

还原型谷胱甘肽的特性、工业生产及在大健康行业的应用研究进展

Research progress on properties, industrial production of reduced glutathione and its application in big health industry

蔡友华¹ 吴子豪¹ 黄晓辰^{1,2} 林钰宽¹ 郑明英¹

CAI You-hua¹ WU Zi-hao¹ HUANG Xiao-chen^{1,2} LIN Yu-kuan¹ ZHENG Ming-ying¹

(1. 广东肇庆星湖生物科技股份有限公司, 广东 肇庆 526040; 2. 肇庆学院食品与制药工程学院, 广东 肇庆 526061)

(1. Guangdong Zhaoqing Xinghu Biotechnology Company, Zhaoqing, Guangdong 526040, China;

2. School of Food & Pharmaceutical Engineering, Zhaoqing University, Zhaoqing, Guangdong 526061, China)

摘要:文章概述了还原型谷胱甘肽(glutathione, GSH)的结构特征和生理活性,及其在生物体内的代谢途径,总结了 GSH 的制备、提取纯化、应用及工业生产等方面的研究进展,并展望了其功能活性、工业生产和产品应用等方面今后的研究方向。

关键词:还原型谷胱甘肽;特性;工业生产;大健康;应用

Abstract: The structural characteristics and physiological activities of reduced glutathione (GSH), as well as its metabolic pathways in vivo were reviewed, and the research progress in preparation, extraction, purification, application and industrial production of GSH were summarized. Moreover, the future research directions in functional activity, industrial production and product application of GSH were prospected.

Keywords: reduced glutathione; properties; industrial production; big health; application

还原型谷胱甘肽(glutathione, GSH)是真核生物中最丰富的非 RNA 编码的含硫醇三肽,显著的抗氧化活性使其成为众多研究的焦点。随着科学技术的发展, GSH 的潜在生理活性陆续被挖掘出来,包括整合解毒、延缓衰老、增强免疫力、抗肿瘤等。随着对 GSH 活性功能研究的深入及消费者健康意识的增强, GSH 的应用价值日益凸显,被广泛应用于食品、医药、化妆品、保健品等大健康

领域。文章对 GSH 的结构性质、生理活性、代谢途径、制备、提取纯化、应用及工业生产等的研究进展进行综述,旨在为谷胱甘肽的生产和开发应用提供科学依据。

1 还原型谷胱甘肽的概述

1.1 结构特征

GSH 是一种水溶性三肽,由 L-谷氨酸(L-Glu)、L-半胱氨酸(L-Cys)和甘氨酸(Gly)缩合而成^[14](结构式如图 1)。GSH 的结构特性主要包括以下几方面:① L-谷氨酸的 γ -羧基与 L-半胱氨酸的 α -氨基结合形成 γ -肽键,可防止 GSH 被细胞内肽酶切割,也可防止被质膜上的 γ -谷氨酰转肽酶水解;② GSH 中的两个羧基、一个胺和一个硫醇,本质上是亲水的,使 GSH 成为一种极易溶于水的化合物;③ L-半胱氨酸的游离巯基($-SH$)是 GSH 中最重要的活性基团,可参与氧化还原反应及亲核置换反应。在机体内,90% 以上的 GSH 以还原型形态存在。GSH 可被谷胱甘肽过氧化物酶转化为氧化型谷胱甘肽(GSSG),随后,又可通过谷胱甘肽还原酶使其再次还原为 GSH^[2-3]。

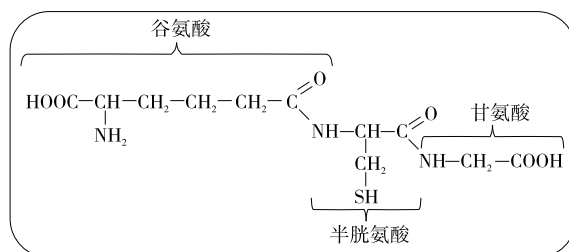


图 1 还原型谷胱甘肽(GSH)的化学结构式

Figure 1 The chemical structure of reduced glutathione (GSH)

基金项目:广东省重点领域研发计划(编号:212021100941300001);肇庆市科技计划项目(编号:2020NCP0101)

作者简介:蔡友华,男,广东肇庆星湖生物科技股份有限公司高级工程师,博士。

通信作者:郑明英(1965—),男,广东肇庆星湖生物科技股份有限公司高级工程师。E-mail: zmy@starlake.com.cn

收稿日期:2022-07-15 **改回日期:**2022-10-01

1.2 生理活性

作为哺乳动物细胞内最主要的非蛋白巯基和含量最丰富的低分子量多肽, GSH 广泛分布于机体各器官内, 直接或间接参与多种生理活动, 维持细胞生物功能。主要功能包括: ① 与 GSSG 组成细胞内重要的氧化还原对, 维持氧化还原平衡^[4-5]; ② 作为细胞抗氧化系统中最重要的抗氧化剂之一, 可以保护脂质、蛋白质、DNA、酶等生物大分子抵抗氧化应激损伤, 保持活性^[6]; ③ 在谷胱甘肽-S-转移酶的作用下, 通过亲核进攻—结合反应对重金属和外源性物质进行解毒; ④ 通过“ γ -谷氨酰循环”储存和运输半胱氨酸, 是半胱氨酸的储存库; ⑤ 调节细胞内信号转导, 维持细胞正常生命活动^[7]; ⑥ 参与氨基酸的跨膜转运, 促进白细胞的生成, 发挥免疫增强作用^[8]。现代研究^[9]表明, 各种与年龄相关的慢性疾病, 例如与神经退行性疾病、线粒体功能障碍甚至癌症相关的疾病, 都与 GSH 水平欠佳或缺乏有关。保持适宜的 GSH/GSSG 比率是细胞生存的关键, 其中 GSH 的合成被认为是细胞抵抗氧化损伤和自由基产生的一种关键防御机制。

1.3 在生物体内的代谢途径

GSH 存在于大多数原核和真核生物中, 细胞内的 GSH 是以 L-谷氨酸、L-半胱氨酸和甘氨酸为原料, 在 ATP 存在的条件下, 由细胞质中两种可溶性酶 γ -谷氨酰半胱氨酸合成酶(γ -GCL 或 GSH I, EC 6.3.2.2)和谷胱甘肽合成酶(GS 或 GSH II, EC 6.3.2.3)的连续催化合成^[15]。该合成途径在生物体内最为普遍, 几乎发生在所有类型细胞中, 肝脏是 GSH 合成和输出的主要场所。GSH 的胞内水平取决于两种合成酶的水平 and 活性、ATP 的产生以及底物氨基酸(尤其是半胱氨酸)的含量。其中, GSH I 是 GSH 合成途径的限速酶, 其活性会受到 GSH 反馈抑制调节^[15]。

在高等动植物细胞中, GSH 通过 γ -谷氨酰循环进行代谢(图 2)。一部分 GSH 被组织细胞直接吸收进入细胞, 有的则会被细胞膜上的 γ -谷氨酰转肽酶(γ -GT)降解

