# 酶法制备玉米七肽糖基化产物及其对 乙醇脱氢酶激活活性的影响研究

王 哲<sup>1,2</sup>, 李冠龙<sup>2</sup>, 刘晓兰<sup>1,2\*</sup>

(1. 哈尔滨商业大学食品工程学院,哈尔滨 150028; 2. 齐齐哈尔大学食品与生物工程学院, 黑龙江省玉米深加工理论与技术重点实验室,齐齐哈尔 161006)

摘要:目的 对玉米七肽(Ser-Ser-Asn-Cys-Gln-Pro-Phe, SSNCQPF)进行糖基化制备和分离纯化,并对其进行乙醇脱氢酶(alcohol dehydrogenase, ADH)激活活性验证。方法 通过谷氨酰胺转氨酶(transglutaminase, TGase)介导,以玉米七肽作为酰基供体, D-氨基葡萄糖(D-glucosamine, GlcN)为酰基受体合成玉米糖肽的糖基化反应,并分离纯化玉米糖肽单体[SSNCQ(GlcN)PF]。使用超高效液相色谱-静电场轨道阱质谱仪(ultra performance liquid chromatography-quadrupole exactive orbitrap mass spectrometry, UPLC-QE Orbitrap MS)进行面积归一化法测定糖肽纯度,采用核磁共振波谱仪(nuclear magnetic resonance, NMR)测定糖肽的氢谱(<sup>1</sup>H NMR)和碳谱(<sup>13</sup>C NMR),并结合二级质谱进行结构定性分析。最后用酶标仪(microplate reader spectrometry, MRS)对比测定玉米七肽及其糖肽的 ADH 激活活性,以验证玉米七肽糖基化修饰对其 ADH 激活活性的影响。 结果 玉米糖肽经过分离、纯化和冻干后,其纯度达到 99.11%,并且通过二级质谱、核磁氢谱和碳谱的分析,确定氨基葡萄糖连接在玉米七肽谷氨酰胺残基的氨基上。在摩尔浓度为 2.5 mmol/L 时,糖肽的 ADH 激活率比玉米七肽高 9.89%。结论 与玉米肽相比,采用 TGase 酶介导玉米七肽和氨基葡萄糖合成的糖肽,具有更高的 ADH 激活活性,为玉米肽糖基化在食品工业中的应用提供参考。

关键词: 糖肽; 酶法糖基化; 结构鉴定; 乙醇脱氢酶激活; 玉米

# Enzymatic preparation of glycosylated corn heptapeptide and effect on alcohol dehydrogenase activating activity

WANG Zhe<sup>1,2</sup>, LI Guan-Long<sup>2</sup>, LIU Xiao-Lan<sup>1,2\*</sup>

(1. College of Food Engineering, Harbin University of Commerce, Harbin 150028, China; 2. College of Food and Bioengineering, Qiqihar University Heilongjiang Key Laboratory of Corn Deep Processing Theory and Technology, Qiqihar 161006, China)

基金项目:国家重点研究计划项目(2017YFD0400200)、哈尔滨商业大学研究生创新基金项目(YJSCX2020-637HSD)、中央支持地方高校改 革发展资金高水平人才项目(2020GSP08)、黑龙江省玉米主食工业化工程技术研究中心开放课题项目(SPKF202025)、黑龙江省省属本科 高校基本科研业务费项目(145209309)

**Fund:** Supported by the National Key Research Program of China (2017YFD0400200), the the Innovation Scientific Research Fund for Graduate Students Harbin University of Commerce (YJSCX2020-637HSD), the Central Government Supports High-level Talent Projects Funded by the Reform and Development of Local Colleges and Universities (2020GSP08), the Heilongjiang Province Maize Staple Food Industrialization Engineering Technology Research Center Laboratory Open Project (SPKF202025), and the Fundamental Research Funds of Department of Education of Heilongjiang Province (145209309)

<sup>\*</sup>通信作者:刘晓兰,教授,主要研究方向为蛋白的酶法改性。E-mail: 01275@qqhru.edu.cn

<sup>\*</sup>Corresponding author: LIU Xiao-Lan, Professor, College of Food Science and Engineering, Harbin University of Commerce, No.1, Xuehai Street, Songbei District, Harbin 150028, China. E-mail: 01275@qqhru.edu.cn

