



纵伟,高文雨,李顺峰,等. $\gamma$ -谷氨酰转肽酶的催化调控及其在食品加工中的应用研究进展[J].轻工学报,2025,40(6):1-12.

ZONG W, GAO W Y, LI S F, et al. Research progress on catalytic regulation of  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase and its application in food processing[J]. Journal of Light Industry, 2025, 40(6): 1-12.

DOI:10.12187/2025.06.001

# $\gamma$ -谷氨酰转肽酶的催化调控及其在食品加工中的应用研究进展

纵伟<sup>1</sup>,高文雨<sup>1</sup>,李顺峰<sup>2</sup>,杜欣欣<sup>1</sup>,张丽华<sup>1</sup>

1. 郑州轻工业大学 食品与生物工程学院,河南 郑州 450001;

2. 河南省农业科学院 农产品加工研究中心,河南 郑州 450002

**摘要:**  $\gamma$ -谷氨酰转肽酶( $\gamma$ -Glutamyl Transpeptidase, GGT, EC 2.3.2.2)是催化 $\gamma$ -谷氨酰基转移与水解反应的关键酶,在生物活性物质合成和食品风味调控中具有重要作用。在国家减盐政策背景下,GGT通过提高天然鲜味物质的生物利用度,为食品工业“减盐不减鲜”提供了新思路。综述了GGT的来源、催化机制、制备方法、酶学性质、分子改造及固定化技术,以及其在食品加工中的应用现状。GGT广泛分布于动物、植物和微生物中,其催化遵循“乒乓机制”,通过酰化-去酰化反应生成 $\gamma$ -谷氨酰肽,可协同增强咸味感知并提升鲜味强度;通过分子改造和固定化技术,能有效提高GGT的催化效率、稳定性及重复使用性。在食品加工中,GGT已成功应用于酱油增鲜、风味物质合成等方面,但其规模化应用仍面临微生物发酵产酶效率低、固定化载体成本高等挑战。未来研究应进一步探索GGT的应用潜力,构建高产工程菌株,开发高效固定化催化剂,并建立基于代谢组学的风味调控模型,以充分发挥GGT在绿色食品加工与品质提升中的潜力。

**关键词:**  $\gamma$ -谷氨酰转肽酶;催化机制;分子改造;固定化技术;风味

**中图分类号:** TS201.3; Q814.9    **文献标识码:** A    **文章编号:** 2096-1553(2025)06-0001-12

## 0 引言

在食品酶制剂市场需求增长和健康理念提升的背景下, $\gamma$ -谷氨酰转肽酶( $\gamma$ -Glutamyl Transpeptidase, GGT, EC 2.3.2.2)因其独特的催化机制及在食品加工中的多样化应用,不仅在生物绿色制造领域发挥着重要作用,更在健康减盐方面展现出巨大潜力。GGT属于N端亲核水解酶家族,其

催化机制是通过特异性催化谷胱甘肽等 $\gamma$ -谷氨酰化合物中 $\gamma$ -谷氨酰键的断裂,将该基团转移至水分子(水解反应)、游离氨基酸或肽类受体(转肽反应)<sup>[1]</sup>。GGT催化生成的 $\gamma$ -谷氨酰肽(厚味肽)不仅能增强食品的鲜味、浓厚感和风味协调性,还可显著改善化合物的水溶性与稳定性。例如,苯丙氨酸(L-Phe)经 $\gamma$ -谷氨酰化后生成 $\gamma$ -谷氨酰苯丙氨酸( $\gamma$ -Glu-Phe),能显著降低原氨基酸的苦味,并提

收稿日期:2025-01-08;修回日期:2025-04-09;出版日期:2025-12-15

基金项目:河南省重大科技专项项目(231100110400)

作者简介:纵伟(1965—),男,安徽省萧县人,郑州轻工业大学教授,博士,主要研究方向为农产品加工与技术。E-mail: zongwei1965515@163.com

通信作者:张丽华(1982—),女,河南省博爱县人,郑州轻工业大学教授,博士,主要研究方向为果蔬加工与安全控制技术。E-mail: zhanglihua82828@163.com

高水溶性和稳定性<sup>[2]</sup>。与传统盐味增强剂或人工鲜味剂相比,GGT的独特优势在于其酶促反应可高效转化食物基质中的谷氨酰胺等前体物质,提升鲜味肽的生物利用度<sup>[3]</sup>。更重要的是,其催化产物γ-谷氨酰肽可协同增强咸味感知,为食品工业实现“减盐不减味”提供了创新解决方案<sup>[4]</sup>。这一特性与《“健康中国2030”规划纲要》提出的减盐目标,即2030年人均食盐摄入量降低20%高度契合,也为响应《中国食品工业减盐指南》中“通过配方优化开发低盐产品”的要求提供了技术支撑<sup>[5]</sup>。

近年来,生物技术的发展推动了GGT的制备和改性研究。目前,GGT的制备方法主要包括微生物发酵法、动植物组织提取法等<sup>[6-7]</sup>。然而,由于酶的来源不同及制备条件的差异,不同方法所制备的GGT在酶学性质上存在明显区别。为优化GGT性能并提升其工业适用性,针对GGT的分子改造和固定化技术应运而生。这些技术不仅有效提高了GGT的催化效率和稳定性,还显著拓宽了其应用范围<sup>[8-9]</sup>。本文拟对GGT的来源、催化机制、制备方法、酶学性质、分子改造和固定化技术及其在食品加工中的应用进行综述,并对其未来研究和应用前景进行展望,以期推动GGT在食品行业中的广泛

应用,助力低盐食品的开发,为提高食品风味和品质提供绿色、天然的解决方案。

## 1 GGT的来源与分布

GGT是一种广泛存在于生物体中的酶,其来源和分布在不同生物体中表现出明显的多样性(见表1)。马、牛、羊等<sup>[10-12]</sup>是能够产生GGT的哺乳动物类代表,GGT主要分布在肾脏、肝脏、胰腺等<sup>[13-15]</sup>器官中,且血清中的GGT主要来源于肝胆系统。GGT在哺乳动物体内通常以膜结合型糖蛋白的形式绑定在血浆膜的外表面,参与谷胱甘肽代谢及γ-谷氨酰基循环,且被视为诊断胆道闭锁、慢性阻塞性肺、冠状动脉病等<sup>[16-18]</sup>多种生理疾病的重要标志物。GGT在微生物,尤其是细菌中的研究较为广泛。例如,在大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、地衣芽孢杆菌等细菌<sup>[6,19-20]</sup>中都存在GGT,而原核生物中的GGT一般位于周质空间或分泌到胞外环境中,主要以游离状态存在<sup>[21]</sup>。这些微生物来源的GGT在生物技术领域具有重要应用,尤其在食品工业和制药行业中被广泛用于合成γ-谷氨酰化合物。GGT在植物含硫化合物前体的形成中发挥关键作用。例如,在大蒜、韭菜、拟南芥、香菇、洋葱等<sup>[22-26]</sup>中,GGT参与

表1 不同来源GGT的相对分子质量及酶活性关键位点

Table 1 Molecular weight and key active sites of GGT from various sources

来源	类型	相对分子质量/kDa	亚基组成/kDa	自催化切割位点	活性中心关键残基	参考文献
牛乳	膜结合型	80.25	54.99+25.26	/	/	[11]
青鳉鱼	膜结合型	58~73	/	/	/	[30]
香椿	/	85	50+35	/	/	[7]
大蒜	/	53	/	/	/	[31]
洋葱	/	77	55+22	/	/	[31]
大蒜	/	90	64+26	/	/	[32]
香菇	/	88	60+28	/	/	[33]
地衣芽孢杆菌	非膜结合型	63	41+22	/	Thr391	[20]
枯草芽孢杆菌	非膜结合型	63	43+20	Glu398-Thr399	/	[34]
解淀粉芽孢杆菌	非膜结合型	63	43+20	Gln402-Thr403	/	[34]
地衣芽孢杆菌	非膜结合型	63	43+20	Gln404-Thr405	/	[34]
枯草芽孢杆菌	非膜结合型	60	40+20	/	Thr403	[35]
高地芽孢杆菌 IHB B1644	非膜结合型	62	40+22	/	Thr	[36]
解淀粉芽孢杆菌 SK11.001	非膜结合型	62	41+21	Thr405	Thr	[37]
铜绿假单胞菌 PAO1	非膜结合型	61(PaGGTⅢ) 68(PaGGTⅡ25aa)	37+24 40+28	/	Thr	[38]
聚多曲霉	非膜结合型	89.4	56.4+33.0	Asn450	Thr403	[39]