成氨基酸^[10]。大多数动物的肝脏、肾、肺、小肠等器官中都有分解 GSH 的酶^[11]。据报道^[12], 酵母细胞中也存在不完整的 γ -谷氨酰循环, 所以可能存在相似的 GSH 代谢途径。此外, 酿酒酵母的液泡中含有 γ -GT 酶, 其存在可能导致发酵和下游加工过程中 GSH 的降解和损失。

2 还原型谷胱甘肽的工业生产

2.1 还原型谷胱甘肽的制备

2.1.1 溶剂萃取法 萃取法是 GSH 工业化生产早期的一种方法, 主要通过萃取和沉淀等操作从动植物富含谷胱甘肽的组织, 如植物种子胚芽、酵母、鸡血等提取谷胱甘肽^[13]。萃取法生产谷胱甘肽方法成熟、操作简单、工艺要求低、污染少、产物纯度高, 但由于动植物中 GSH 含量相对较低, 导致生产所需原料用量大、成本高, 但产品产量低, 不适用于工业化生产 GSH。

2.1.2 化学合成法 GSH 的化学合成法制备是将 L-谷氨酸、L-半胱氨酸和甘氨酸脱水缩合形成三肽 GSH 的过程, 主要经过基团保护、脱水缩合、脱保护 3 个步骤实现^[14]。GSH 的化学合成法在 20 世纪 50 年代就已经形成工业化, 技术较为成熟, 但这种方法反应操作复杂、工艺难度高、耗时长、污染大, 而且得到的产物是左旋 GSH (L-GSH) 和右旋 GSH (D-GSH) 的混合物, 纯度低, 效价不稳定, 所以化学合成法也早已被工业生产所淘汰。

2.1.3 酶合成法 酶合成法主要利用微生物体内的 GSH 合成所需的酶包括 GSH I 和 GSH II, 以 L-谷氨酸、L-半胱氨酸、甘氨酸为底物, 并添加一定量的 ATP、镁(辅酶因子)、磷酸盐缓冲液(pH 稳定)和钙等合成 GSH (图 3), 可以避免形成外消旋体(DL-GSH, 由等量的 L-GSH 和 D-GSH 混合而成, 无旋光性)^[14-16]。GSH 合成所需的酶主要来自大肠杆菌或者酵母菌。GSH I 和 GSH II 分别由原核生物中的 *gshA* 和 *gshB* 编码(真核生物中的 *gsh1* 和 *gsh2*)。过表达 GSH I 和 GSH II 是提高 GSH 产量的有效途径。此外, 为了重复利用酶, 生产过程中一般采用细胞或酶固定化, 不仅能提高 GSH 的生产效

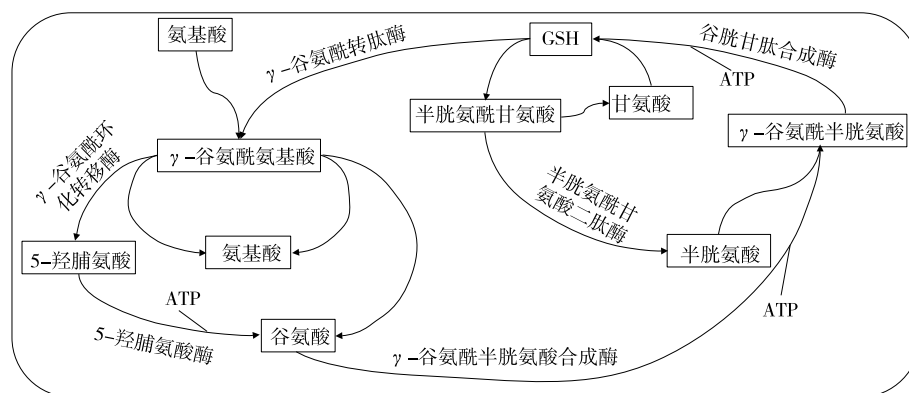


图 2 γ -谷氨酰循环

Figure 2 The γ -glutamyl cycle

率,也方便生产过程的自动化控制。酶法合成的优势在于具有很高的特异性,生产工艺明确、操作简单、生产周期短,反应速度快,产品浓度高且较易纯化,但加入的前体物料氨基酸和 ATP 价格相对昂贵,成本较高^[17]。近年来,学者们在利用酶法合成 GSH 方面进行了有益探索和

实践(见表 1),主要包括:① 寻求高效的 ATP 生成系统,降低原料成本;② 发掘高性能的谷胱甘肽合成酶系统,缓解产物的反馈抑制,提高产量。然而,到目前为止,酶法合成 GSH 未实现工业化规模的转化,仍然是一个有待持续研究的方向。

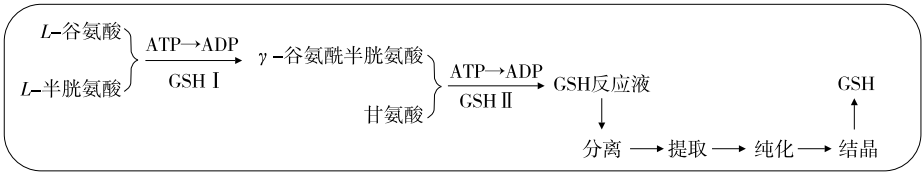


图 3 酶法合成 GSH 途径及工艺流程

Figure 3 The pathway and process flow of enzymatic synthesis of GSH

表 1 酶法合成 GSH 的技术方法(2015—2022 年)

Table 1 Enzymatic synthesis of GSH by different technological approaches (2015—2022)

酶的来源	添加底物	ATP 来源	反应条件	GSH 产量/ (g · L ⁻¹)	参考 文献
<i>Streptococcus thermophilus</i>	Gly、L-Cys、L-Glu、ATP、MgCl ₂ · 7H ₂ O、乙酰磷酸、乙酸激酶粗提物、GshF 粗提物	<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> 源乙酸激酶催化乙酰磷酸生成 ATP	pH 6.8, 30 ℃, 150 r/min, 绝氧, 3 h	18.3 ± 0.1	[18]
<i>Streptococcus sanguinis</i>	纯化的 GshFSS、L-Glu、Gly、L-Cys MgCl ₂ 、ADP、二硫苏糖醇(DTT)、多聚磷酸(polyP)、 <i>E. coli</i> /pET28a- <i>ppk</i> 湿细胞	<i>Thermosynechococcus elongatus</i> BP-1 源多磷酸激酶(PPK)催化 polyP 生成 ATP	pH 8.0, 45 ℃, 一步法, 5 h	8.76	[19]
<i>Streptococcus agalactiae</i>	L-Glu、Gly、L-Cys、ADP、polyP、MgCl ₂ 、Tris-HCl 缓冲液、PPK、GshF	<i>Corynebacterium glutamicum</i> 源 PPK 催化 polyP 生成 ATP	pH 7.5, 30 ℃, 180 r/min, 7 h	12.32	[20]
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	酵母细胞、CTAB、L-Glu、Gly、L-Cys、MgCl ₂ 、K ₂ HPO ₄ · 3H ₂ O、NaH ₂ PO ₄ · 2H ₂ O、葡萄糖	酵母糖酵解途径产生 ATP	pH 5.5, 37 ℃, 220 r/min, 10 h, 两步法	GSH 2.1 (GSSG 17.5)	[17]
<i>Streptococcus sanguinis</i>	L-Glu、Gly、L-Cys、MgCl ₂ 、PPK、DTT、生长抑素、ADP、polyP	<i>Thermosynechococcus elongates</i> 源 PPK 催化 polyP 生成 ATP	pH 8.5, 45 ℃, 3 h	17.82 ± 1.01	[21]
<i>Streptococcus sanguinis</i>	L-Glu、Gly、L-Cys、MgCl ₂ 、polyP、ADP、GshF、PPK	<i>Jhaorihella thermophile</i> 源 PPK 催化 polyP 生成 ATP	pH 8.0, 45 ℃, 一步法, 2 h	30.71	[22]

