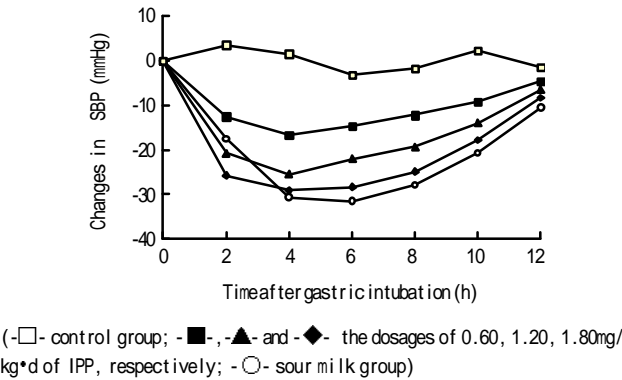


图3 高血压老鼠灌胃IPP或酸奶后的收缩压变化
Fig.3 Changes in mean SBP of SHR after gastric intubation of IPP or sour milk

2.3 VPP 和 IPP 投与剂量对降高血压效果的影响
SHR 老鼠分别给予 VPP 0.90、1.80、3.60mg/kg·d 和 IPP 0.60、1.20、1.80mg/kg·d 其血压变化如图 4 所

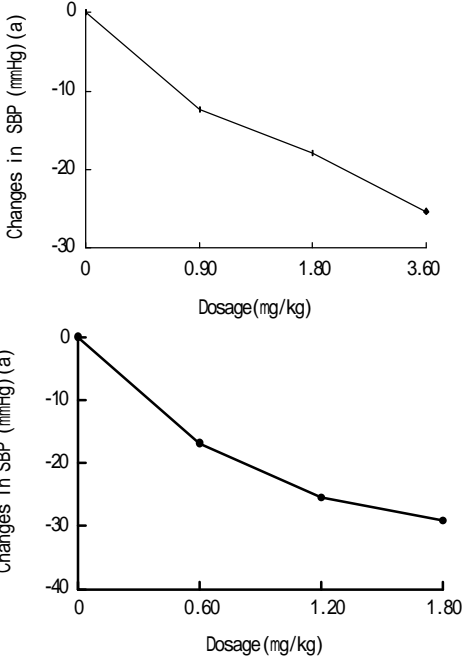


图4 高血压老鼠灌胃不同剂量VPP (a)或IPP后的收缩压变化(b)
Fig.4 Changes in mean SBP of SHR after gastric intubation of VPP (a) or IPP (b)

示。灌胃前各组的血压分别为220.1±3.9、224.5±3.2、221.8±3.6、224.3±3.5、225.7±4.1、219.8±3.9mmHg。由上述试验结果知，灌胃 VPP 后 8h 左右血压下降值最大，故在考察 VPP 投与剂量对降血压效果的影响时选择灌胃 8h 后所测结果，其变化值分别为-12.3±3.7、-17.9±4.2和-25.3±4.3mmHg，呈极显著性差异(p<0.01)；同理给 SHR 老鼠分别灌胃 0.60、1.20、1.80mg/kg·d IPP 后 4h 所测之血压变化值分别为-16.8±3.4、-25.5±4.6和-29.1±3.5mmHg，呈极显著性差异(p<0.01)，由此可知，VPP 在 0.90~3.60mg/kg·d，IPP 在 0.60~

1.80mg/kg·d 剂量范围内, 投予剂量与降高血压效果呈正相关, 即在此剂量范围内, 投予剂量越大, 降高血压效果越好。

2.4 肽的氨基酸组成及序列

表 3 ACE活性抑制物质的氨基酸序列及其IC₅₀值
Table 3 Amino acid sequence of angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitor and the concentration of ACE inhibitor need to inhibit 50% of the ACE activity (IC₅₀)

Peck	Sequence	Aminoacidratio	IC ₅₀ (μmol/L)
I	Val-Pro-Pro	1.00:1.95(Val:Pro)	8.89
II	Ile-Pro-Pro	1.00:2.06(Ile:Pro)	5.17

峰 I 和峰 II 的氨基酸组成如表 3 所示, 由表 3 可知, 峰 I 的氨基酸组成为 Val 1.0 和 Pro 1.95, 经序列分析可知, 峰 I 为 Val—Pro—Pro (VPP); 峰 II 的氨基酸组成为 Ile 1.0 和 Pro 2.06, 经序列分析知, 它为 Ile—Pro—Pro (IPP)。VPP 和 IPP 的 IC₅₀ 值分别为 8.89μmol/L 和 5.17 μmol/L。