注:/表示文献中未介绍,下同。

S-烷基-L-半胱氨酸硫氧化物的合成、 $\gamma$ -谷氨酰半胱氨酸向蒜氨酸的转化、水溶性含硫化合物(如S-烯丙基巯基半胱氨酸)的生成等多种代谢过程<sup>[27-29]</sup>。此外,GGT对谷胱甘肽的生物合成和降解过程至关重要,不仅能调控植物的抗氧化能力,还能通过影响硫代谢中间产物的动态平衡,间接调节大蒜素、硫化氢等特定有机硫化物的累积。

哺乳动物 GGT 主要为膜结合型糖蛋白,通过信号肽锚定于肝细胞、肾细胞等细胞膜。在病理状态(如肝癌)下,可溶型 GGT 比例显著增加<sup>[30]</sup>。植物 GGT 多数为非膜结合型可溶性酶,相对分子质量和亚基组成因物种而异,其保守的催化机制依赖 N 端苏氨酸(Thr)残基。相较于哺乳动物 GGT,植物 GGT 的糖基化程度较低,主要参与谷胱甘肽代谢、抗氧化防御及茶氨酸等特殊代谢物合成,功能更侧重于基础代谢而非病理过程。尽管结构同源,但植物 GGT 在亚细胞定位(细胞质/液泡)和生理功能上展现出独特的适应性,凸显其在植物代谢中的多样性作用。细菌 GGT 通常为可溶性非糖基化酶,定位于周质空间或细胞外,其相对分子质量与亚基大小因菌种不同会有所差异,小亚基 N 端 Thr 残基是催化关键位点,体现其进化的保守性。总的来说,GGT 是一种异二聚体酶,由大小不同的两个亚基组成,这种结构在不同生物体来源的 GGT 中是不对称的<sup>[31]</sup>。GGT 作为一种酰胺键水解酶,其小亚基一侧被大亚基环绕,这种空间折叠结构是 GGT 发挥活性的关键因素。在酶成熟过程中,大小亚基是自催化裂解的正常产物。此外,糖基化修饰、物种差异或实验条件的变化都可能导致 GGT 表观分子质量的波动。GGT 在不同生物体中的分布和功能显示出其在生物化学和分子生物学中的重要性,它不仅作为重要的代谢酶存在于哺乳动物中,还在植物和微生物中发挥着多样化的生物学功能,这使其成为研究生物代谢机制和开发新型生物催化剂的重要对象。

## 2 GGT 的催化机制

GGT 的催化机制遵循一种被称为“乒乓机制”的独特路径,该过程分为酰化反应、去酰化反应两个核心步骤<sup>[32]</sup>。酰化反应是“乒乓机制”的开端,

也是 GGT 催化循环的第一步,谷氨酰胺等  $\gamma$ -谷氨酰基底物进入 GGT 的活性中心,酶分子上的小亚基 N 端 Thr 羟基的氧原子作为亲核试剂,对  $\gamma$ -谷氨酰化合物的羰基发起攻击,生成  $\gamma$ -谷氨酰胺-GGT 中间体。该中间体的生成标志着酰化反应的完成,也预示着去酰化反应阶段的开始。在去酰化反应中, $\gamma$ -谷氨酰胺-GGT 中间体可能会发生水解反应或转肽化反应。水解反应中, $\gamma$ -谷氨酰胺-GGT 中间体与水分子作用,导致  $\gamma$ -谷氨酰胺键断裂,释放谷氨酸;转肽化反应中, $\gamma$ -谷氨酰胺-GGT 中间体可与另一个氨基酸或肽发生反应,生成新的  $\gamma$ -谷氨酰肽。另外,当供体底物浓度较高或受体底物不存在时,还可发生自转肽反应。GGT 的反应类型与其所处环境的 pH 值紧密相关,其在酸性或中性条件下主要发生水解反应,而在碱性环境中则倾向于转肽反应<sup>[33]</sup>。

## 3 GGT 的制备方法

酶的制备方法主要包括微生物发酵法、动植物组织提取法等<sup>[26,34]</sup>,不同方法制备的 GGT 酶学性质存在差异。

微生物发酵法需选择合适的菌种,包括枯草芽孢杆菌、地衣芽孢杆菌、大肠杆菌、解淀粉芽孢杆菌等<sup>[6,20,35-36]</sup>,这些菌种在适宜条件下能够高效表达 GGT。H. B. Cho 等<sup>[37]</sup>通过疏水作用层析、阴离子交换层析和凝胶渗透层析,从培养 24 h 后的 2 L 解淀粉芽孢杆菌 S0904 培养基中纯化获得 0.44 mg 野生型 GGT,收率为 4.9%,纯化倍数为 15.0。E. Sharma 等<sup>[38]</sup>通过硫酸铵沉淀和阴离子交换层析,从培养 48 h 后的高地芽孢杆菌 IHB B1644 中纯化 GGT,最终纯化倍数为 8.8,收率为 0.38%。Y. Nonomura 等<sup>[39]</sup>将铜绿假单胞菌 PAO1 的 GGT 基因导入大肠杆菌中并进行纯化表征,经二乙氨基乙基纤维素色谱及羧甲基琼脂糖凝胶柱,重组 GGT II 25aa 被纯化了 96.9 倍,收率为 41.8%;经二乙氨基乙基纤维素色谱、Q-琼脂糖凝胶柱、CM-琼脂糖凝胶柱和凝胶过滤色谱,重组 GGT III 被纯化了 44.80 倍,收率为 3.86%。因此,微生物发酵法在 GGT 生产中展现出巨大潜力,不同菌种在适宜条件下能有效表达 GGT,再结合多种层析技术可实现 GGT 的高效纯化。

动植物组织提取法需选择肝脏、肾脏等富含 GGT 的动植物组织作为原料。F. Farhat 等<sup>[40]</sup>采用膜溶解法分离扩展巨盘吸虫中的 GGT，并通过亲和柱层析，最终纯化倍数为 189.3 倍，收率为 72.4%。G. Y. Shi 等<sup>[7]</sup>采用盐析、离子交换柱、凝胶过滤层析等方法提取纯化香椿芽中的 GGT，纯化后 GGT 的活性为 1.51 U/mg。Y. E. Sun 等<sup>[41]</sup>从休眠大蒜和洋葱鳞茎中分离 GGT，并通过硫酸铵沉淀和疏水相互作用色谱进行纯化，发现大蒜 GGT 的相对分子质量在 53 kDa 处，而洋葱 GGT 的相对分子质量在 55 kDa 和 22 kDa 处。虽然动植物组织提取法能够提取高活性的 GGT，但其提取和纯化过程的复杂性、高成本、不可持续性等限制了其广泛应用。未来可进一步优化该方法，在提高 GGT 收率和纯度的同时降低成本，以推动 GGT 在医药、食品等领域的应用。表 2 呈现了不同来源 GGT 的产量、比活力、收率、纯化倍数等对比信息。