2.1.4 生物发酵法 生物发酵法生产 GSH 是利用廉价的糖类原料,通过酵母或细菌自身的物质代谢合成 GSH。其中,GSH 合成酶活力、胞内能量供应及发酵培养基组分是影响 GSH 高效合成的重要因素。常见的发酵微生物包括酿酒酵母菌、毕赤酵母、产朊假丝酵母和大肠杆菌^[23]。由于酵母中 GSH 含量较高,遗传背景清晰,所以常被用作生产 GSH 的首选菌种,特别是产朊假丝酵母和酿酒酵母^[24—25]。拥有多项 GSH 生产专利的日本协和发酵生物株式会社(Kyowa Hakko Bio)自 1970 年便开始采用从面包酵母中提取谷胱甘肽的方法生产 GSH。自然界

中野生型微生物细胞中 GSH 的含量通常不高,一般是 1~10 mmol/L,这导致 GSH 的实际生产成本非常高^[26]。因此,通常采用诱变或者基因工程来提高 GSH 合成酶的活性,或通过优化发酵条件提高前体的利用率,或促进胞内 GSH 外排,减少胞内 GSH 合成的反馈抑制,从而提高 GSH 产量^[27—29]。此外,利用大肠杆菌发酵产 GSH 也可获得较高的产量和浓度^[30—32]。但值得注意的是,在使用革兰氏阴性菌时,必须大量消耗细胞膜中的脂多糖或内毒素,避免人体产生强烈的免疫反应^[14]。近年来,利用不同微生物发酵提高 GSH 浓度的工艺研究见表 2。整体而

表 2 不同微生物发酵提高 GSH 浓度的工艺途径 (2015—2022 年)

Table 2 Fermentation process of different microorganisms to increase GSH concentration (2015—2022)

菌种类别	菌株	培养条件	处理模式	C、N 来源	GSH 产量/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	参考 文献
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> strains	GCI Δ GLR1/EROI	30 °C, 150 r/min, 48 h	分批发酵	YPD	50.3 $\pm$ 1.0 (GSSG 68.3 $\pm$ 0.9)	[33]
	ITBCC R58	30 °C, pH 5.0, 通气比 1.25, 150 r/min, 16 h	补料分批发酵, 补加葡萄糖、L-Cys · HCl	YPD	151.1	[34]
	GCI (XR/XDH/XK)	30 °C, pH 4.4, 150 r/min, 120 h	分批发酵	YPDX	215.9 $\pm$ 18.4	[35]
	A4-19-13	30 °C, 220 r/min, DO 20%, pH 5.0, 46 h	分批发酵	WMVIII	270.0	[36]
	A4-19	30 °C, 220 r/min, DO 20%, pH 5.0, 38 h	分批发酵	WMVIII	320.0	[36]
	CBS 8066	30 °C, 280 r/min, 28 h	分批发酵	GSM	22 542.7	[37]
	Sa-07346	30 °C, pH 5.5, DO 30%, 180 r/min, 30 h	补料分批发酵, 补加 Cys	WMIX	1 650.7 $\pm$ 42.8	[38]
	T65	30 °C, 通气比 1, pH 5.2, 600 r/min, 32 h	补料分批发酵, 补加 Cys、Glu、Gly	YPD	1 900.0 $\pm$ 100.0	[39]
	Sa-07346	30 °C, pH 5.5, DO 30%, 180 r/min, 24 h	补料分批发酵, 补加 Cys	WMIX, 酵母提取物	1 459.0 $\pm$ 57.0	[40]
	CGMCC 2842	30 °C, pH 6.0, DO 30%, 200 r/min, 108 h	补料分批发酵, 补加糖浆、玉米浆	糖浆、玉米浆	3 760.0 $\pm$ 70.0	[41]
	CGMCC 2842	30 °C, pH 6.0, DO 30%, 200 r/min, 88 h	补料分批发酵, 补加糖浆、玉米浆、KMnO ₄	糖浆、玉米浆	4 880.0 $\pm$ 240.0	[41]
	CGMCC 2842	30 °C, pH 6.0, DO 30%, 200 r/min, 108 h	补料分批发酵, 补加糖浆、玉米浆、KMnO ₄ 、柠檬酸钠	糖浆、玉米浆	5 760.0 $\pm$ 70.0	[41]
<i>Candida utilis</i> strains	CCTCC M 209298 (ATP6)	30 °C, 350 r/min, 通气比 1.0, pH 5.0, 20 h	分批发酵	葡萄糖、(NH ₄) ₂ SO ₄	254.3 $\pm$ 9.6	[42]
	CCTCC M 209298 (Δ por1)	30 °C, 350 r/min, 通气比 1.0, pH 5.0, DO 30%, 54 h	补料分批发酵, 补加葡萄糖	葡萄糖、(NH ₄) ₂ SO ₄ 、Met	294.1 $\pm$ 7.8	[43]
	CCTCC M 209298	27 °C, 400 r/min, 通气比 1.0, pH 5.5, 18 h	分批发酵, 添加 Na ₂ SeO ₃	葡萄糖、(NH ₄) ₂ SO ₄	323.8 $\pm$ 7.5	[44]
	CCTCC M 209298	30 °C, 通气比 1.0, pH 5.0, 300 r/min, 24 h	调节搅拌速率, 分批发酵	葡萄糖、(NH ₄) ₂ SO ₄ 、Met	290.2 $\pm$ 2.8	[45]
	CCTCC M 209298	30 °C, 通气比 1.0, pH 5.0, 300 r/min, 18 h, DO 30%	改变溶氧, 分批发酵	葡萄糖、(NH ₄) ₂ SO ₄	376.7 $\pm$ 3.6	[45]
	BL21 (pUC18-gshF)	37 °C, pH 7.0, DO 20%, 18.5 h	补料分批发酵, 分批补加葡萄糖、异丙基硫代半乳糖苷 (IPTG) 以及 Cys、Glu、Gly	葡萄糖、NH ₄ Cl、V _{B1}	15 210.0	[30]