ABSTRACT: Objective To prepare and purify glycosylated corn heptapeptide (Ser-Asn-Cys-Gln-Pro-Phe, SSNCQPF), and verify its activation activity on alcohol dehydrogenase (ADH). Methods The glycosylation reaction of corn glycopeptide was mediated by transglutaminase (TGase) with maize heptapeptide as the acyl donor and D-glucosamine (GlcN) as the acyl acceptor, and the maize glycopeptide monomer [SSNCQ(GlcN)PF] was isolated and purified. The purity of the glycopeptide was determined by area normalization method using ultra performance liquid chromatography-quadrupole exactive orbitrap mass spectrometry (UPLC-QE Orbitrap MS). The <sup>1</sup>H NMR and <sup>13</sup>C NMR of glycopeptides were determined by nuclear magnetic resonance (NMR) spectrometry and combined with secondary mass spectrometry for qualitative structural analysis. Finally, the ADH activation activities of maize heptapeptide and its glycopeptide were comparatively determined by microplate reader spectrometry (MRS) to verify the effect of glycosylation modification of maize heptapeptide on ADH activation activity. Results After separation, purification, and freeze-drying, the purity of corn peptide was determined to be 99.11%. Furthermore, it was confirmed that the glucosamine was connected to the amino group of the glutamine residue in the corn heptapeptide by the analysis of secondary mass spectrometry, <sup>1</sup>H NMR and <sup>13</sup>C NMR. At a molar concentration of 2.5 mmol/L, the ADH activation rate of glycopeptide was 9.89% higher than that of corn heptapeptide. Conclusion Compared with corn heptapeptide, the glycopeptide synthesized using TGase enzyme-mediated corn heptapeptide and glucosamine exhibits higher bioactivity in ADH activating ability, providing valuable insights for the potential application of glycosylated corn peptides in the food industry.

KEY WORDS: glycopeptide; enzymatic glycosylation; structural identification; alcohol dehydrogenase activation; corn

# 0 引 言

作为世界主要谷物食品之一,2022年中国玉米产量达 到 2.77 亿 t<sup>[1]</sup>。在我国,玉米不仅是主要食粮和"饲料之王", 还可以用来制作玉米淀粉、玉米油、酒精等<sup>[2-5]</sup>,玉米蛋白 粉是一种高产、高蛋白的玉米湿法加工淀粉的副产品,蛋白 质含量约占 60%<sup>[6]</sup>,但其溶解性差、疏水性强,在食品行业 中并不易得到有效利用。倘若能够对玉米蛋白进行改性,开 发具有生物活性的产品,将是优化玉米产业结构、延长产业 链、增加产品附加值的具体表现,对玉米蛋白的精深加工具 有重要意义,也是解决"三农"问题的一个重要措施。

人体肝脏中存在多种乙醇代谢途径,其中乙醇脱氢 酶(alcohol dehydrogenase, ADH)的催化是最为关键的途 径之一<sup>[7-9]</sup>。当 ADH 被激活并与烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (nicotinamide adenine dinucleotide, NAD<sup>+</sup>)反应时, ADH 和 乙醛脱氢酶(acetaldehyde dehydrogenase, ALDH)会将此途 径中约 90%的乙醇代谢成乙醛和乙酸,其中大部分的乙酸 会转移到血液和肝外组织中<sup>[10-13]</sup>。短期过量饮酒会降低肝 脏中 ADH 的活性,过量酒精的积累会引发酒精性自身免 疫性肝病(autoimmune liver disease, ALD)<sup>[14-16]</sup>,除了戒酒 和皮脂类固醇激素类药物为主要干预手段,目前还没有有 效的 ALD 治疗药物<sup>[17-18]</sup>。因此,寻找安全有效的天然成分, 开发具有促进酒精代谢,可以激活 ADH 活性的物质对预 防酒精性肝病意义重大。