## 4 GGT 的酶学性质

### 4.1 底物特异性

GGT 作为一种多功能酶类，具备催化多种含有  $\gamma$ -谷氨酰基的化合物进行复杂水解及转移反应

的能力，其底物特异性因来源及制备条件的不同而有所差异。L. C. Cao 等<sup>[53]</sup>研究发现，与牛乳 GGT 相比，解淀粉芽孢杆菌 GGT 表现出更高的转肽酶活性，尤其是在以  $\gamma$ -谷氨酰对硝基苯胺、谷氨酰胺等为供体时表现突出，这可能与底物的亲和力及 GGT 独特的结构特性（如膜结合与非膜结合特性）有关，而牛乳 GGT 对缬氨酸-甘氨酸的亲和力则更优异。A. Nishikawa 等<sup>[49]</sup>研究发现，嗜旱菌聚多曲霉菌中的 GGT 具有广泛的底物特异性，对木鱼鱼片中肌肽、鹅丝氨酸等肽/胺类化合物表现出显著的催化活力。此外，高地芽孢杆菌 IHB B1644 所产 GGT 也显示出广泛的底物特异性<sup>[38]</sup>，其对 L-色氨酸、L-苯丙氨酸等芳香族氨基酸及 L-缬氨酸、L-蛋氨酸等脂肪族氨基酸的转移酶活性均达 50%，其中 L-丝氨酸和 L-脯氨酸的转移酶活性较弱，其他氨基酸的转移酶活性呈中等，这表明氨基酸的酸碱度、位阻等因素可能是导致 GGT 活性降低的原因之一。此外， $\gamma$ -谷氨酰基受体的立体化学性质也会影响 GGT 对氨基酸及其外消旋形式的催化活性差异。综上，GGT 的底物特异性不仅受酶自身结构特性的影响，还与底物的亲和力、受体的电荷性质与立体化学性质、酶的制备条件等因素密切相关。

表 2 不同来源 GGT 的对比  
Table 2 Comparative analysis of GGT from different origins

来源	来源系统	产量	比活力	收率/%	纯化倍数	参考文献
枯草芽孢杆菌	大肠杆菌 GGT 基因	5.62 U/mL	/	/	12	[6]
	分子改造	60.25 U/mL	29.66 U/mg	/	2.02	[8]
	地衣芽孢杆菌 GGT 固定化	/	3.15 U/g	/	2.62	[42]
	空腔拓扑工程	/	42.8 U/mg	/	4.8	[43]
高地芽孢杆菌 IHB B1644	培养基	/	28 848 U/mg	0.38	8.8	[38]
	克隆重组	/	497.4 U/mg	44	5.04	[44]
	大肠杆菌表达	449 U/mL	/	/	2.6	[45]
地衣芽孢杆菌	培养基	918 U/L	/	/	19	[46]
香椿	植物组织	/	1.51 U/mg	2.16	15.1	[47]
米曲霉	米曲霉嵌合体异源表达	水解 110 mU/mL 转肽 176 mU/mL	/	/	水解 17 转肽 5	[48]
聚多曲霉菌	固体发酵(低水分活度, 0.85)	61.7 mU/mL	水解 500 mU/mg 转肽 2 400 mU/mg	/	/	[49]
萎缩芽孢杆菌	固定化	/	3.01 U/mg	/	/	[50]
硝基还原假单胞菌	定点突变	/	水解 35.7 U/mg 转肽 7.9 U/mg	5.9	2.35	[51]
解淀粉芽孢杆菌 (野生型 BaGT)	大肠杆菌表达	/	水解 38.96 U/mg 转肽 62.81 U/mg	/	/	[52]
解淀粉芽孢杆菌 (突变体 V319A/S437G)	大肠杆菌表达	/	水解 72.76 U/mg 转肽 2 586.83 U/mg	/	/	[52]

## 4.2 pH 值和热稳定性

酶的活性受 pH 值和温度的影响<sup>[54]</sup>。一般来说,GGT 在 pH 值为 7.5~9.0 的碱性条件下具有较高的活性,而在酸性条件下则活性较低。GGT 的热稳定性因其来源和制备条件而异,通常在 40~60 ℃ 范围内具有较高的活性。A. Nishikawa 等<sup>[49]</sup>研究发现,构巢曲霉 GGT 的最适温度为 45 ℃,低于 45 ℃ 条件下较稳定(活性>80%),55 ℃时基本失去活性;在 5.0~9.5 的 pH 值范围内较稳定,当 pH 值为 8.5 时活性达到最大值。E. Sharma 等<sup>[38]</sup>研究发现,在 pH 值为 5~10 和<50 ℃ 的温度范围内,高地芽孢杆菌 IHB B1644 发酵所产 GGT 较稳定,而在 pH 值为 9 和温度为 37 ℃ 时,该 GGT 的活性最佳。H. B. Cho 等<sup>[37]</sup>研究发现,解淀粉芽孢杆菌 S0904 野生型 GGT 和重组 GGT 的最佳 pH 值分别为 6.0 和 7.0,这两种酶在 6.0~8.0 的 pH 值范围内仍能保持一定的水解活性,约为其最佳 pH 值时活性的 80%,且均在 55 ℃ 时具有最大水解活性。不同来源 GGT 的最适 pH 值和热稳定性存在差异,这可能与其结构特性、催化机制及自然生存环境中的生理需求相关,可根据特定来源和用途精确调控反应条件,以最大化其催化效率。

## 4.3 金属离子稳定性

金属离子可通过直接催化酶或改变酶的空间构象与稳定性间接调控酶的活性<sup>[55]</sup>。L. L. Lin 等<sup>[56]</sup>研究发现,Cs<sup>+</sup> 和 Na<sup>+</sup> 在较宽的浓度范围内能增强 GGT 的活性,但 K<sup>+</sup> 的贡献较小。G. Y. Shi 等<sup>[7]</sup>研究发现,Ca<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、K<sup>+</sup>、Na<sup>+</sup> 和 Ba<sup>2+</sup> 能增强香椿 GGT 的活性,而 Cu<sup>2+</sup>、Fe<sup>3+</sup>、Mn<sup>2+</sup> 和 Zn<sup>2+</sup> 能降低香椿 GGT 的活性。X. J. Wang 等<sup>[57]</sup>研究发现,Mg<sup>2+</sup>、Ca<sup>2+</sup> 和 Mn<sup>2+</sup> 对铜绿假单胞菌 PAO1 的 GGT 突变体的催化活性表现出积极的影响。金属离子对 GGT 活性的影响既包括激活作用,也包括抑制作用,且

受到多种因素的共同作用<sup>[58]</sup>。因此,在研究和应用时需综合考虑金属离子的影响,以优化 GGT 的性能和应用效果。

## 5 GGT 的分子改造和固定化技术

### 5.1 GGT 的分子改造

在生物技术领域,GGT 的分子改造主要通过对基因及表达产物进行精细调控,以增强其催化效率和稳定性。通过对 GGT 关键氨基酸残基的定点突变、引入分子伴侣及优化基因表达的调控元件,不仅可提高 GGT 的活性和产量,还可拓展其在生物合成和工业应用中的潜力。T. W. Yang 等<sup>[59]</sup>在枯草芽孢杆菌宿主中引入分子伴侣脂蛋白 PrsA,并对 GGT 基因的 Poly(A/T) 尾巴进行优化,使得 GGT 的活力显著增强,达到 30.4 U/mL,较原始菌株提高了 60%。M. C. Chi 等<sup>[60]</sup>通过一系列缺失突变和丙氨酸扫描突变,构建了地衣芽孢杆菌的 10 个 GGT 突变酶,其中丙氨酸替代突变体的比活力与野生型 GGT 相当或更高;所有缺失突变体完全丧失了活性;突变体 S460A 的催化效率比野生型 GGT 提高了约 3.73 倍。刘栓英<sup>[8]</sup>通过易错 PCR 对枯草芽孢杆菌 GGT 基因进行非理性改造,筛选获得活性显著提高的突变体 T463S(苏氨酸 463→丝氨酸),表达量达 60.25 U/mL。综上,通过多种分子改造策略,研究者显著提升了 GGT 的催化效率和稳定性。