续表 2

菌种类别	菌株	培养条件	处理模式	C、N 来源	GSH 产量/ (mg · L ⁻¹)	参考 文献
<i>Escherichia coli</i> strains	JM109 (pTrc99A-gshF)	37 ℃, pH 7.0, DO 20%, 1.5 h	控制溶氧, 补料分批发 酵, 分别补加 IPTG 和 Cys、Glu、Gly, 以及葡萄 糖	葡 萄 糖、 NH ₄ Cl	11 300.0	[32]
	ZJ12345	37 ℃, pH 7.0, 23 h	补料分批发酵, 补加葡萄 糖、MgSO ₄ · 7H ₂ O、 IPTG、Cys、Glu、Gly	葡 萄 糖、 NH ₄ Cl	5 870.0	[31]
	GS115(G3-SF)	30 ℃, pH 5.0, DO 25%, 40 h	补料分批发酵, 补加葡萄 糖及 Cys、Glu、Gly	葡 萄 糖、丙 三 醇、NH ₃ · H ₂ O	5 680.0	[46]
<i>Pichia pastoris</i> strains	GS115(G3)	30 ℃, pH 5.5, 68 h	补料分批发酵, 补加葡萄 糖和 Cys、Glu、Gly	葡 萄 糖、酵 母 粉、(NH ₄) ₂ SO ₄	2 000.0	[47]
	GS115-No.10	30 ℃, 220 r/min, 48 h	摇瓶培养, 优化葡萄糖和 前体氨基酸含量	YPD、Cys、Glu、 Gly	1 700.0	[48]
	<i>Saccharomyces bayanus</i> Sa-00645	30 ℃, pH 5.5, DO 30%, 通气比 0.5, 24 h	分批发酵, 加 L-半胱氨 酸乙酯盐酸盐	WMIX	852.7	[49]
其他	<i>Ogataea (Hansenula) polymorpha</i> mcGSH2/MET (pGAP)	37 ℃, 140 ~ 1 000 r/min, DO 30%, 96 h	分批发酵	葡 萄 糖、 (NH ₄) ₂ SO ₄ 、 复合维生素	2 167.0	[50]
	<i>Saccharomyces boulardii</i> (CNCM I-745)	31 ℃, pH 7.0, 225 r/min, 32 h	摇瓶培养, 加 Cys	YPD	730.0	[25]
	<i>Yarrowia lipolytica</i> RIY389	28 ℃, 通气比 1, pH 6.8, 600 r/min, 48 h	分批发酵	酵母膏、菊粉	1 011.4	[51]

言,微生物发酵法生产 GSH 与较早的萃取法、化学合成法、酶合成法相比具有步骤简单、条件温和、成本低、效率高、速度快、易分离、污染少等优点,已经成为目前工业大规模生产 GSH 最常用的方法,其主要工艺流程见图 4。

2.2 还原型谷胱甘肽的提取纯化

2.2.1 提取方法 发酵法是生产 GSH 的主要方法,由于 GSH 是胞内产物,需对菌体细胞进行破壁提取释放 GSH。抽提方法包括物理法、溶剂法和热水抽提法。物理抽提法是结合高温加热、低温冻融、机械研磨、高压均

质等处理,破坏酵母细胞壁,加速 GSH 溶出^[52-53];化学法是利用甲醇、甲酸、乙醇、对羟基苯甲酸丙酯等溶剂进行抽提^[54-56]。与前两种破壁提取方法不同的是,热水抽提法利用了 GSH 分子量小且水溶性好的特性,可在不完全破壁的情况下高效提取细胞内的 GSH,结合适宜的 pH,可提高提取效率,减少样品的氧化损失,且能有效降低样品中大分子肽的含量,减少膜过滤等设备的损耗。较其他方法提取效率高(提取率 90%以上)、耗时短、成本低、无污染,且对设备要求低、易于放大,适合工业生产推广^{[57][58]}。

2.2.2 纯化方法 GSH 的细胞提取液含大量性质与 GSH 相近的杂质氨基酸和肽,需进一步分离纯化才能得到高纯度的 GSH 成品。铜盐法是最早用于 GSH 纯化的方法之一,其技术门槛较低,但是该方法工艺步骤比较繁琐,而且 GSH 的收率低、环境污染大,目前在工业生产中已逐步被淘汰^[59]。双水相萃取法是利用 GSH 在双水相中的分配不同,使其与发酵液中杂质分离,操作步骤少、提取效率高、能耗低、易于规模化,但系统成本昂贵,目前

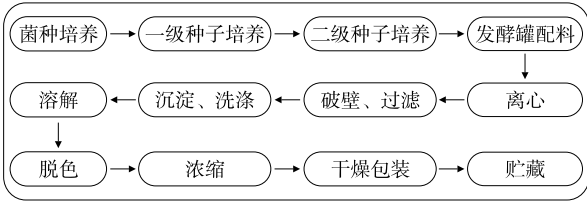


图 4 发酵法制备 GSH 的工艺流程

Figure 4 The process of preparing GSH by fermentation

尚未在工业生产中推广应用^[60]。

离子交换树脂法是氨基酸和蛋白质分离纯化的常用方法^[61-62],对于 GSH 的纯化主要使用的是阳离子交换树脂,且上柱前需经超滤除去大分子蛋白杂质。目前,用于 GSH 分离纯化的阳离子交换树脂多为强酸型,可防止 GSH 在高 pH 条件下被氧化成 GSSG^[60]。此外,除了优异的吸附性能,强酸型阳离子交换树脂还兼具分子筛功能,对溶液中大分子杂质具有过滤除杂和脱色效果。经阳离子树脂吸附后的 GSH 还需洗脱除杂,再经浓缩干燥得到成品。离子交换树脂法因技术相对成熟,而且经济效益高,适于工业化生产。此外,Wang 等^[63]提出的超滤—纳滤一体化工艺也是一种从酵母提取物中浓缩纯化谷胱甘肽的有效方法,具有较好的应用前景。

3 还原型谷胱甘肽在大健康领域中的应用

当前,美国、欧洲、中国和日本是 GSH 消费的主要国家和地区。GSH 在欧洲、北美、东南亚市场的应用较为成熟,主要集中在化妆品和保健品领域。在欧洲,以抗氧化、提高免疫力、保肝和排毒美白等功效的化妆品、个人护理及保健品行业的崛起大力拓展了 GSH 的应用^[64-65]。中国的 GSH 市场处于起步阶段,目前主要集中在医药领域,相关的 GSH 产品在临床上已经被广泛应用,可作为解毒剂、抗氧化剂、抗过敏剂等,是肝脏疾病的主要治疗药物和多种疾病的辅助治疗药物。随着国民收入的增长以及健康意识的提高,对营养保健品的需求不断增强,将促进 GSH 行业的持续增长。

3.1 在医药领域的应用

GSH 的失衡与多种疾病有关,例如糖尿病、神经退行性疾病、艾滋病、癌症或衰老,这些疾病的发生主要是基于细胞水平上的氧化应激保护受到干扰^[66-68]。因此,GSH 可以作为一种生物标志物来检测疾病,也可以用作特定治疗的潜在药物或药物前体^[69]。

在制药工业中,已实现临床应用的 GSH 药品包括 GSH 注射剂、片剂和滴眼液等,主要适用于:①酒精及药物中毒等的辅助治疗;②酒精、病毒、药物及其他化学物质导致的肝损伤的辅助治疗;③电离射线所致治疗性损伤的辅助治疗;④低氧血症的辅助治疗;⑤角膜溃疡、角膜上皮剥离、角膜炎、初期老年性白内障等的辅助治疗^[70]。其中,注射和口服剂型主要有中国的阿拓莫兰、双益健、松泰斯、绿汀诺等品牌及国外的泰特、古拉定等,滴眼液主要有依士安和天亿等品牌。另外,强生、辉瑞、罗氏、默沙东等大型制药商对药物原料的需求很高,GSH 在组织修复和构建、免疫系统增强、哮喘、贫血、抗肿瘤等诸多药物中的广泛和高度应用将促进其在制药行业的进一步增长。