转谷氨酰胺酶(transglutaminase, TGase)可以催化蛋白 质中谷氨酰胺残基的 y-羧酰胺基团(供体)和不同化合物的 ε-氨基(受体)之间异肽键的形成<sup>[19]</sup>。TGase 催化的蛋白质糖 基化反应可在不同程度上改善蛋白质/肽的功能特性,包括 热稳定性<sup>[20]</sup>、溶解性<sup>[21]</sup>和抗氧化<sup>[22]</sup>、促酒精代谢<sup>[23-24]</sup>、抗 菌<sup>[25]</sup>等生物活性。目前,TGase 介导的蛋白质酶法糖基化已 应用于豌豆蛋白<sup>[26]</sup>、大豆蛋白<sup>[27]</sup>、鱼胶原蛋白<sup>[28]</sup>、藜麦蛋 白<sup>[29]</sup>、米糠蛋白<sup>[30]</sup>等食物蛋白质改性中。WANG等<sup>[31]</sup>通过 TGase 介导的 *D*-氨基葡萄糖偶联制备玉米糖肽,与玉米肽相 比,玉米糖肽在体外和体内均表现出更强的促进酒精代谢的 能力。由于蛋白质酶解后的多肽混合物体系比较复杂,所以 无法明确体系内影响 ADH 激活活性的具体因素,因此,制备 出糖肽纯品进行验证 ADH 激活活性非常有必要。

本研究以前期从玉米蛋白水解物中经过凝胶色谱、 离子色谱和液相色谱分离后模拟胃肠道消化并经 Caco-2 单层膜吸收后鉴定的七肽(Ser-Ser-Asn-Cys-Gln-Pro-Phe, SSNCQPF)为研究对象,通过TGase介导其与D-氨基葡萄 糖的反应,采用半制备色谱分离纯化合成的糖肽并使用 波谱法鉴定其结构,最后对比验证玉米糖肽和玉米七肽 的 ADH 激活活性。本研究分离纯化得到的糖肽纯品,验 证 ADH 激活活性,为 TGase 介导的混合肽的糖基化活性 机制提供验证,为玉米糖蛋白/肽在食品工业的应用奠定 基础。

# 1 材料与方法

#### 1.1 材料与试剂

玉米七肽 SSNCQPF(纯度>99%, 上海强耀生物科技 有限公司); 微生物 TGase 酶(酶活力≥12 U/mg, 美国 Sigma 公司); D-氨基葡萄糖(纯度 95%, 阿拉丁生化科技有 限股份); ADH 检测试剂盒(南京建成生物工程研究所); 乙 腈(色谱纯, 美国赛默飞世尔科技公司); 氢氧化钠(分析纯, 天津市科密欧化学试剂有限公司)。

### 1.2 仪器与设备

PC/PLCLD-53 真空冷冻干燥机(美国 Millrock 公司); U3000 UPLC/Q-Exactive Orbitrap MS 液相色谱质谱联用 仪、Thermo Hypersil Gold 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 3 μm) (美国赛默飞世尔科技公司); Agilent 1290 infinity 液相色谱 仪(美国安捷伦公司); Bruker AVANCE-600 NMR 核磁共振 波谱仪(德国布鲁克公司); Milli-Q 去离子水发生器(美国密 理博公司); EnSpire 多功能酶标仪(美国珀金埃尔默公司); BSA124S 电子分析天平(精度 0.1 mg, 北京赛多利斯科学 仪器公司); SinoChrom ODS-AP (200 mm×10 mm, 5 μm)(大 连依利特分析仪器有限公司)。

#### 1.3 实验方法

## 1.3.1 TGase 介导的糖肽合成

配制玉米活性肽(SSNCQPF)浓度为 10 µmol/mL 的溶 液,为保证反应的快速进行以及避免副反应的产生,氨基 葡萄糖加入的量为 13 µmol/mL,反应体系为 20 mL 水溶液, 用 0.5 mol/L 的 NaOH 调节 pH 为 7.0,谷氨酰胺转氨酶加 酶量为 0.6 U/µmol 多肽,置于 37℃恒温水浴振荡器中反应 180 min。为了避免高温灭酶导致的其他副反应,反应结束 后使用 3 kDa 的超滤离心管除去 TGase 酶。滤液冷冻干燥 后得到目标糖肽混合物。