3 讨论

从实验结果知, 从 *Lactobacillus helveticus* JCM1004 和 *Lactobacillus casei* subsp. *casei* ATCC393 所制作的酸乳中分离到二种对 ACE 活性具有较强抑制作用并具有较高抗高血压作用的活性肽 VPP 和 IPP, 在整个分离纯化过程中, VPP 和 IPP 抗 ACE 活性的回收占酸乳抗 ACE 活性的 68.18%, 这表明酸乳的抗 ACE 活性主要是由 VPP 和 IPP 起作用。在 β-酪蛋白一级结构序列的第 74~76 氨基酸残基和第 84~86 氨基酸残基存在着 Ile—Pro—Pro 和 Val—Pro—Pro 片段, 在 κ-酪蛋白的第 108~110 氨基酸残基存在着 Ile—Pro—Pro 片段 (如图 5 所示)^{[7][15]}, 它们在乳酸菌所分泌时各种蛋白酶作用下被切割下来, 释放到酸乳中。

61
Pro-Phe-Pro-Gly-Pro-Ile-Pro-Asn-Ser-Leu-Pro-Gln-Asn-
74 76 84 86
Ile-Pro-Pro-Leu-Thr-Gln-Thr-Pro-Val-Val-Val-Pro-Pro-Phe-
Leu-Gln-Pro (β-Casein)
101 108 110
Pro-His-Leu-Ser-Phe-Met-Ala-Ile-Pro-Pro-Lys-Lys-Asn-Gln-
120
Asp-Lys-Thr-Glu-Ile-Pro (κ-Casein)

图 5 牛乳 β-酪蛋白和 κ-酪蛋白的氨基酸序列

Fig.5 Bovine milk β-CCasein and κ-CCasein sequence

由本实验结果还可知, VPP 和 IPP 与抗高血压效果存在着剂量关系, VPP 在 0.90~3.60mg/kg·d、IPP 在

0.60~1.80mg/kg·d 剂量范围内, 降高血压效果与投予剂量呈正相关, 即在此剂量范围内, 投予剂量越大, 降高血压效果越好。降高血压效果还与投予时间及肽种类有关, 高血压老鼠在给与 VPP 后 8h, 血压下降值达到最大, IPP 在给与后 4h 血压下降值达到最大, 酸乳在给与后 6h, 血压下降值达到最大, 各组在给与后 24h 血压均恢复到原值, 这可能 VPP 和 IPP 在血液内被酶所降解有关。另外, 在相同剂量下, IPP 的降高血压效果比 VPP 强。

VPP 和 IPP 抑制 50%ACE 活性 (IC₅₀) 的值分别为 8.89 和 5.17 μmol/L, 它们比绝大多数来源于乳蛋白的抗 ACE 活性肽 IC₅₀ 值低 (如表 4 所示), 表明本研究所分离的 VPP 和 IPP 是酸乳中具有较强的抗 ACE 及抗高血压活性的多肽。

表 4 来源于乳蛋白的 ACE 活性抑制肽

Table 4 ACE inhibitory activity of selected milk protein-derived peptides

Peptides	IC ₅₀ (μmol/L)
Lys-Ala-Val-Pro-Tyr-Pro-Gln	>1000 ^[10]
Lys-Tyr-Pro-Val-Gln-Pro-Phe-Thr-Glu-Ser-Gln-Ser-Leu-Thr-Leu	93 ^[10]
Ser-Lys-Val-Leu-Pro-Val-Pro-Glu	39 ^[10]
Ala-Leu-Pro-Met-His-Ile-Arg	42.6 ^[16]
Phe-Phe-Val-Ala-Pro-Phe-Pro-Glu-Val-Phe-Gly-Lys	59 ^[17]
Ala-Val-Pro-Tyr-Pro-Gln-Arg	15 ^[17]
Thr-Thr-Met-Pro-Leu-Trp	16 ^[17]
Lys-Val-Leu-Pro-Val-Pro-Gln	1000 ^[18]
Lys-Val-Leu-Pro-Val-Pro	5 ^[18]
Ile-Pro-Ala	141 ^[19]
Tyr-Pro	720 ^[8]

参考文献:

- [1] Brown N J, Vaughan D E. Angiotensin-converting enzyme inhibitors[J]. *Circulation*, 1998, 97: 1411-1420.
- [2] Sugai R. ACE inhibitors and functional foods[J]. *Bulletin of the IDF*, 1998, 336: 17-20.
- [3] FitzGerald R J, Meisel H. Milk protein-derived peptide inhibitors of angiotensin-I-converting enzyme[J]. *Br J Nutr*, 2000, 84(Suppl. 1): S33-S37.
- [4] Nakamura K, Masuda O, Takano T. Decrease in tissue angiotensin I-converting enzyme activity upon feeding sour milk in spontaneously hypertensive rats[J]. *Biosci Biotech Biochem*, 1996, 60: 488-489.
- [5] Nakamura Y, Yamamoto N, Sakai K, et al. Antihypertensive effect of sour milk and peptides isolated from it that are inhibitors to angiotensin I-converting enzyme[J]. *J Dairy Sci*, 1995, 78: 1253-1257.
- [6] Yamamoto N. Antihypertensive peptides derived from milk