除了药剂之外,GSH 作为皮肤增白剂在医美领域的

用途也非常突出,能够清除自由基、抗氧化、美白肌肤、淡化色斑,还有抗衰老的功效^[58]。作为医美原料,是美白针、部分美白护肤品和口服美白保健品的主要成分^[2]。

3.2 在食品领域的应用

在食品领域,GSH 强大的抗氧化性能也备受关注,一方面可被应用于乳制品、肉类、婴儿食品、调味料等的加工,发挥抗氧化、抑制褐变、延长保藏期、增强风味等作用;另一方面,作为功能活性因子,用于功能性食品和口服保健品的生产^[71]。

将 GSH 添加到乳制品中可有效地防止乳制品的褐变,且能增强乳制品的风味和营养价值^[72]。在果蔬类食品中添加 GSH,同样可以防止褐变从而保持果蔬原有的色泽品质^[73]。面制品中的 GSH 含量通常较低,在加工过程中适量添加 GSH 可以提升营养价值,有效抑制面制品的褐变,保持较好的色泽。在面包制作过程中添加 GSH 可以阻止小麦面团蛋白质网络中二硫键的生成,使面团保持松软,改善烘焙特性^[74]。在畜禽肉和水产品加工过程中添加 GSH 可有效抑制核酸分解,改善品质,增强风味,延长货架期^[75]。在酿酒过程中,GSH 可以捕获葡萄汁氧化过程中形成的邻醌,控制氧化劣变引起的不良色泽,保持果酒的特征香气^[76]。此外,作为厚味肽 γ -谷氨酰肽的典型代表,GSH 能赋予食品浓厚饱满、绵延持久的味感,强化呈味效果,是一种功能型调味剂,可将 GSH 或富含 GSH 的酵母细胞用于改善食品的风味品质^[77]。

随着生活水平的日渐提高和健康意识的增强,人们的注意力从疾病治疗逐渐转移到疾病预防、增强体质和延年益寿等方面^[78-79]。GSH 可以清除体内多种自由基,且能参与生物转化,促进机体内有害物质排出,还可帮助维持正常的免疫功能,具有抗氧化、解毒、延缓衰老、抗疲劳、缓解宿醉等作用,已被作为功能活性因子广泛应用于各类保健品。在北美、欧洲、东南亚、澳洲及韩国等发达国家,以 GSH 作为生物活性强化剂开发的系列功能性保健食品在市场上大受欢迎。在众多品牌中,美国普丽普莱(Puritan's Pride)、健安喜(GNC)、君可为(Drinkwel)、新加坡利维喜(LAC)等企业的 GSH 系列保健品占据市场的主导地位。中国的 GSH 龙头企业金城医药也先后取得了 GSH 保健品批文(谷胱甘肽葡萄糖苷维生素 CE 片)和 GSH 茶多酚片获得保健食品注册证书。

4 还原型谷胱甘肽行业现状

GSH 应用范围广,在大健康产业背景下,随着生产技术日渐完善,产品应用需求持续攀升,GSH 行业得以快速发展。2020 年全球谷胱甘肽市场规模超过 1.95 亿美元,由于其在医药、化妆品、食品和保健品等众多行业的广泛应用,预计到 2027 年的复合年增长率将超过 7%^[80]。目前,GSH 的市场价格约为 5 000~8 000 元/kg,全球供应

商主要集中在日本和中国,主要生产商有日本的协和发酵生物株式会社(Kyowa Hakko Bio)和三菱集团旗下的兴人生命科学(KOHJIN Life Sciences);中国的山东金城生物制药、深圳古特新生生物科技等。其中,Kyowa Hakko Bio 和山东金城是全球领先的 GSH 生产商。以美国市场为例(见图 5),近 3 年来其 GSH 年进口量达 350 t,主要进口自中国、日本、新加坡、韩国和泰国^[81]。在癌症发病率持续上升、新冠肺炎疫情常态化、环境污染严重等因素的综合影响下,消费者对增强免疫力、对抗环境中的各种污染物、抗衰老等方面的诉求愈加强烈,强力推动着 GSH 行业的发展。

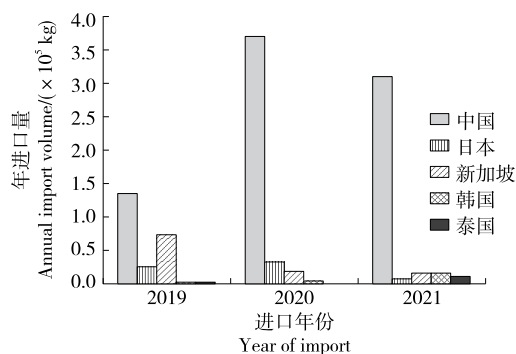


图 5 美国市场 GSH 年进口量(2019—2021 年)

Figure 5 Annual import volume of GSH in US market (2019—2021)

Kyowa Hakko Bio 是 GSH 生产的世界领先者,其利用发酵法生产的 GSH 安全且纯度高(可达 99.0%~101.0%),可用作医药原料药、生物技术、化妆品和膳食补充剂。2019 年该公司在印度尼西亚推出的 Setria glutathione 具有全球影响力。KOHJIN Life Sciences 生产的 GSH 是目前全球唯一使用食用圆酵母(产朊假丝酵母,非转基因)生产的天然型高浓度 GSH(>98%),被 FDA 认定为 GRAS(一般认为安全)。山东金城医药集团股份有限公司是全球市场谷胱甘肽原料的两大供应商之一,该公司与日本钟化株式会社合作,利用液糖和酵母粉作为主要原料,采用日本钟化株式会社提供的谷胱甘肽菌种发酵生产 GSH。2020 年公司的谷胱甘肽产量达 500 t,全球市场占有率超过 80%。尽管如此,由于生产菌种需要从日本钟化株式会社引进,且需不断更新,这就使得山东金城医药集团股份有限公司 GSH 的生产核心技术依赖于日本钟化株式会社,意味着中国 GSH 生产方面仍然缺乏完全自主的核心技术。深圳市古特新生生物科技有限公司则是采用分子生物学和合成生物学,利用酶法催化生产 GSH。

5 总结与展望

还原型谷胱甘肽是机体重要的抗氧化剂、免疫增强剂和解毒剂,与细胞信号转导、氨基酸转运、酶活性、氮和

硫代谢等息息相关,具有良好的应用潜力及前景。还原型谷胱甘肽工业化生产相关技术的研究一直是行业的研究热点,利用酵母菌进行分批补料发酵仍然是工业生产还原型谷胱甘肽的常用方法。作为有效的功能因子和活性成分,还原型谷胱甘肽在食品、保健品和医药领域已有广泛的应用。与此同时,在农业生产中,还原型谷胱甘肽作为生物肥和饲料添加剂,在植物种植、动物保健等领域的商业应用刚刚起步,将在农作物的增产增收和品质提升,以及动物增强免疫、促进生长、改善肉类品质等方面发挥重要作用^[82-83]。随着对还原型谷胱甘肽研究的深入及其活性功能的挖掘,还原型谷胱甘肽的应用面将不断拓宽。但目前针对还原型谷胱甘肽的功能研究、工业生产及产品应用等方面仍存在不足之处,有待持续深入研究。