### 5.2 GGT 的固定化技术

固定化技术可提高酶的稳定性、活性和可重复使用性<sup>[61]</sup>。通过将酶固定在磁性纳米颗粒、硅烷化的介孔 TiO<sub>2</sub> 晶体、海藻酸盐等不同载体上,可增强酶在极端 pH 值和温度条件下的耐受性,从而提高其在工业应用中的潜力。表 3 展示了不同类型载体的优势、局限性及适用场景。

表 3 不同类型载体的优势、局限性及适用场景

Table 3 Advantages, limitations, and applicable scenarios of different immobilization carriers

载体类型	优势	局限性	适用场景	参考文献
磁性纳米颗粒	易回收、高稳定性	成本高、传质受限	连续化生产、高值产物合成	[62]
海藻酸盐	低成本、生物相容性	机械强度差	全细胞固定化、短期反应	[63]
环氧树脂	工业成熟、化学稳定	活化复杂、酶活损失	大规模固定化、苛刻条件	[64]
琼脂糖	亲水性强、定向固定	价格昂贵	实验室研究、高纯度酶固定	[65]
介孔材料	孔径可调、热稳定	合成难度大	高温/有机相反应	[61]

在 GGT 的应用领域,固定化技术已取得了显著进展。例如,M. Saini 等<sup>[50]</sup>将萎缩芽孢杆菌 GGT 通过戊二醛交联共价固定在壳聚糖包被的磁铁矿纳米颗粒上,其最适 pH 值和稳定性类似于游离酶,且比游离酶的米氏常数及在 4 ℃ 条件下的储存稳定性更高,60 d 后仍保持 95% 的残留活性。T. G. Ma 等<sup>[66]</sup>通过共价结合将重组后的解淀粉芽孢杆菌 GGT 固定在磁性介孔纳米粒子上,这在较大程度上保留了其活性,且可回收和再利用。P. Phumsombat 等<sup>[67]</sup>将表达突变体 W525D 的大肠杆菌细胞固定在海藻酸上,在最佳反应条件下,生产茶氨酸的转化率可达 90%;固定化细胞在 4 ℃ 和室温下分别储存 1 个月后,相对活性分别为 85% 和 78%。S. Arai 等<sup>[35]</sup>用海藻酸盐将大肠杆菌 GGT 固定化后,其水解活性提高,转肽活性降低,但重复使用 10 d 后活性无衰减。这表明固定化技术有效提升了酶的稳定性和适应性。

此外,将来源于马肾的 GGT 在异功能型辛基乙醛-琼脂糖载体上固定化后,6 d 内仍能保留 95% 以上的活性,且在 6 个反应循环后的剩余活性为 85%<sup>[68]</sup>。通过环氧树脂固定化后的地衣芽孢杆菌 GGT,在重复使用 10 次后仍保持 82.8% 的活性,且在 4 ℃ 条件下储存两个月后仍保持 87.36% 的活性。将固定化的地衣芽孢杆菌 GGT 用于连续合成茶氨酸,其转化率为 65.38%<sup>[42]</sup>。陈倩琳<sup>[9]</sup>采用环氧树脂载体固定化技术制备了 GGT,并将其应用于茶氨酸的高效合成,固定化效率提高了 2.05 倍,达 68.85%,单位酶活性提升了 2.62 倍,为 3.15 U/g。综上,固定化技术能够提高 GGT 的耐受性和重复使用性,这为其在工业领域的应用带来了新机遇。然而,载体合成成本高、固定化效率低及固定化酶作用机理尚不明确等问题仍需进一步研究。

## 6 GGT 在食品加工中的应用

### 6.1 GGT 在 $\gamma$ -谷氨酰化合物合成中的应用

GGT 作为一种关键的生物催化剂,在合成具有生物活性的  $\gamma$ -谷氨酰化合物中发挥着重要作用。李依韦等<sup>[69]</sup>利用地衣芽孢杆菌发酵生产的 GGT,在 pH 值 9.0、谷氨酰胺浓度 0.45 mol/L、乙胺盐酸盐

浓度 2.0 mol/L、发酵液量 10 mL 条件下生产茶氨酸,其产量可达 0.82 g/L。M. C. Chi 等<sup>[70]</sup>利用磁性纳米颗粒固定化 GGT 合成茶氨酸,在首次生物催化合成过程中转化率为 63.2%,且转化率在后续循环中没有明显下降。L. S. Xu 等<sup>[71]</sup>利用重组 GGT 超声辅助增强合成 L-茶氨酸,其最佳反应条件为超声功率 100 W、反应 pH 值 9.0、L-谷氨酰胺浓度 120 mmol/L、反应温度 45 ℃,在此条件下,L-茶氨酸得率为 89.1%。Z. L. Li 等<sup>[52]</sup>将解淀粉芽孢杆菌的耐盐 GGT 在大肠杆菌中表达后用于合成茶氨酸,其最佳反应条件为 pH 值 10.0、GGT 质量浓度 20  $\mu$ g/mL、L-谷氨酰胺浓度 200 mmol/L、乙胺浓度 2 mol/L,反应 5 h 后的转化率为 83%。GGT 在催化合成茶氨酸方面表现出高效性和稳定性,但不同微生物来源和反应条件对茶氨酸的转化率有显著影响,因此需进一步优化反应条件以满足多样化的工业生产需求。

牛乳 GGT 和细菌 GGT 均可用于合成  $\gamma$ -谷氨酰-L-缬氨酰-甘氨酸。L. C. Cao 等<sup>[72]</sup>利用牛乳 GGT 合成  $\gamma$ -谷氨酰-L-缬氨酰-甘氨酸,最佳反应条件为缬氨酰-甘氨酸浓度 100 mmol/L、L-谷氨酰胺浓度 20 mmol/L、牛乳 GGT 1.2 U/mL、pH 值 8.5、反应温度 37 ℃,该条件下, $\gamma$ -谷氨酰-L-缬氨酰-甘氨酸的浓度为 13.1 mmol/L。T. Fukao 等<sup>[73]</sup>通过细菌 GGT 合成  $\gamma$ -谷氨酰-L-缬氨酰-甘氨酸,其最佳反应条件为 L-谷氨酰胺浓度 20 mmol/L、缬氨酰-甘氨酸浓度 100 mmol/L、细菌 GGT 30 mU/mL、NaCl 质量分数 5%、pH 值 8、反应温度 37 ℃,在此条件下, $\gamma$ -谷氨酰-L-缬氨酰-甘氨酸的浓度为 18.6 mmol/L。此外,刘栓英等<sup>[2]</sup>利用枯草芽孢杆菌 GGT 催化合成  $\gamma$ -谷氨酰苯丙氨酸,其最佳反应条件为 L-谷氨酰胺浓度 50 mmol/L、L-苯丙氨酸浓度 200 mmol/L、枯草芽孢杆菌 GGT 1 U/mL、初始反应温度 35 ℃、pH 值 10.0,在此条件下, $\gamma$ -谷氨酰苯丙氨酸产率高达 94%。GGT 来源广泛且在优化条件下表现出高效催化能力,能够合成多种  $\gamma$ -谷氨酰化合物。然而,不同来源的 GGT 需要匹配相应的最适反应条件,这增加了实际应用中的复杂性,且在大规模工业生产中,进一步提高产率仍是亟需解决的关键问题。

## 6.2 GGT 在风味物质合成中的应用

**6.2.1 GGT 的风味调控作用** 在酶、微生物等生物媒介作用下产生的食品风味,符合消费者对天然、安全、无添加剂或少添加剂食品的期待,越来越受到消费者的青睐<sup>[74]</sup>。GGT 在增强食品风味方面扮演关键角色,它能催化合成具有明显浓厚味和鲜味特征的  $\gamma$ -谷氨酰肽,极大丰富食品的口感和风味层次。