#### 1.3.2 糖肽的液相色谱质谱联用分析

使用超高效液相色谱-静电场轨道阱质谱仪(ultra performance liquid chromatography-quadrupole exactive orbitrap mass spectrometry, UPLC-QE Orbitrap MS)测定糖 肽的出峰保留时间并定性结构。将 1.3.1 步骤中冻干的糖 肽混合物配制 0.5 mg/mL 的水溶液后过 0.22  $\mu$ m 聚醚砜滤 膜。液相色谱-质谱联用仪测试条件为:色谱柱:Thermo Hypersil Gold 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 3  $\mu$ m);柱温为 30°C;流动相 A 为含 0.1%甲酸的水,流动相 B 乙腈;洗脱程序为 0~30 min B 相从 5%到 20%洗脱;流速为 0.3 mL/min;进样 量为 5  $\mu$ L;使用电喷雾离子源正离子模式进行质谱分析;扫描范围为 150~1200 *m/z*。

# 1.3.3 糖肽的分离纯化

使用半制备色谱对 1.3.1 步骤合成的糖肽混合物中的 糖肽进行纯化。色谱柱型号: SinoChrom ODS-AP (200 mm× 10 mm, 5 μm); 流动相: A 为含 0.1%甲酸的水,流动相 B 乙 腈; 梯度洗脱程序为: 0~2 min: 5% B; 2~30 min: 5%~25% B; 30~35 min: 25%~5% B 回到初始洗脱条件; 流速为 3 mL/min; 柱温为 30°C; 配制待分离样品浓度为 50 mg/mL, 进样量为 100 μL; 检测波长 214 nm。收集糖肽出峰时的流 分, 30℃旋转蒸发出大部分乙腈后, 冻干, 获得糖肽纯品。 1.3.4 糖肽产率计算

糖肽产率按照公式(1)计算:

糖肽转化率/%=
$$\frac{ x际糖肽产量}{理论糖肽产量} \times 100\%$$
 (1)

式中:实际糖肽产量是指实验中实际分离纯化后获得的产物质量;理论糖肽产量是指根据反应方程式计算得到的产物的质量,即原料全部转化成产物,同时在分离和纯化过程中没有损失的产物的质量。

1.3.5 糖肽的鉴定

糖肽纯度的鉴定:采用液相色谱-质谱联用仪面积归一 化法对玉米糖肽的纯度进行测定。配制 0.5 mg/mL 的糖肽水 溶液,色谱柱: Thermo Hypersil Gold 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 3 µm); 柱温为 30℃; 流动相 A 为含 0.1%甲酸的水,流动相 B 乙腈; 洗脱程序为 0~20 min B 相从 5%到 20%洗脱; 流速为 0.3 mL/min, 进样量为 5 µL; 电喷雾离子源(electron spray ionization, ESI)正离子模式; 扫描范围: 100~1500 m/z。

糖肽液相色谱-质谱联用仪定性鉴定:采用高分辨质 谱对纯化后的糖肽进行分析,正离子模式下测定一级和二 级质谱,对糖肽进行结构鉴定。

糖肽的核磁共振谱鉴定:取所得糖肽 10 mg 至核磁 管中,加入 0.6 mL 氘代二甲基亚砜,溶解后由 Bruker AVANCE-600 测定其<sup>1</sup>H-NMR 和<sup>13</sup>C-NMR 谱图,温度控制 在 25℃,以四甲基硅烷(tetramethylsilane, TMS)为内标。 1.3.6 体外促酒精代谢活性测定

将 50 µL 样品溶液与 150 µL 检测试剂(包含缓冲液、 NAD<sup>+</sup>和乙醇)混合,在 37°C 下平衡 5 min 后,添加 50 µL ADH (0.2 U/mL)引发反应。使用酶标仪在检测 340 nm 下测 定吸光度值,每 10 s 记录一次,持续 10 min。蒸馏水代替样 品作为阴性对照。拟合反应动力学曲线,求得曲线在 0 min 时的一阶导数,即为初始反应速率。样品的初始反应速率 记录为  $V_{\rm s}$ ,而阴性对照的记录为  $V_{0\circ}$ 根据公式(2)即可求得 样品的 ADH 激活率。