功能活性方面,还原型谷胱甘肽水平是反映疾病风险和健康状况的重要生物标志物,但其与膳食营养干预和相关疾病进展之间的作用机制仍不明确,针对特定疾病的最佳剂量、递送形式、代谢规律等仍有待更为深入的研究和探讨。

工业生产方面,尽管还原型谷胱甘肽制备技术上的突破使其工业产量有了巨大提升,但依然满足不了当前及未来市场的需求。因此,一方面需加快挖掘和培育特性优良的菌株,定向调控发酵过程中还原型谷胱甘肽高产、高纯、高效、高活性产出;另一方面,在下游的纯化和干燥过程中需保证还原型谷胱甘肽的活性,减少其降解和氧化,从而在降低生产成本的同时,进一步提升还原型谷胱甘肽的产量和质量,促进还原型谷胱甘肽产业的高质量跨越式发展。

产品应用方面,面对消费需求的多元化、个性化和便利化,在产品的设计时不仅要关注剂型对制剂稳定性和还原型谷胱甘肽的释放、吸收及生物利用度的影响,还应充分考虑到适宜人群、服用习惯、应用场景等,确保产品的疗效和功能最大化。

参考文献

- [1] FLOHE L. Glutathione[M]. Florida: CRC Press, 2018.
- [2] HOMMA T, FUJII J. Application of glutathione as anti-oxidative and anti-aging drugs[J]. Current Drug Metabolism, 2015, 16(7): 560-571.
- [3] ADEOYE O, OLAWUMI J, OPEYEMI A, et al. Review on the role of glutathione on oxidative stress and infertility[J]. JBRA Assisted Reproduction, 2018, 22(1): 61-66.
- [4] GAUCHER C, BOUDIER A, BONETTI J, et al. Glutathione: Antioxidant properties dedicated to nanotechnologies[J]. Antioxidants, 2018, 7(5): 62-82.
- [5] AHMAD M, ANJUM N A, ASIF A, et al. Real-time monitoring of glutathione in living cells using genetically encoded FRET-based ratiometric nanosensor[J]. Scientific Reports, 2020, 10(1): 1-9.

- [6] RAJ RAI S, BHATTACHARYYA C, SARKAR A, et al. Glutathione: Role in oxidative/nitrosative stress, antioxidant defense, and treatments[J]. *Chemistry Select*, 2021, 6(18): 4 566-4 590.
- [7] PIZZORNO J. Glutathione! [J]. *Integrative Medicine*, 2014, 13(1): 8-12.
- [8] TSIASIOTI A, TZANAVARAS P D. Determination of glutathione and glutathione disulfide using zone fluidics and fluorimetric detection[J]. *Talanta*, 2021, 222: 121559.
- [9] ERKEKOGLU P, KOCER-GUMUSEL B. Glutathione in health and disease[M]. London: Intech Open, 2018: 4-8.
- [10] LUSHCHAK V I. Glutathione homeostasis and functions: Potential targets for medical interventions[J]. *Journal of Amino Acids*, 2012, 2 012: 736837.
- [11] VAIRETTI M, Di PASQUA L G, CAGNA M, et al. Changes in glutathione content in liver diseases: An update[J]. *Antioxidants*, 2021, 10(3): 364-402.
- [12] KURTZMAN C P, FELL J W, BOEKHOUT T. The yeasts, a taxonomic study[M]. Amsterdam: Elsevier, 2011: 21-44.
- [13] MINICH D M, BROWN B I. A review of dietary (phyto) nutrients for glutathione support[J]. *Nutrients*, 2019, 11(9): 2 073-2 092.
- [14] LI Y, WEI G Y, CHEN J. Glutathione: A review on biotechnological production[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2004, 66(3): 233-242.
- [15] CHEN J L, XIE L, CAI J J, et al. Enzymatic synthesis of glutathione using engineered *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Biotechnology Letters*, 2013, 35(8): 1 259-1 264.
- [16] LI W, LI Z M, YE Q. Enzymatic synthesis of glutathione using yeast cells in two-stage reaction[J]. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 2010, 33(6): 675-682.
- [17] HUANG C, YIN Z M. Highly efficient synthesis of glutathione via a genetic engineering enzymatic method coupled with yeast ATP generation[J]. *Catalysts*, 2019, 10(1): 33-45.
- [18] JIANG Y, TAO R S, SHEN Z Q, et al. Enzymatic production of glutathione by bifunctional γ -glutamylcysteine synthetase/glutathione synthetase coupled with in vitro acetate kinase-based ATP generation[J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2016, 180(7): 1 446-1 455.
- [19] ZHANG X, WU H, HUANG B, et al. One-pot synthesis of glutathione by a two-enzyme cascade using a thermophilic ATP regeneration system[J]. *Journal of Biotechnology*, 2017, 241: 163-169.
- [20] CAO H, LI C C, ZHAO J, et al. Enzymatic production of glutathione coupling with an ATP regeneration system based on polyphosphate kinase[J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2018, 185(2): 385-395.
- [21] 张星, 崔向伟, 李宗霖, 等. 基于能量循环再生系统酶法生产谷胱甘肽[J]. *华东理工大学学报(自然科学版)*, 2020, 46(5): 688-693.
ZHANG X, CUI X W, LI Z L, et al. Enzymatic synthesis of glutathione based on energy regeneration system[J]. *Journal of East China University of Science and Technology*, 2020, 46(5): 688-693.
- [22] CUI X W, LI Z M. High production of glutathione by in vitro enzymatic cascade after thermostability enhancement [J]. *AIChE Journal*, 2021, 67(1): e17055.
- [23] LIU W, ZHU X C, LIAN J Z, et al. Efficient production of glutathione with multi-pathway engineering in *Corynebacterium glutamicum*[J]. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 2019, 46(12): 1 685-1 695.
- [24] SCHMACHT M, LORENZ E, SENZ M. Microbial production of glutathione[J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2017, 33(6): 1-13.
- [25] BADR H, EL-BAZ A, MOHAMED I, et al. Bioprocess optimization of glutathione production by *Saccharomyces boulardii*: Biochemical characterization of glutathione peroxidase[J]. *Archives of Microbiology*, 2021, 203(10): 6 183-6 196.
- [26] PRATYOOSH S. Frontier discoveries and innovations in interdisciplinary microbiology[M]. New Delhi: Springer India, 2016: 1-8.
- [27] JUNIOR W J F L, BINATI R L, BERSANI N, et al. Investigating the glutathione accumulation by non-conventional wine yeasts in optimized growth conditions and multi-starter fermentations [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2021, 142: 110990.
- [28] AL-MADBOLY L A, KHEDR E G, ALI S M. Optimization of reduced glutathione production by a *Lactobacillus plantarum* isolate using Plackett-Burman and Box-Behnken designs[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 772-780.
- [29] SANTOS L O, SILVA P G P, LEMOS JUNIOR W J F, et al. Glutathione production by *Saccharomyces cerevisiae*: Current state and perspectives[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2022, 106: 1 879-1 894.
- [30] WANG C, ZHANG J, WU H, et al. Heterologous *gshF* gene expression in various vector systems in *Escherichia coli* for enhanced glutathione production [J]. *Journal of Biotechnology*, 2015, 214: 63-68.
- [31] ZHANG J, QUAN C, WANG C, et al. Systematic manipulation of glutathione metabolism in *Escherichia coli* for improved glutathione production[J]. *Microbial Cell Factories*, 2016, 15(1): 1-12.
- [32] WANG D Z, WANG C, WU H, et al. Glutathione production by recombinant *Escherichia coli* expressing bifunctional glutathione synthetase [J]. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 2016, 43(1): 45-53.
- [33] HARA K Y, AOKI N, KOBAYASHI J, et al. Improvement of oxidized glutathione fermentation by thiol redox metabolism engineering in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2015, 99(22): 9 771-9 778.
- [34] KRESNOWATI M T A P, IKHSAN N A, NURSA'ADAH R S, et al. Evaluation of glutathione production method using *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 2019, 543(1): 012004.
- [35] KOBAYASHI J, SASAKI D, BAMBA T, et al. Sustainable production of glutathione from lignocellulose-derived sugars using engineered *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Applied Microbiology and*