GGT 在食品风味调控中的应用已取得了丰硕成果,特别是在发酵食品领域。例如,Q. Li 等<sup>[75]</sup>将经过 GGT 处理的猪血红蛋白和肉类蛋白质水解物掺入乳化型猪肉香肠中,显著增强了香肠的新鲜感、浓厚味及整体风味强度。H. Suzuki 等<sup>[76]</sup>在面筋蛋白和谷蛋白的酶解过程中加入由解淀粉芽孢杆菌 GGT 制备的  $\gamma$ -谷氨酰肽,可有效减少酶解产物的苦味,同时增强咸味和鲜味。类似地,X. Z. Xia 等<sup>[4]</sup>利用秀珍菇酶解联合 GGT 制备的  $\gamma$ -谷氨酰肽具有显著的鲜味和盐味增强作用。A. Heres 等<sup>[77]</sup>研究发现,通过 GGT 生成的  $\gamma$ -谷氨酰肽能显著减少干制火腿的盐分使用量,并改善其风味。

在酱油发酵工艺中,GGT 以其独特的水解机制,不仅能显著提升酱油的鲜味特征,还能有效改善产品的不良风味。值得注意的是,GGT 在大豆发酵体系中表现出优异的稳定性,其中耐盐型 GGT 在高盐环境下仍能保持较高的催化活性,这为其在酱油生产中的应用提供了重要保障。从作用机理来看,GGT 主要通过催化大豆蛋白降解产物谷氨酰胺转化为谷氨酸来实现其功能。这一转化过程具有双重效益:一方面直接增加了鲜味物质谷氨酸的含量;另一方面有效抑制了谷氨酰胺向焦谷氨酸的转化路径,从而避免了不良风味物质的生成。K. Kijima 等<sup>[78]</sup>研究发现,当使用产 GGT 的野生枯草芽孢杆菌及其特异性水解突变体 D445A 时,处理组谷氨酸含量较对照组显著提高;感官分析表明,GGT 处理不仅增强了酱油的鲜味特征,还显著改善了产品的整体风味品质。

GGT 在香肠、面筋蛋白酶解物、秀珍菇酶解物、干制火腿、酱油等多种食品中的应用展现出显著的风味调控效果。GGT 催化生成的  $\gamma$ -谷氨酰肽不仅

增强了食品的新鲜感、鲜味和咸味,还实现了食品工业减盐增鲜的目标,为传统发酵食品的品质提升和风味创新提供了新途径。然而,目前用于 GGT 催化的生物酶制剂成本较高,限制了其大规模工业应用,后续需通过技术优化、工艺改进等手段降低成本并提高生产效率。

**6.2.2 GGT 的风味物质合成作用** 从香菇、洋葱、大蒜到香椿,GGT 不仅能直接参与合成特定的天然有机硫化物(如  $\gamma$ -L-谷氨酰-S-烯丙基-L-半胱氨酸)<sup>[79]</sup>,还能与其他酶协同促进风味物质的生成。

在香菇中,GGT 与半胱氨酰亚砜裂解酶的协同作用可使香菇酸转化为特征风味物质,同时生成甲醛、乙醛、酮类等副产物,为香菇带来独特的风味和口感<sup>[80]</sup>。大蒜中的 GGT 通过催化  $\gamma$ -谷氨酰基转移反应,使  $\gamma$ -L-谷氨酰-S-烯丙基-L-半胱氨酸、 $\gamma$ -谷氨酰-S-甲基半胱氨酸、 $\gamma$ -谷氨酰-S-丙烯基半胱氨酸等  $\gamma$ -谷氨酰-S-烷基半胱氨酸类化合物转化为脱氧蒜氨酸,进一步丰富大蒜的风味物质<sup>[29]</sup>。此外,GGT 是香椿含硫特征风味物质形成路径中的关键酶<sup>[47]</sup>,能特异性催化  $\gamma$ -谷氨酰基转移反应,促进香椿特征含硫化合物的生成<sup>[7]</sup>。GGT 在香椿干燥处理后的复水过程中也能显著提高含硫化合物含量,增强香椿的特征香气<sup>[81]</sup>。综上,GGT 在香菇、洋葱、大蒜、香椿等多种植物中既能直接合成特定的天然有机硫化物,还能协同其他酶促进风味物质生成。然而,GGT 的稳定性在实际应用中易受环境因素的影响,且在大规模工业化生产中,仍需优化成本和效率以满足实际应用需求。

## 7 总结与展望

本文综述了 GGT 的来源、催化机制、制备方法、酶学性质、分子改造及固定化技术的研究进展,并探讨了其在食品加工中的应用现状。GGT 是一种具有高催化效率和特异性的酶,能够催化  $\gamma$ -谷氨酰基转移反应,其独特的转肽化作用能使 GGT 在合成活性物质时表现出较高的效率和选择性。GGT 的底物特异性受其自身结构特性、底物亲和力、受体电荷与立体化学性质、酶的制备条件等多因素综合影响。GGT 表现出良好的 pH 值和热稳定性,尤其

在分子改造后,其催化效率和稳定性显著提升,重复使用性增强。另外,GGT 催化生成的 $\gamma$ -谷氨酰化合物能显著增强发酵制品的鲜味和浓厚味,在与其他酶协同作用时,能够促进香菇、大蒜、洋葱等食材特征风味物质的生成,从而改善食品的口感和风味层次。目前,GGT 的工业化应用仍受限于活性较低、固定化载体成本高、复杂基质中副反应控制不足等问题。未来可通过基于代谢通量分析的发酵调控策略构建高产工程菌株,进一步运用分子感官组学建立风味肽呈味数据库,并完善毒理学及致敏性评估标准,以期推动 GGT 在低盐食品开发与食品风味绿色制造中的广泛应用,进而为构建健康、可持续的食品工业体系提供关键技术支撑。