ADH 激活率/%=
$$\frac{V_{\rm s} - V_0}{V_0} \times 100\%$$
 (2)

#### 1.4 数据处理

实验进行 3 次重复,利用 Xcalibur 4.1 软件进行质谱 分析, MestReNova 11.0 进行核磁鉴定峰匹配, Origin 2022 软件进行作图。

## 2 结果与分析

#### 2.1 糖基化修饰产物的液相色谱-质谱联用分析

采用液相色谱-质谱联用仪对经 TGase 介导合成的糖 肽进行分析,质谱流图如图 1 显示。玉米七肽连接氨糖后 极性变大,在反相色谱中,产物糖肽会比原料多肽出峰时 间早,糖肽和多肽分别在 10.21 min 和 13.54 min 的保留时 间出峰, 未反应的氨基葡萄糖在 0.87 min 出峰。在总离子 流图上划取相应保留时间得到各自的质谱图(图 2)。由图 2a 所示, 162.0762、180.0868、202.0687 分别为未反应的氨 糖(C<sub>16</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>5</sub>)对应的[M-H<sub>2</sub>O+H]<sup>+</sup>、[M+H]<sup>+</sup>和[M+Na]<sup>+</sup>峰; 由图 2c 所示, 质荷比 *m/z*=782.8132 为未反应的玉米七肽 SSNCQPF 的[M+H]<sup>+</sup>离子信号; 图 2b 出现 *m/z*=944.3654







注: a、b、c 分别为图 1 中 0.87、10.21、13.54 min 处提取的质谱图。 图 2 糖肽合成产物的质谱图 Fig.2 Mass spectrum of glycopeptide synthesis products

和 463.6815 的峰为糖肽 SSNCQ(GlcN)PF 的[M+H]<sup>+</sup>和 [M-H<sub>2</sub>O+2H]<sup>2+</sup>离子信号,糖肽与多肽的[M+H]<sup>+</sup>离子信号 相差 162 Da,说明糖基化反应为氨基转移反应,而不是氨 糖与多肽的脱水反应(脱水反应离子信号相差 161 Da),说 明 D-氨基葡萄糖成功连接到玉米七肽的谷氨酰胺残基 y-酰胺基上。

## 2.2 糖肽产率计算

300 mg 玉米七肽(相对分子质量为 781.3065 g/mol, 3.84×10<sup>-4</sup> mol)经过分次合成、分离并收集合成后的糖肽(相 对分子质量为 943.3593 g/mol)组分冻干后得到 253 mg, 经 过计算, 糖肽的产率为 68.85%。实际糖肽产量比理论糖肽 产量少的原因可能为原料未全部转化成产物、分离和纯化 过程中有损失和样品转移或冻干样品时的后处理损失。

## 2.3 糖肽的纯度测定

采用液相色谱-质谱联用仪面积归一化法对玉米糖肽的纯度进行测定。由图 3 所示,糖肽出峰时间为 10.21 min,根据峰面积计算出玉米糖肽的纯度为 99.11%。该方法重复性较好,标准标准偏差较小,可以满足糖肽的色谱测量要求,糖肽的纯度也满足下一步研究需求。



图 3 糖肽的色谱图 Fig.3 Chromatogram of glycopeptide

### 2.4 糖基化产物的核磁分析

由于蛋白质或多肽中含有氨基、羟基等活泼氢,使用 核磁共振仪测定此类样品氢谱时,作为溶解样品的溶剂不 能使用重水,应该使用氘代二甲基亚砜(DMSO-d<sub>6</sub>),否则 这类样品中的活泼氢不会出峰。图 4 为 TGase 介导的多肽 与氨糖合成糖肽的示意图,反应物多肽中的谷氨酰胺(Q) 和天冬酰胺(N)残基中含有两个-C=O-NH<sub>2</sub> 相同基团,如图 5 多肽与糖肽的氢谱对比图所示,在低场 δ 6.80 ppm 和 δ 6.96 ppm 位移处应为两个不同-NH<sub>2</sub>上的氢信号峰。由于分 子中的电子云密度会影响氢原子周围的磁场,从而影响氨