- Biotechnology, 2019, 103(3): 1 243-1 254.
- [36] PATZSCHKE A, STEIGER M G, HOLZ C, et al. Enhanced glutathione production by evolutionary engineering of *Saccharomyces cerevisiae* strains[J]. Biotechnology Journal, 2015, 10(11): 1 719-1 726.
- [37] CÂMARA JÚNIOR A A C, NGUYEN T D, JOSSIER A, et al. Improving total glutathione and trehalose contents in *Saccharomyces cerevisiae* cells to enhance their resistance to fluidized bed drying[J]. Process Biochemistry, 2018, 69: 45-51.
- [38] LORENZ E, SCHMACHT M, STAHL U, et al. Enhanced incorporation yield of cysteine for glutathione overproduction by fed-batch fermentation of *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Journal of Biotechnology, 2015, 216: 131-139.
- [39] XIONG Z Q, GUO M J, CHU J, et al. On-line specific growth rate control for improving reduced glutathione production in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Biotechnology and Bioengineering, 2015, 20(5): 887-893.
- [40] SCHMACHT M, LORENZ E, STAHL U, et al. Medium optimization based on yeast's elemental composition for glutathione production in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2017, 123(5): 555-561.
- [41] CHEN H L, CAO X T, ZHU N Q, et al. A stepwise control strategy for glutathione synthesis in *Saccharomyces cerevisiae* based on oxidative stress and energy metabolism[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2020, 36(8): 1-10.
- [42] XU R Y, WANG D H, WANG C L, et al. Improved S-adenosylmethionine and glutathione biosynthesis by heterologous expression of an ATP6 gene in *Candida utilis*[J]. Journal of Basic Microbiology, 2018, 58(10): 875-882.
- [43] WANG D H, LI D C, ZHANG G C, et al. Disruption of *por1* gene in *Candida utilis* improves co-production of S-adenosylmethionine and glutathione[J]. Journal of Biotechnology, 2019, 290: 16-23.
- [44] ZHANG G C, YAO X Y, WANG C L, et al. Transcriptome analysis reveals the mechanism underlying improved glutathione biosynthesis and secretion in *Candida utilis* during selenium enrichment[J]. Journal of Biotechnology, 2019, 304: 89-96.
- [45] LI D C, WANG D H, WEI G Y. Efficient co-production of S-adenosylmethionine and glutathione by *Candida utilis*: effect of dissolved oxygen on enzyme activity and energy supply[J]. Journal of Chemical Technology & Biotechnology, 2017, 92(8): 2 150-2 158.
- [46] GAO Y H, LIU N, ZHU Y X, et al. Improving glutathione production by engineered *Pichia pastoris*: Strain construction and optimal precursor feeding[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2022, 106(5): 1 905-1 917.
- [47] 高宇豪, 吴勇杰, 朱亚鑫, 等. 产谷胱甘肽毕赤酵母工程菌的构建及能量调控[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(7): 21-26.
- GAO Y H, WU Y J, ZHU Y X, et al. Construction and energy regulation of engineered glutathione-producing *Pichia pastoris* [J]. Food and Fermentation Industries, 2021, 47(7): 21-26.
- [48] 蒋秋琪, 吕雪芹, 崔世修, 等. 代谢工程改造毕赤酵母发酵生产谷胱甘肽[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(17): 9-14.
- JIANG Q Q, LU X Q, CUI S X, et al. Metabolic engineered *Pichia pastoris* for synthesis of glutathione[J]. Food and Fermentation Industries, 2020, 46(17): 9-14.
- [49] LORENZ E, SCHMACHT M, SENZ M. Evaluation of cysteine ethyl ester as efficient inducer for glutathione overproduction in *Saccharomyces spp.*[J]. Enzyme and Microbial Technology, 2016, 93: 122-131.
- [50] YURKIV M, KURYLENKO O, VASYLYSHYN R, et al. Gene of the transcriptional activator MET4 is involved in regulation of glutathione biosynthesis in the methylotrophic yeast *Ogataea (Hansenula) polymorpha* [J]. FEMS Yeast Research, 2018, 18(2): foy004.
- [51] DO D T H, FICKERS P, BEN TAHAR I. Improvement of glutathione production by a metabolically engineered *Yarrowia lipolytica* strain using a small-scale optimization approach[J]. Biotechnology Letters, 2021, 43(2): 407-414.
- [52] 万俊, 王常高, 蔡俊, 等. 低温高压均质法提取谷胱甘肽的生产工艺研究[J]. 食品与机械, 2013, 29(4): 137-140.
- WAN J, WANG C G, CAI J, et al. Study on production technology for extracting glutathione by high pressure homogenization at low temperature[J]. Food & Machinery, 2013, 29(4): 137-140.
- [53] 冷非凡, 王晓力, 王永刚, 等. 高压蒸汽提取啤酒废酵母还原型谷胱甘肽的工艺优化[J]. 食品工业科技, 2014, 35(15): 224-229.
- LENG F F, WANG X L, WANG Y G, et al. Optimization of extraction parameters for glutathione from beer waste brewing yeast treated by high-pressure steam (HPS) [J]. Science and Technology of Food Industry, 2014, 35(15): 224-229.
- [54] MURYANTO M, ALVI N, NURDIN M, et al. Extraction of glutathione from EFB fermentation waste using methanol with sonication process [J]. AIP Conference Proceedings, 2017, 1 904: 020011.
- [55] SUDIYANI Y, FAIZAL F A, FIRMANSYAH I, et al. Glutathione from *Saccharomyces cerevisiae* as by-product of second generation bioethanol from oil palm of empty fruit bunch fiber[J]. IOP Conference Series: Materials Science and Engineering, 2019, 536(1): 012142.
- [56] 江燕斌, 马建, 杨建, 等. 一种有机溶剂沉淀分离初步提纯谷胱甘肽发酵液的方法: CN102286069B[P]. 2013-07-24.
- JIANG Y B, MA J, YANG J, et al. Method for primarily purifying glutathione fermentation liquid by precipitation and separation with organic solvent: CN102286069B[P]. 2013-07-24.
- [57] 孙永龙, 张会翔, 张伟波. 一种高纯度谷胱甘肽的生产方法: CN101429229B[P]. 2011-07-06.
- SUN Y L, ZHANG H X, ZHANG W B. Method for producing high-purity glutathione: CN101429229B[P]. 2011-07-06.
- [58] WANG Y. Extraction and concentration of glutathione from yeast[D]. Waterloo: University of Waterloo, 2018.
- [59] SATYANARAYANA T, KUNZE G. Yeast biotechnology: diversity and applications[M]. Dordrecht: Springer Netherlands, 2009: 259-280.

