

# 采用牛血清白蛋白/果糖体系研究荧光性AGEs生成的动力学

胡 静, 李巨秀\*

(西北农林科技大学食品科学与工程学院, 陕西 杨陵 712100)

**摘 要:** 为分析荧光性晚期糖基化末端产物 (advanced glycation end products, AGEs) 生成的动力学, 采用牛血清白蛋白 (bovine serum albumin, BSA) /果糖模拟反应体系, 荧光光谱法测定荧光强度来衡量荧光性AGEs生成量, 分别考察了不同BSA质量浓度、果糖浓度、温度及pH值对荧光性AGEs生成量的影响, 探究荧光性AGEs生成和底物消耗的反应动力学。结果表明: 随着BSA质量浓度、果糖浓度、温度及pH值的增加, 荧光性AGEs生成量均呈现增加的趋势。体系反应24 min后, 果糖和氨基酸浓度分别减少了 $1.25 \times 10^{-2}$ 、 $1.92 \times 10^{-4}$  mol/L, 果糖消耗量要高于氨基酸消耗量。在此基础上, 运用最小二乘法拟合, 得出在各反应条件下, 荧光性AGEs的生成符合0级反应动力学, 最大速率常数为31.57 AU/min, 反应活化能为70.58 kJ/mol; 底物消耗符合1级反应动力学。

**关键词:** 晚期糖基化末端产物 (AGEs); 牛血清白蛋白/果糖体系; 动力学; 反应级数

## Formation Kinetics of Fluorescent AGEs in Bovine Serum Albumin/Fructose System

HU Jing, LI Juxiu\*

(College of Food Science and Engineering, Northwest A&F University, Yangling 712100, China)

**Abstract:** In order to analyze the formation kinetics of fluorescent advanced glycation end products (AGEs), this work addressed the effects of bovine serum albumin (BSA) concentration, fructose concentration, temperature, and pH on the formation of fluorescent AGEs in a simulated processing system consisting of BSA and glucose. Fluorescence intensity was used to measure the fluorescent AGEs content. The kinetics of substrate depletion was also investigated. The results showed that the fluorescent AGEs content increased with increasing BSA concentration, fructose concentration, temperature and pH. After 24 min reaction, fructose and amino acid concentrations decreased by  $1.25 \times 10^{-2}$  and  $1.92 \times 10^{-4}$  mol/L, respectively, indicating a larger decrease in fructose concentration. The formation of fluorescent AGEs followed zero-order kinetics, with a maximum rate constant of 31.57 AU/min and an activation energy of 70.58 kJ/mol, and substrate depletion followed first-order kinetics.

**Key words:** advanced glycation end products (AGEs); bovine serum albumin/fructose system; kinetics; reaction order

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201701002

中图分类号: TS201.1

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2017) 01-0007-06

引文格式:

胡静, 李巨秀. 采用牛血清白蛋白/果糖体系研究荧光性AGEs生成的动力学[J]. 食品科学, 2017, 38(1): 7-12.

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201701002. <http://www.spkx.net.cn>

HU Jing, LI Juxiu. Formation kinetics of fluorescent AGEs in bovine serum albumin/fructose system[J]. Food Science, 2017, 38(1): 7-12. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-201701002. <http://www.spkx.net.cn>

晚期糖基化末端产物 (advanced glycation end products, AGEs) 是食品加工与贮藏过程中, 游离氨基与还原糖 (葡萄糖、果糖、乳糖) 的醛基经过缩合、重排、裂解、氧化修饰, 产生的一组结构稳定的化合物<sup>[1]</sup>。

食品的物质组成、热处理方式、热处理时间都会影响食品中的AGEs含量, 油炸、煎、烧烤等热处理方式均可产生较多的AGEs, AGEs在烘烤食品、肉类食品、乳制品、咖啡中含量较高<sup>[2]</sup>。美拉德反应及脂质过氧化反应均

收稿日期: 2016-01-24

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (31471579)

作者简介: 胡静 (1990—), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品化学与营养。E-mail: hujing1185938942@126.com

\*通信作者: 李巨秀 (1972—), 女, 副教授, 博士, 研究方向为食品化学与营养。E-mail: lijuxiu@nwsuaf.edu.cn

是生成AGEs的重要途径<sup>[3]</sup>。AGEs可在体内自动生成,也可通过外源性饮食摄入。若外源性AGEs摄入过量,会在器官中积累,与其受体RAGE特异性结合,诱导氧化应激和炎症应答,与糖尿病、心血管疾病、动脉粥样硬化等疾病的发生密切相关<sup>[4]</sup>。

AGEs形成机制复杂,生成亦受多种因素影响,如底物浓度、温度、pH值、水分活度等<sup>[5]</sup>。AGEs的某些代表性物质如戊糖素、精氨酸、甲酰苏阿糖吡咯(formyl threosyl pyrrole, FTP)均具有自发荧光性<sup>[6-7]</sup>,测定荧光值可简单地有效地衡量荧光性AGEs含量,荧光值的大小可以衡量荧光性AGEs生成量的多少。目前,在美拉德反应的动力学研究中,对类黑素形成的动力学研究较多,Liu Shichuan等<sup>[8]</sup>得出,类黑素的生成符合1级反应动力学。李伶俐等<sup>[9]</sup>分析了美拉德反应中pH值变化和底物消耗的动力学,但对于荧光性AGEs生成的动力学研究却十分有限。