## 参考文献:

- [1] SAINI M, KASHYAP A, BINDAL S, et al. Bacterial gamma-glutamyl transpeptidase, an emerging biocatalyst: Insights into structure-function relationship and its biotechnological applications [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12:641251.
- [2] 刘栓英,刘会灵,龙梦飞,等. $\gamma$ -谷氨酰转肽酶高效表达及其催化合成 $\gamma$ -谷氨酰苯丙氨酸[J].食品与发酵工业,2021,47(18):23-29.
- LIU S Y, LIU H L, LONG M F, et al. Optimized expression of  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase for efficient biosynthesis of  $\gamma$ -glutamylphenylalanine [J]. *Food and Fermentation Industries*, 2021, 47(18):23-29.
- [3] 付余,张宇昊.浓厚味 $\gamma$ -谷氨酰肽研究进展、机遇与挑战[J].中国食品学报,2022,22(4):14-24.
- FU Y, ZHANG Y H. Research progress, opportunities, and challenges in the research of kokumi  $\gamma$ -glutamyl peptides [J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2022, 22(4):14-24.
- [4] XIA X Z, FU Y, MA L, et al. Protein hydrolysates from *Pleurotus geesteranus* modified by *Bacillus amyloliquefaciens*  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase exhibit a remarkable taste-enhancing effect [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2022, 70(38):12143-12155.
- [5] 林佳宜,沈起兵,徐心悦,等.食品减盐技术研究进展[J].食品科技,2025,50(2):276-284.
- LIN J Y, SHEN Q B, XU X Y, et al. Developments in foods salt reduction technology [J]. *Food Science and Technology*, 2025, 50(2):276-284.
- [6] 张祖政,毛泽敬,余华顺,等. $\gamma$ -谷氨酰转肽酶在枯草芽孢杆菌中高效表达及发酵培养基优化[J].食品与发酵工业,2024,50(24):76-83.
- ZHANG Z Z, MAO Z J, YU H S, et al. Efficient expression of  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase in *Bacillus subtilis* and optimization of enzyme-producing culture medium [J]. *Food and Fermentation Industries*, 2024, 50 (24): 76-83.
- [7] SHI G Y, GAO W Y, XIAO Z B, et al. Purification and characterization of  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase from *Toona sinensis* and its function on formation of sulfur-containing volatiles [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2024, 72(47):26376-26383.
- [8] 刘栓英. $\gamma$ -谷氨酰转肽酶分子改造及其应用[D].无锡:江南大学,2021.
- LIU S Y. Molecular modification of  $\gamma$ -glutamyltransferase and its application [D]. Wuxi:Jiangnan University, 2021.
- [9] 陈倩琳.基于CRISPR/Cas9n的枯草芽孢杆菌中高效表达 $\gamma$ -谷氨酰基转肽酶及其固定化酶制备与茶氨酸合成应用[D].广州:华南理工大学,2023.
- CHEN Q L. Efficient expression of  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase in *Bacillus subtilis* based on CRISPR/Cas9n system and its immobilized enzymes preparation with the application in the synthesis of theanine [D]. Guangzhou:South China University of Technology, 2023.
- [10] PENG S C, MAGDESIAN K G, DOWD J, et al. Investigation of high  $\gamma$ -glutamyl transferase syndrome in California Thoroughbred racehorses [J]. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 2022, 36 (6): 2203-2212.
- [11] CAO L C, LI Q, LAMETSCH R. Identification and activity characterization of  $\gamma$ -glutamyltransferase from bovine milk [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2021, 69 (50):15325-15333.
- [12] MUNDAY J S, RIDLER A, ABERDEIN D, et al. Chronic facial eczema in sheep: Description of gross and histological changes in the liver and association with serum  $\gamma$ -glutamyltransferase activity at the time of sporidesmin intoxication [J]. *New Zealand Veterinary Journal*, 2021, 69(2):104-112.
- [13] PENG W, LI W L, CHAI L, et al. Construction of a sequence activated fluorescence probe for simultaneous detection of  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase and peroxynitrite in acute kidney injury [J]. *Spectrochimica Acta Part A (Molecular and Biomolecular Spectroscopy)*, 2025, 325:125066.
- [14] WANG K, CHEN X Y, ZHANG R W Y, et al. Multifunctional fluorescence/photoacoustic bimodal imaging of  $\gamma$ -glutamyl-transpeptidase in liver disorders under different triggering conditions [J]. *Biomaterials*, 2024, 310:122635.
- [15] QIU Y L, WANG L, HUANG M, et al. Association of novel TMEM67 variants with mild phenotypes of high  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase cholestasis and congenital

- hepatic fibrosis [J]. Journal of Cellular Physiology, 2022, 237(6):2713–2723.
- [16] KONG F Y, DONG R, CHEN G, et al. Progress in biomarkers related to biliary atresia [J]. Journal of Clinical and Translational Hepatology, 2024, 12(3): 305–315.
- [17] REZAEETALAB F, NOORI S, SHAMSHIRIAN A, et al. The role of gamma-glutamyl transferase in acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease severity: A cross-sectional study [J]. Journal of Cardio-Thoracic Medicine, 2023, 11(4):1226–1236.
- [18] 徐洪兰,彭云香. 血清 $\gamma$ -谷氨酰转肽酶水平与冠状动脉病变严重程度的关系[J]. 医学信息, 2024, 37(22): 94–97.
- XU H L, PENG Y X. Relationship between serum  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase level and severity of coronary artery disease [J]. Journal of Medical Information, 2024, 37(22):94–97.
- [19] SOMMA V, CALVIO C, RABUFFETTI M, et al. An overall framework for the *E. coli*  $\gamma$ -glutamyltransferase-catalyzed transpeptidation reactions [J]. Bioorganic Chemistry, 2021, 115:105217.
- [20] CHI M C, LU B Y, HUANG Y F, et al. Effects of sodium dodecyl sulfate on the enzyme catalysis and conformation of a recombinant  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase from *Bacillus licheniformis* [J]. The Protein Journal, 2023, 42(1):64–77.
- [21] SUZUKI H, SASABU A. First example of the extracellular surface expression of intrinsically periplasmic *Escherichia coli*  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase, a member of the N-terminal nucleophile hydrolase superfamily, and the use of cells as a catalyst for  $\gamma$ -glutamylvalylglycine production [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2023, 71(2): 1132–1138.
- [22] CHEN J S, WANG F, YIN Y X, et al. The nutritional applications of garlic (*Allium sativum*) as natural feed additives in animals [J]. PeerJ, 2021, 9:e11934.
- [23] DAI X M, YU Z F. Transcriptome analysis reveals the genes involved in S-alk(en)yl cysteine sulfoxide biosynthesis and its biosynthetic location in postharvest chive (*Allium schoenoprasum* L.) [J]. Food Research International, 2022, 158:111548.
- [24] BHUIYAN N H, ROWLAND E, FRISO G, et al. Autocatalytic processing and substrate specificity of *Arabidopsis* chloroplast glutamyl peptidase [J]. Plant Physiology, 2020, 184(1):110–129.
- [25] HONG M T, HAN D, QIAO J J, et al. Citric acid induces the increase in lenthionine content in shiitake mushroom, *Lentinula edodes* [J]. Foods, 2022, 11(24):4110.
- [26] 徐欢欢,李逸,高伟,等. 洋葱 $\gamma$ -谷氨酰转肽酶AcGGT的克隆与鉴定[J]. 中国农业科学, 2021, 54(19): 4169–4178.
- XU H H, LI Y, GAO W, et al. Cloning and identification of  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase AcGGT gene from onion (*Allium cepa*) [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2021, 54(19):4169–4178.
- [27] 张华敏,张新岭,尹守恒,等. 葱属植物S-烷(烯)基半胱氨酸亚砜代谢途径研究进展[J]. 广西植物, 2023, 43(2):221–233.
- ZHANG H M, ZHANG X L, YIN S H, et al. Research progress on metabolic pathway of S-alkyl(en)ylcysteine sulfoxides in *Allium* [J]. Guihaia, 2023, 43(2):221–233.
- [28] 杨园园,王彬,刘燕,等. 大蒜有机硫化物对药物代谢酶和转运体影响的研究进展[J]. 中南药学, 2023, 21(5):1321–1329.
- YANG Y Y, WANG B, LIU Y, et al. Research progress in the effect of garlic organicsulfur compounds on drug metabolic enzymes and transporters [J]. Central South Pharmacy, 2023, 21(5):1321–1329.
- [29] BALTZI E, PAPALOUKAS C, SPANDIDOS D A, et al. Genes encoding  $\gamma$ -glutamyl-transpeptidases in the allicin biosynthetic pathway in garlic (*Allium sativum*) [J]. Biomedical Reports, 2024, 20(3):45.
- [30] 姚登福,董志珍,顾青青,等. GGT 亚组分及基因型与肝癌的特异性诊断[J]. 世界华人消化杂志, 2007, 15(36):3775–3781.
- DENG FU Y, ZHIZHEN D, QINGQING G, et al. Specific diagnosis of gamma-glutamyl transferase subfraction and its genotyping for hepatocellular carcinoma [J]. World Chinese Journal of Digestology, 2007, 15(36):3775–3781.
- [31] 廖剑洪,杨娟,曾晓房,等.  $\gamma$ -谷氨酰转肽酶催化特性研究进展[J]. 中国食品学报, 2023, 23(11):403–412.
- LIAO J H, YANG J, ZENG X F, et al. Research progress on catalytic properties of  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2023, 23(11):403–412.
- [32] 杨娟,廖剑洪,郭晶,等. 微生物 $\gamma$ -谷氨酰转肽酶分子改造合成 $\gamma$ -谷氨酰化合物的研究进展[J]. 中国调味品, 2022, 47(9):214–220.
- YANG J, LIAO J H, GUO J, et al. Research progress on synthesis of  $\gamma$ -glutamyl compounds by molecular modification of microbial  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase [J]. China Condiment, 2022, 47(9):214–220.
- [33] SUZUKI H.  $\gamma$ -Glutamyltranspeptidase essential for the metabolism of  $\gamma$ -glutamyl compounds in bacteria and its application [J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2021, 85(6):1295–1313.
- [34] 杜少平,胡海艳,甘祥武,等. 重组毕赤酵母产 $\beta$ -甘露聚糖酶的高密度发酵研究[J]. 轻工学报, 2020, 35(4):1–7.
- DU S P, HU H Y, GAN X W, et al. Study on high-density fermentation of  $\beta$ -mannanase produced by constitutive *Pichia pastoris* [J]. Journal of Light Industry, 2020, 35