- [60] 刘秀继, 邹群, 覃先武, 等. 微生物生产谷胱甘肽的国内研究进展(1990—2020) [J]. 三峡大学学报(自然科学版), 2022, 44(4): 90-106.
- LIU X J, ZOU Q, QIN X W, et al. A systematic review on microbial production of glutathione in China (1990—2020) [J]. Journal of China Three Gorges University (Natural Science), 2022, 44(4): 90-106.
- [61] WANG X Q, YU H H, XING R E, et al. Characterization, preparation, and purification of marine bioactive peptides[J]. Bio Med Research International, 2017, 2 017: 9746720.
- [62] BILAWAL A, JIANG Z M, LI Y, et al. Isolation, bioactivity, identification, and commercial application of soybean bioactive peptides[M]// Phytochemicals in Soybeans. [S.l.]: CRC Press, 2022: 217-234.
- [63] WANG Y R, XIAO T H, ZHANG Z G, et al. Extraction and concentration of glutathione from yeast by membranes [J]. The Canadian Journal of Chemical Engineering, 2022, 100: S195-S204.
- [64] 凌思雨, 王洲, 张会敏, 等. 常压室温等离子体诱导与微生物微液滴培养选育谷胱甘肽高产菌株[J/OL]. 食品科学. (2022-06-13) [2022-08-26]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20220613.1059.073.html>.
- LING S Y, WANG Z, ZHANG H M, et al. Breeding of high yield glutathione strain by atmospheric and room temperature plasma mutagenesis and microbial microdroplet culture system [J/OL]. Food Science. (2022-06-13) [2022-08-26]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20220613.1059.073.html>.
- [65] WESCHAWALIT S, THONGTHIP S, PHUTRAKOOL P, et al. Glutathione and its antiaging and antimelanogenic effects[J]. Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology, 2017, 10: 147-153.
- [66] ISKUSNYKH I Y, ZAKHAROVA A A, PATHAK D. Glutathione in brain disorders and aging[J]. Molecules, 2022, 27(1): 324-336.
- [67] KENNEDY L, SANDHU J K, HARPER M E, et al. Role of glutathione in cancer: From mechanisms to therapies[J]. Biomolecules, 2020, 10(10): 1 429-1 456.
- [68] IGHODARO O M. Molecular pathways associated with oxidative stress in diabetes mellitus [J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2018, 108: 656-662.
- [69] TESKEY G, ABRAHEM R, CAO R Q, et al. Glutathione as a marker for human disease [J]. Advances in Clinical Chemistry, 2018, 87: 141-159.
- [70] LIM J C, GREY A C, ZAHRAEI A, et al. Age-dependent changes in glutathione metabolism pathways in the lens: New insights into therapeutic strategies to prevent cataract formation: A review[J]. Clinical & Experimental Ophthalmology, 2020, 48(8): 1 031-1 042.
- [71] 郑丽雪, 齐斌, 孙姜, 等. 外源性氧化胁迫对酿酒酵母突变株 Y518 合成谷胱甘肽的影响[J]. 食品与机械, 2017, 33(9): 15-19.
- ZHENG L X, QI B, SUN J, et al. Effects of exogenous oxidation stress on glutathione synthesis in *Saccharomyces cerevisiae* mutant Y518[J]. Food & Machinery, 2017, 33(9): 15-19.
- [72] ZHANG Y, SIMPSON B K, ADI D D, et al. Indigenous milk enzymes[M]// Handbook of Dairy Foods Analysis. [S.l.]: CRC Press, 2021: 123-141.
- [73] WU S J. Preparation of canned apple juice using glutathione as an enzymatic and non-enzymatic browning inhibitor[J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2017, 41(1): e12750.
- [74] ZHANG X, CHU J P, DONG S X, et al. Chain terminators and glutathione weaken wheat dough under excess nitrogen input[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2022, 70(17): 5 357-5 368.
- [75] 戴庞聪, 吴慧. 探讨谷胱甘肽的应用研究进展[J]. 现代食品, 2020(21): 40-43.
- DAI P C, WU H. Research progress on the application of glutathione[J]. Modern Food, 2020(21): 40-43.
- [76] LU X, DEL PRADO D R, ARAUJO L D, et al. Effect of glutathione addition at harvest on sauvignon blanc wines[J]. Australian Journal of Grape and Wine Research, 2021, 27(4): 431-441.
- [77] MEZZETTI F, DE VERO L, GIUDICI P. Evolved *Saccharomyces cerevisiae* wine strains with enhanced glutathione production obtained by an evolution-based strategy[J]. FEMS Yeast Research, 2014, 14(6): 977-987.
- [78] 肖建才, 刘建功, 赵子鹤, 等. 传统健康食疗产业发展现状与展望[J]. 食品与机械, 2022, 38(6): 8-15, 236.
- XIAO J C, LIU J G, ZHAO Z H, et al. Status and prospects of traditional health food therapy industry development[J]. Food & Machinery, 2022, 38(6): 8-15, 236.
- [79] 周丹, 郑建仙, 黄寿恩. 功能性食品研发新模式: 柔性精准营养干预系统[J]. 食品与机械, 2022, 38(6): 4-7, 87.
- ZHOU D, ZHENG J X, HUANG S E. New model of functional food research and development: Flexible and precise nutrition intervention system[J]. Food & Machinery, 2022, 38(6): 4-7, 87.
- [80] Global Market Insight. Glutathione Market[R/OL]. Selbyville: GMI, 2021. [2022-08-23]. <https://www.gminsights.com/industry-analysis/glutathione-market>.
- [81] 上海腾道信息技术有限公司. 外贸通平台数据库[DB/OL]. [2022-09-12]. <https://www.tendata.cn/t-info/>.
- Shanghai Tendata Tech Co., Ltd. Trader database platform[DB/OL]. [2022-09-12]. <https://www.tendata.cn/t-info/>.
- [82] 杨世慧, 王军, 秦永发, 等. 谷胱甘肽生理功能、发酵生产及其在动物生产中应用的研究进展[J/OL]. 动物营养学报. (2022-06-17) [2022-09-06]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.5461.S.20220615.1443.028.html>.
- YANG S H, WANG J, QIN Y F, et al. Research progress of physiological function and fermentation production of glutathione and its application in animal production[J/OL]. Chinese Journal of Animal Nutrition. (2022-06-17) [2022-09-06]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.5461.S.20220615.1443.028.html>.
- [83] ARYADEEP R, DURGES K T. Protective chemical agents in the amelioration of plant abiotic stress: Biochemical and molecular perspectives[M]. [S.l.]: John Wiley & Sons, 2020: 122-146.