图 5 多肽和糖肽的 <sup>1</sup>H NMR 谱对比图 Fig.5 Comparison of <sup>1</sup>H NMR spectra of peptide and glycopeptides

基在核磁氢谱的 H 信号化学位移的大小。连接-C=O-NH<sub>2</sub> 的 R 烷基是给电子基团,长链 R 烷基的电子云密度大,相 应的 H 原子信号在高场出现。多肽的谷氨酰胺残基中连接 -C=O-NH<sub>2</sub> 的 R 烷基链更长,即谷氨酰胺残基的-NH<sub>2</sub> 的信 号峰为相对在高场处的  $\delta$  6.80 ppm,而在产物的氢谱中  $\delta$ 6.80 ppm 信号消失,说明多肽中谷氨酰胺残基的-NH<sub>2</sub> 被取 代。图 6 中糖肽的 <sup>13</sup>C NMR 核磁谱图共 38 个 C 信号,与 多肽的碳谱比较,新增的碳谱位移信号  $\delta$  89.92 ppm、 $\delta$ 71.52 ppm、 $\delta$  70.48 ppm 及  $\delta$  69.93 ppm 为肽上连接氨糖中 与-OH 相连的 4 个叔碳信号,说明氨糖连接到了多肽上。





## 2.5 糖基化产物的质谱分析

采用高分辨质谱对纯化后的糖肽进行分析,正离 子模式下测定一级和二级质谱,对糖肽进行结构鉴 定。一级质谱出现的 m/z=944.3657 为 SSNCQ(GlcN)PF ( $C_{38}H_{57}N_9O_{17}S$ )的[M+H]<sup>+</sup>峰,选择 944.3657 作为母离子进 行高能碰撞解离(high energy collision dissociation, HCD)碎 裂,得到二级碎片,根据二级质谱离子信号归属相应的 b/y 离子,其中, $y_2$ 离子 263.1386 和 $y_3$ 离子 535.2356 相差 272 Da, b<sub>4</sub>离子 392.1221 和 b<sub>5</sub>离子 664.2244 同样相差 272 Da,恰好 为谷氨酰胺残基连接氨糖的单元分子量,说明氨糖的连接 位点为谷氨酰胺残基上(图 7)。



## 2.6 糖基化修饰对 ADH 激活活性的影响

将肽和糖肽分别配制浓度为 0.5、1.0、1.5、2.0、 2.5 mmol/L 的溶液, 测定体外的乙醇脱氢酶激活率, 结果 如图 8 所示。玉米肽和糖肽的 ADH 激活率随着摩尔浓度 的升高而逐渐增加, 在摩尔浓度为 2.5 mmol/L 时, 糖基化 修饰的玉米肽的 ADH 激活率达到 34.15%, 比相应浓度的 玉米七肽的 ADH 激活率(24.26%)高 9.89%, 说明经过糖基 化修饰的玉米七肽具有更好的体外促酒精代谢活性。 WANG 等<sup>[24,31]</sup>评估了玉米蛋白水解物及其糖肽混合物在 体外和体内促进酒精代谢的活性, 当糖肽混合物质量浓度 为 2.0 mg/mL 时, ADH 的激活率为 14.54%。与玉米肽相比, 糖肽中由 y-酰胺键连接的 D-氨基葡萄糖可以作为氢供体 破坏自由基链反应; 糖肽诱导的 ADH 结构的改变也可能 有利于其活性部位与乙醇的结合; 另一方面, 糖基化后的 玉米肽抗氧化活性显著提高, 可能对 ADH 的氧化失活起 到保护作用。





# 3 结 论

为了验证多肽酶法糖基化反应后 ADH 的激活活性,本 研究以微生物 TGase 作为催化剂, D-氨基葡萄糖为酰基受体, 通过糖基化反应修饰玉米七肽(Ser-Ser-Asn-Cys-Gln-Pro-Phe) 制备玉米糖肽,并且经过半制备液相系统制备出高纯度糖 肽,产率为 68.85%,纯度为 99.11%。质谱和核磁结果表明, 在 TGase 的催化下, D-氨基葡萄糖与玉米七肽发生共价连 接,酶法糖基化反应发生。与玉米七肽相比,玉米糖肽具 有更高的体外促酒精代谢生物活性。本研究经过半制备液 相纯化后的玉米七肽糖基化产物的 ADH 激活率达到 34.15%,能进一步说明经过糖基化修饰的玉米七肽具有更 好的体外促酒精代谢活性,这些实验结果为糖基化玉米肽 在食品工业的应用提供参考。