- (4):1-7.
- [35] ARAI S, SUZUKI H. Immobilization of *E. coli* expressing  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase on its surface for  $\gamma$ -glutamyl compound production [J]. *AMB Express*, 2023, 13(1):27.
- [36] HE W J, HUANG X L, KELIMU A, et al. Streamlined efficient synthesis and antioxidant activity of  $\gamma$ -[glutamyl]<sub>(n≥1)</sub>-tryptophan peptides by glutaminase from *Bacillus amyloliquefaciens* [J]. *Molecules*, 2023, 28(13):4944.
- [37] CHO H B, AHN J H, YANG H G, et al. Effects of pH and NaCl on hydrolysis and transpeptidation activities of a salt-tolerant  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase from *Bacillus amyloliquefaciens* S0904 [J]. *Food Science and Biotechnology*, 2021, 30(6):853-860.
- [38] SHARMA E, LAL M K, GULATI A, et al. Biochemical characterization of  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase from *Bacillus altitudinis* IHB B1644 and its application in the synthesis of L-theanine [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2023, 71(14):5592-5599.
- [39] NONOMURA Y, WANG X J, KIKUCHI T, et al. Characterization of three  $\gamma$ -glutamyltranspeptidases from *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 [J]. *Journal of General and Applied Microbiology*, 2023, 69(3):150-158.
- [40] FARHAT F, WASIM S, REHMAN L, et al. Affinity purification, identification, and biochemical characterization of Gamma-glutamyl transpeptidase, a membrane anchored enzyme of *Gigantocotyle explanatum* [J]. *Parasitology Research*, 2023, 122(4):915-926.
- [41] SUN Y E, HU J, WANG W D, et al. Characterization of  $\gamma$ -glutamyltranspeptidases from dormant garlic and onion bulbs [J]. *Food Science & Nutrition*, 2019, 7(2):499-505.
- [42] CHEN Q L, WANG B, PAN L. Efficient expression of  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase in *Bacillus subtilis* via CRISPR/Cas9n and its immobilization [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2024, 108(1):149.
- [43] ZHANG Z H, LONG M F, ZHENG N, et al. Redesign of  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase from *Bacillus subtilis* for high-level production of L-theanine by cavity topology engineering [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2023, 107(11):3551-3564.
- [44] SHARMA E, LAL M K, GULATI A, et al. Heterologous expression, on-column refolding and characterization of gamma-glutamyl transpeptidase gene from *Bacillus altitudinis* IHB B1644: A microbial bioresource from Western Himalayas [J]. *Process Biochemistry*, 2022, 116:126-135.
- [45] SHARMA E, GULATI A, GULATI A. Statistical optimization of culture conditions of mesophilic gamma-glutamyl transpeptidase from *Bacillus altitudinis* IHB B1644 [J]. *3 Biotech*, 2020, 10(6):262.
- [46] GAO W Y, SHI G Y, ZHANG L H, et al. Optimization of fermentation conditions for producing  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase by *Bacillus licheniformis* and enzymatic synthesis of characteristic volatile sulfur-containing compounds in *Toona sinensis* [J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2025, 215:109628.
- [47] 孟克迪. 香椿  $\gamma$ -GTP 的提取纯化及其对特征风味形成的作用研究 [D]. 郑州: 河南工业大学, 2024.
- MENG K D. Extraction and purification of  $\gamma$ -GTP from *Toona sinensis* and its effect on the formation of characteristic flavor [D]. Zhengzhou: Henan University of Technology, 2024.
- [48] SENBA H, NISHIKAWA A, KIMURA Y, et al. Improvement in salt-tolerance of *Aspergillus oryzae*  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase via protein chimerization with *Aspergillus sydowii* homolog [J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 2023, 167:110240.
- [49] NISHIKAWA A, SENBA H, KIMURA Y, et al. Isolation and characterization of a salt-tolerant  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase from xerophilic *Aspergillus sydowii* [J]. *3 Biotech*, 2022, 12(10):253.
- [50] SAINI M, GUPTA R. Fabrication of chitosan-coated magnetite nanobiocatalyst with *Bacillus atrophaeus*  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase and its application to the synthesis of a bioactive peptide SCV-07 [J]. *Process Biochemistry*, 2022, 122:238-249.
- [51] SANO C, ITOH T, PHUMSOMBAT P, et al. Mutagenesis and structure-based analysis of the role of Tryptophan 525 of  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase from *Pseudomonas nitroreducens* [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2021, 534:286-291.
- [52] LI Z L, ZHU R T, LIU Y Q, et al.  $\gamma$ -glutamyl-transpeptidase from *Bacillus amyloliquefaciens*: Transpeptidation activity enhancement and L-theanine production [J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 2020, 140:109644.
- [53] CAO L C, LI Q, LAMETSCH R. Comparative analysis of substrate affinity and catalytic efficiency of  $\gamma$ -glutamyl transferase from bovine milk and *Bacillus amyloliquefaciens* [J]. *Food Chemistry*, 2023, 405:134930.
- [54] 邢胜利, 宋丽丽, 张志平, 等. 高产纤维素酶的里氏木霉液态发酵培养基条件优化 [J]. 轻工学报, 2022, 37(1):20-25.
- XING S L, SONG L L, ZHANG Z P, et al. Optimization of liquid-state fermentation medium conditions for high yield cellulase by *Trichoderma reesei* [J]. *Journal of Light Industry*, 2022, 37(1):20-25.
- [55] 梁楚容, 王琴, 肖更生, 等. 发酵多肽 Asp-Asp-Asp-Tyr 和 Asp-Tyr-Asp-Asp 的稳定性研究 [J]. 轻工学报, 2023, 38(2):48-55.
- LIANG C R, WANG Q, XIAO G S, et al. Study on the