- proteins. Biopoly, 1997, 43: 129-134.
- [7] Nakamura Y, Yamamoto N, Sakai K. Purification and characterization of angiotensin I-converting enzyme inhibitors from sour milk [J]. J Dairy Sci, 1995, 78: 777-783.
- [8] Yamamoto N, Maeno M, Takano T. Purification and characterization of an antihypertensive peptide from a yogurt-like product fermented by *Lactobacillus helveticus* CPN4 [J]. J Dairy Sci, 1999, 82: 1388-1393.
- [9] Maeno M, Yamamoto N, Takano T. Identification of an antihypertensive peptide from casein hydrolysate produced by a proteinase from *Lactobacillus helveticus* CP790 [J]. J Dairy Sci, 1996, 73: 1316-1321.
- [10] Yamamoto N, Akino A, and Takano T. Purification and specificity of a cell-wall-associated proteinase from *Lactobacillus helveticus* CP790 [J]. J Biochem, 1994, 114: 740-745.
- [11] Yamamoto N, Akino A, and Takano T. Antihypertensive effects of peptides derived from casein by an extracellular proteinase from *Lactobacillus helveticus* CP790 [J]. J Dairy Sci, 1994, 77: 917-922.
- [12] Church F C, Swaisgood H E, Proter D H, et al. Spectrophotometric assay using o-phthalaldehyde for determination of proteolysis in milk and isolated milk protein [J]. J Dairy Sci, 1983, 66: 1219-1227.
- [13] Cushman D W, Cheung H S. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung [J]. Biochem. Pharmacol, 1971, 20: 1637-1648.
- [14] Furushiro M, Sawada H, Hirai K, et al. Blood pressure-lowering effect of extract from *Lactobacillus casei* in spontaneously hypertensive rats [J]. Agric Biol Chem, 1990, 54: 2193-2198.
- [15] FitzGerald R J, Meisel H. Milk protein-derived peptide inhibitors of angiotensin-I-converting enzyme [J]. Br J Nutr, 2000, 84 (Suppl. 1): S33-S37.
- [16] Margaret M M, Hans M, Richard J F. Identification of a novel angiotensin-I-converting enzyme inhibitory peptide corresponding to a tryptic fragment of bovine β -lactoglobulin [J]. FEBS Letters, 1997, 402: 99-101.
- [17] Karaki H, Doi K, Sugano S, et al. Antihypertensive effect of tryptic hydrolysate of milk casein in spontaneously hypertensive rats [J]. Comp Biochem Physiol, 1990, 96: 367-371.
- [18] Maeno M, Yamamoto N, Takano T. Identification of an antihypertensive peptide from casein hydrolysate produced by a proteinase from *Lactobacillus helveticus* CP790 [J]. J Dairy Sci, 1996, 79: 1316-1321.
- [19] Abubakar A, Satio T, Kitazawa H, et al. Structural analysis of new antihypertensive peptides derived from cheese whey protein by proteinase K digestion [J]. J Dairy Sci, 1999, 81: 3131-3138.

信息

《乳制品感官质量评鉴细则》正式发布

由中国乳制品工业协会组织编写的《乳制品感官质量评鉴细则》，经过近两年的工作完成了编审程序，于近日正式发布。该《细则》作为行业规范由各乳制品企业参照执行。

据中国乳制品工业协会的有关人士介绍，1999年颁布的乳制品国家标准只规定了理化、卫生指标，而没有制定感官质量指标的内容。有的企业在一定程度上忽视了对感官质量的追求。企业对产品感官质量的评鉴执行的是各自的企业标准，而这些企业标准又不尽相同，在发生产品感官质量的纠纷时缺乏权威性的评鉴依据。随着人们生活水平的不断提高，乳制品逐步成为膳食的重要组成部分。作为食品，除理化指标外，感官指标是产品质量的重要组成部分。这就要求广大乳制品生产企业，不仅要逐步提高产品质量，而且要重视产品的风味、冲调性、组织状态等感官质量的提高。新标准颁布后，中国乳制品工业协会不断收到一些企业和消费者的建议，要求增加乳制品感官质量评鉴标准。《细则》为企业提高乳制品感官质量提供了一个较为全面的指导性依据。

《细则》由北京三元食品股份有限公司、光明乳业股份有限公司、内蒙古伊利实业集团股份有限公司、黑龙江龙丹科技股份有限公司、浙江熊猫乳品有限公司及全国乳品标准化中心委派专家组成起草小组，负责起草。全国乳品标准化中心对送审稿进行了认真审阅。《细则》由中国乳制品工业协会正式发布，其中包括巴氏杀菌乳、灭菌乳、酸牛乳、全脂乳粉、脱脂乳粉、全脂加糖乳粉、婴儿配方乳粉、全脂加糖炼乳、全脂无糖炼乳、奶油、切达干酪、莫扎雷拉干酪、蓝纹干酪、卡门培尔干酪、再制干酪、农家干酪等产品的感官质量评鉴细则。