#### 参考文献

[1] 国家统计局. 国家统计局关于 2022 年粮食产量数据的公告[EB/OL].
[2022-12-12]. http://www.stats.gov.cn/sj/zxfb/202302/20230203\_1901673.html
[2023-10-25].

National Bureau of Statistics of China. Announcement of the National Bureau of Statistics on grain production data for 2022 [EB/OL]. [2022-12-12]. http://www.stats.gov.cn/sj/zxfb/202302/t20230203\_1901673. html [2023-10-25].

- [2] RANUM P, PENA-ROSAS JP, GARCIA-CASAL MN. Global maize production, utilization, and consumption [J]. Ann NY Acad Sci, 2014, 1312: 105–112.
- [3] LI XL, WU KN, HAO SH, et al. Mapping cropland suitability in China using optimized MaxEnt model [J]. Field Crop Res, 2023, 302: 109064.
- [4] SILVA WR, CARVALHO FR, SILVA RB, et al. Fibrous coproducts of corn and citrus as forage and concentrate sources for dairy cows [J]. J Dairy Sci, 2022, 105(10): 8099–8114.
- [5] LOBOS NE, WATTIAUX MA, BRODERICK GA. Effect of rumenprotected lysine supplementation of diets based on corn protein fed to lactating dairy cows [J]. J Dairy Sci, 2021, 104(6): 6620–6632.
- [6] LANDRY J, DELHAYE S, DI GIOIA L. Protein distribution in gluten products isolated during and after wet-milling of maize grains [J]. Cereal Chem, 1999, 76(4): 503–505.
- [7] PLAPP BV, LEIDAL KG, MURCH BP, et al. Contribution of liver alcohol dehydrogenase to metabolism of alcohols in rats [J]. Chem-Biol Interact, 2015, 234: 85–95.
- [8] HYUN J, HAN J, LEE C, et al. Pathophysiological aspects of alcohol metabolism in the liver [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22: 5717.
- [9] EDENBERG HJ, MCCLINTICK JN. Alcohol dehydrogenases, aldehyde dehydrogenases, and alcohol use disorders: A critical review [J]. Alcohol Clin Exp Res, 2018, 42(12): 2281–2297.
- [10] CEDERBAUM AI. Alcohol metabolism [J]. Clin Liver Dis, 2012, 16(4): 667–685.
- [11] JELSKI W, SZMITKOWSKI M. Alcohol dehydrogenase (ADH) and aldehyde dehydrogenase (ALDH) in the cancer diseases [J]. Clin Chim Acta, 2008, 395: 1–5.
- [12] LEAL JFM, BARBANCHO M. Acetaldehyde detoxification mechanisms in drosophila-melanogaster adults involving aldehyde dehydrogenase (ALDH) and alcohol dehydrogenase (ADH) enzymes [J]. Insect Biochem Mol, 1992, 22(8): 885–892.
- [13] ORYWAL K, SZMITKOWSKI M. Alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase in malignant neoplasms [J]. Clin Exp Med, 2017, 17(2): 131–139.
- [14] AGHARA H, CHADHA P, ZALA D, et al. Stress mechanism involved in the progression of alcoholic liver disease and the therapeutic efficacy of nanoparticles [J]. Front Immunol, 2023, 14: 1205821.
- [15] DAI WB, CHEN C, FENG HT, et al. Protection of Ficus pandurata Hance

against acute alcohol-induced liver damage in mice via suppressing oxidative stress, inflammation, and apoptosis [J]. J Ethnopharmacol, 2021, 275: 114140.