- stability of fermented polypeptides Asp-Asp-Asp-Tyr and Asp-Tyr-Asp-Asp [J]. Journal of Light Industry, 2023, 38 (2):48–55.
- [56] LIN L L, LU B Y, CHI M C, et al. Activation and thermal stabilization of a recombinant  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase from *Bacillus licheniformis* ATCC 27811 by monovalent cations [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2022, 106(5/6):1991–2006.
- [57] WANG X J, HATTA S, MATSUI D, et al. Expression and characterization of C-terminal truncated mutants of  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase II (PaGGT II) from *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 [J]. Protein Expression and Purification, 2023, 210:106321.
- [58] 魏涛,赵彩梦,郑未未,等.果糖基转移酶AoFT在毕赤酵母中的表达与纯化及其酶学性质研究[J].轻工学报,2020,35(3):1–10.
- WEI T, ZHAO C M, JIA W W, et al. Expression and purification of fructosyl transferase AoFT in *Pichia pastoris* and study on its enzymatic properties [J]. Journal of Light Industry, 2020, 35(3):1–10.
- [59] YANG T W, IRENE K, LIU H L, et al. Enhanced extracellular gamma glutamyl transpeptidase production by overexpressing of PrsA lipoproteins and improving its mRNA stability in *Bacillus subtilis* and application in biosynthesis of L-theanine [J]. Journal of Biotechnology, 2019, 302:85–91.
- [60] CHI M C, LO H F, LIN M G, et al. Mutational analysis of a highly conserved PLSSMXP sequence in the small subunit of *Bacillus licheniformis*  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase [J]. Biomolecules, 2019, 9(9):508.
- [61] 王琳琳,高兴明,韦海涛,等.固定化酶在食品工业中的应用研究进展[J].轻工学报,2021,36(2):25–33.
- WANG L L, GAO X M, WEI H T, et al. Research progress in the application of immobilized enzymes in food industry [J]. Journal of Light Industry, 2021, 36(2):25–33.
- [62] DING S S, ZHU J P, WANG Y, et al. Recent progress in magnetic nanoparticles and mesoporous materials for enzyme immobilization: An update [J]. Revista Brasileira de Biologia, 2021, 82:e244496.
- [63] BAI Y, WU W. The neutral protease immobilization: Physical characterization of sodium alginate-chitosan gel beads [J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2022, 194(5):2269–2283.
- [64] MASDEU G, VÁZQUEZ L M, LÓPEZ-SANTÍN J, et al. Synthesis of a precursor of D-fagomine by immobilized fructose-6-phosphate aldolase [J]. PLoS One, 2021, 16 (4):e0250513.
- [65] SOLÉ J, BRUMMUND J, CAMINAL G, et al. Ketoisophorone synthesis with an immobilized alcohol dehydrogenase [J]. ChemCatChem, 2019, 11(19):4862–4870.
- [66] MA T G, LI X J, WU X F, et al. Expression of *Bacillus amyloliquefaciens*  $\gamma$ -glutamyltransferase in *Lactococcus lactis* and immobilization on magnetic nanoparticles [J]. ACS Food Science & Technology, 2021, 1(5):778–787.
- [67] PHUMSOMBAT P, SANO C, IKEZOE H, et al. Efficient production of L-theanine using immobilized recombinant *Escherichia coli* cells expressing a modified  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase gene from *pseudomonas nitroreducens* [J]. Advances in Biological Chemistry, 2020, 10(6):157–171.
- [68] BRUNI M, ROBESCU M S, UBIALI D, et al. Immobilization of  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase from equine kidney for the synthesis of *kokumi* compounds [J]. ChemCatChem, 2020, 12(1):210–218.
- [69] 李依韦,朱思琪,宋美慧,等.茶氨酸生物转化体系研究[J].内蒙古民族大学学报(自然科学版),2021,36 (4):335–338,344.
- LI Y W, ZHU S Q, SONG M H, et al. Study on the theanine biotransformation system [J]. Journal of Inner Mongolia Minzu University (Natural Sciences Edition), 2021, 36(4):335–338,344.
- [70] CHI M C, HUANG Y F, LU B Y, et al. Magnetic cross-linked enzyme aggregates of a transpeptidase-specialized variant (N450D) of *Bacillus licheniformis*  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase: An efficient and stable biocatalyst for L-theanine synthesis [J]. Catalysts, 2021, 11(2):243.
- [71] XU L S, HAN F K, ZHANG X T, et al. Ultrasound enhanced biosynthesis of L-theanine from L-glutamine and ethylamine by recombinant  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase [J]. Bioresource Technology, 2020, 307:123251.
- [72] CAO L C, HUNT C J, LIN S, et al. Elucidation of the molecular mechanism of bovine milk  $\gamma$ -glutamyltransferase catalyzed formation of  $\gamma$ -glutamyl-valyl-glycine [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2023, 71(5):2455–2463.
- [73] FUKAO T, SUZUKI H. Enzymatic synthesis of  $\gamma$ -glutamylvalylglycine using bacterial  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2021, 69(27):7675–7679.
- [74] 王彦波,张云真,李文璐,等.植物性食物中风味物质的生物成味研究进展[J].食品科学技术学报,2024,42(1):1–9.
- WANG Y B, ZHANG Y Z, LI W L, et al. Research progress on biological flavor formation of flavor substance in plant-based foods [J]. Journal of Food Science and Technology, 2024, 42(1):1–9.
- [75] LI Q, LIU J, CAO L C, et al. Effects of  $\gamma$ -glutamylated hydrolysates from porcine hemoglobin and meat on *kokumi* enhancement and oxidative stability of emulsion-type sausages [J]. Food and Bioprocess Technology, 2022, 15 (8):1851–1865.
- [76] SUZUKI H, NAKAFUJI Y, TAMURA T. New method to produce *kokumi* seasoning from protein hydrolysates using bacterial enzymes [J]. Journal of Agricultural and Food

- Chemistry, 2017, 65(48):10514–10519.
- [77] HERES A, LI Q, TOLDRÁ F, et al. Comparative quantitation of kokumi  $\gamma$ -glutamyl peptides in Spanish dry-cured ham under salt-reduced production [J]. Foods, 2023, 12(14):2814.
- [78] KIJIMA K, SUZUKI H. Improving the umami taste of soy sauce by the addition of bacterial  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase as a glutaminase to the fermentation mixture [J]. Enzyme and Microbial Technology, 2007, 41(1/2):80–84.
- [79] LIU P X, WU P, BI J X, et al. Putative transformation mechanism of  $\gamma$ -l-glutamyl-S-allyl-l-cysteine during the

processing of black garlic [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2025, 73(5):2999–3007.

- [80] LI Z, PAN F, HUANG W, et al. Transcriptome reveals the key genes related to the metabolism of volatile sulfur-containing compounds in *Lentinula edodes* Mycelium [J]. Foods, 2024, 13(14):2179.
- [81] WANG Z G, ZHAO L L, JIANG P F, et al. Sensory properties of rehydrated *Toona sinensis* shoots after dehydrated by different drying methods and association with gamma-glutamyl transferase reaction [J]. Food Chemistry, 2024, 448:139075.

## Research progress on catalytic regulation of $\gamma$ -glutamyl transpeptidase and its application in food processing

ZONG Wei<sup>1</sup>, GAO Wenyu<sup>1</sup>, LI Shunfeng<sup>2</sup>, DU Xinxin<sup>1</sup>, ZHANG Lihua<sup>1</sup>

1. College of Food and Bioengineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450001, China;

2. Research Center of Agricultural Products Processing, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China

**Abstract:**  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase (GGT, EC 2.3.2.2) is a pivotal enzyme that catalyzes  $\gamma$ -glutamyl group transfer and hydrolysis reactions, playing a critical role in bioactive substance synthesis and food flavor modulation. Against the backdrop of national salt reduction policies, GGT enhances the bioavailability of natural umami compounds, offering innovative solutions for "salt reduction without compromising flavor" in the food industry. This review systematically examines GGT's sources, catalytic mechanisms, preparation methods, enzymatic characteristics, molecular modification strategies, and immobilization techniques, along with its current applications in food processing. GGT exhibits broad distribution across animal, plant, and microbial sources. Its catalytic mechanism adheres to the "ping-pong" model, generating  $\gamma$ -glutamyl peptides via acylation-deacylation reactions that synergistically enhance saltiness perception and umami intensity. Molecular modification and immobilization techniques significantly improve GGT's catalytic efficiency, stability (thermal and pH stability), and recyclability. In food processing, GGT has been successfully applied in soy sauce umami enhancement, flavor compound synthesis, and low-salt meat product flavor optimization. However, large-scale implementation faces challenges including low microbial enzyme production yields and high immobilization carrier costs. Future studies should focus on: Exploring GGT's application potential, engineering high-yield microbial strains and developing efficient immobilized catalysts, and establishing metabolomics-based flavor modulation models to fully realize GGT's potential in sustainable food processing and quality enhancement.

**Key words:**  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase; catalytic mechanism; molecular modification; immobilization technology; flavor

[责任编辑:杨晓娟]