- [16] FU YC, ZENG ZY, FENG SW, et al. JBB attenuates acute and chronic alcoholic liver injury by regulating the NFκB, KEAP1, and HIF1 pathways [J]. J Funct Foods, 2023, 109: 105782.
- [17] LOUVET A, THURSZ MR, KIM DJ, et al. Corticosteroids reduce risk of death within 28 days for patients with severe alcoholic hepatitis, compared with pentoxifylline or placebo-a meta-analysis of individual data from controlled trials [J]. Gastroenterology, 2018, 155(2): 458.
- [18] JUNG SH, LEE YH, LEE EK, et al. Effects of plant-based extract mixture on alcohol metabolism and hangover improvement in humans: A randomized, double-blind, paralleled, placebo-controlled clinical trial [J]. J Clin Med, 2023, 12: 5244.
- [19] DEWEID L, AVRUTINA O, KOLMAR H. Microbial transglutaminase for biotechnological and biomedical engineering [J]. Biol Chem, 2019, 400(3): 257–274.
- [20] LIU J, XIE HP, GAO Y, et al. Soybean protein isolate treated with transglutaminase (TGase) enhances the heat tolerance of selected lactic acid bacteria strains to spray drying [J]. Food Chem, 2023, 404: 134676.
- [21] SUN P, ZHANG Q, ZHAO Y, et al. Improving gel properties of soy protein isolate through alkaline pH-shifting, mild heat treatment, and TGase cross-linking [J]. Food Hydrocolloid, 2023, 144: 108924.
- [22] GU MY, CUI YF, MUHAMMAD AU, et al. Dynamic microfluidicassisted transglutaminase modification of soy protein isolate-chitosan: Effects on structural and functional properties of the adduct and its antioxidant activity after *in vitro* digestion [J]. Food Res Int, 2023, 172: 113219.
- [23] LIU XL, SONG CL, CHEN JP, et al. Preparation and evaluation of new glycopeptides obtained by proteolysis from corn gluten meal followed by transglutaminase-induced glycosylation with glucosamine [J]. Foods, 2020, 9: 555.
- [24] WANG XJ, LIU XL, ZHENG XQ, et al. Preparation of corn glycopeptides and evaluation of their antagonistic effects on alcohol-induced liver injury in rats [J]. J Funct Foods, 2020, 66: 103776.
- [25] ZHANG XX, YANG CK, GUO X, et al. An antibacterial and healing-promoting collagen fibril constructed by the simultaneous strategy

of fibril reconstitution and *e*-polylysine anchoring for infected wound repair [J]. Biomater Sci, 2023, 11: 7408–7422.

- [26] ZHAO YL, HAN XX, HU NN, et al. Study on properties of TGase-induced pea protein-zein complex gels [J]. J Food Eng, 2023, 354: 111578.
- [27] HUANG ZR, SUN J, ZHAO LZ, et al. Analysis of the gel properties, microstructural characteristics, and intermolecular forces of soybean protein isolate gel induced by transglutaminase [J]. Food Sci Nutr, 2022, 10(3): 772–783.
- [28] HUANG PH, CHENG YT, CHAN YJ, et al. Minimal addition of transglutaminase on the preparation and characteristics of tilapia (*Oreochromis mossambicus*) surimi [J]. Fisher Sci, 2023, 89: 699–708.
- [29] CAO HW, WANG XX, WANG C, et al. Synergistic improvement of quinoa protein heat-induced gel properties treated by high-intensity ultrasound combined with transglutaminase [J]. J Sci Food Agric, 2023, 103(14): 7021–7029.
- [30] WU C, ZHANG YP, WANG JH, et al. Continuous enzyme crosslinking modifying colloidal particle characteristics and interface properties of rice bran protein to improve the foaming properties [J]. LWT-Food Sci Technol, 2023, 184: 114997.
- [31] WANG XJ, LIU XL, ZHENG XQ, et al. Antagonistic effect of the glycopeptide from zein on acute alcohol-induced liver injury in mice [J]. J Funct Foods, 2022, 92: 105062.

(责任编辑: 韩晓红 于梦娇)

# 作者简介

王 哲,博士,主要研究方向为蛋白 的酶法改性。 E-mail: zhew0316@163.com

刘晓兰,教授,主要研究方向为蛋白 的酶法改性。 E-mail: 01275@qqhru.edu.cn