本实验选用了果糖、牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)为底物,建立牛血清白蛋白/果糖模拟体系,以荧光值为评价指标,分析BSA质量浓度、果糖浓度、温度、pH值对荧光性AGEs生成量的影响,探讨荧光性AGEs生成量与底物消耗的反应动力学,从量化角度描述荧光性AGEs的生成。在此基础上探讨食品中抑制AGEs形成的措施,为食品加工和贮藏过程中定量、定向地控制AGEs的生成提供理论指导,为食品中AGEs动力学方程的建立提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

BSA、果糖(均为分析纯)、乙腈(色谱纯) 美国Sigma公司;亚铁氰化钾、乙酸锌、十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS)、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、 $\beta$ -巯基乙醇、邻苯二甲醛(*o*-phthalaldehyde, OPA)、甲醇、亮氨酸均为分析纯。

### 1.2 仪器与设备

600E高效液相色谱仪 美国Waters公司;SHZ-CB循环水式多用真空泵 巩义市予华仪器有限责任公司;F-4500荧光分光光度计、UV-255双束紫外分光光度计 日本岛津公司;HC-3018R高速冷冻离心机 安徽中科中佳科学仪器有限公司;BT25S电子天平 北京赛多利斯科学仪器有限公司;PHS-3C+pH计 成都世纪方舟科技有限公司;HH-6数显恒温水浴锅 国华电器有限公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 BSA质量浓度对荧光性AGEs生成量的影响

BSA和果糖均溶解于pH 7.4、0.05 mol/L的磷酸盐缓冲溶液中。2 mL 0.2 mol/L果糖溶液分别与1、2、3、

4 mg/mL BSA溶液等体积混合于10 mL具塞试管中,沸水浴中反应4、8、12、16、20、24 min,取出置于4 °C条件下停止反应,测定其荧光值。

#### 1.3.2 果糖浓度对荧光性AGEs生成量的影响

BSA和果糖均溶解于pH 7.4、0.05 mol/L的磷酸盐缓冲溶液中。2 mL 4 mg/mL BSA溶液分别与0.05、0.10、0.20 mol/L果糖溶液等体积混合于10 mL具塞试管中。沸水浴中反应4、8、12、16、20、24 min,取出置于4 °C条件下停止反应,测定其荧光值。

#### 1.3.3 温度对荧光性AGEs生成量的影响

BSA和果糖均溶解于pH 7.4、0.05 mol/L的磷酸盐缓冲溶液中。2 mL 0.2 mol/L果糖溶液与4 mg/mL BSA溶液等体积混合于10 mL具塞试管中,分别置于85、90、95、100 °C水浴中。反应4、8、12、16、20、24 min,取出置于4 °C条件下停止反应,测定其荧光值。

#### 1.3.4 pH值对荧光性AGEs生成量的影响

BSA和果糖分别溶解于pH 6.5、7.0、7.5的磷酸盐缓冲溶液中(0.05 mol/L)中。2 mL pH值分别为6.5、7.0、7.5的果糖溶液(0.2 mol/L)和2 mL pH值分别为6.5、7.0、7.5的BSA溶液(4 mg/mL)等体积混合于10 mL具塞试管中。沸水浴中反应4、8、12、16、20、24 min,取出置于4 °C条件下停止反应,测定其荧光值。

#### 1.3.5 荧光性AGEs生成过程中果糖、氨基酸的消耗

BSA和果糖均溶解于pH 7.4、0.05 mol/L磷酸盐缓冲溶液中。2 mL 0.2 mol/L果糖溶液与4 mg/mL BSA溶液等体积混合于10 mL具塞试管中,沸水浴中反应4、8、12、16、20、24 min,取出置于4 °C条件下停止反应,测定果糖和氨基酸含量。

#### 1.3.6 荧光值的测定

荧光性AGEs采用F-4500荧光分光光度计进行测定<sup>[10]</sup>。仪器参数为:激发波长370 nm,发射波长440 nm;狭缝宽度5.0 nm;光电倍增管电压700 V;响应时间0.5 s。样品的荧光值采用公式(1)计算。

$$F = F_{\text{测定}} - F_{\text{对照}} \quad (1)$$

式中: $F$ 为样品相对荧光值/AU; $F_{\text{测定}}$ 为样品荧光测定值/AU; $F_{\text{对照}}$ 为相应浓度样品混合后立即测得的荧光值/AU。

#### 1.3.7 果糖含量的测定

样品中果糖含量采用高效液相色谱法测定<sup>[11]</sup>。缓慢加入乙酸锌溶液(219 g/L)和亚铁氰化钾溶液(106 g/L)各50  $\mu$ L,以沉淀样品中的蛋白质。样品9 800 r/min离心10 min,取上清液。采用配有示差检测器的高相液相色谱仪,经氨基柱分离,外标法测定上清液中果糖含量。液相条件:柱温:40 °C;流动相:乙腈-水(体积比为4:1),流速:1.2 mL/min;进样体积:5  $\mu$ L。取 $2.78 \times 10^{-2}$ 、 $5.56 \times 10^{-2}$ 、 $6.94 \times 10^{-2}$ 、 $8.33 \times 10^{-2}$ 、 $11.10 \times 10^{-2}$  mol/L果糖溶液作为标样,以浓度为纵坐标,峰面积为横

坐标绘制标准曲线, 利用标准曲线 ( $y=3 \times 10^{-9}x + 0.008\ 53$ ,  $R^2=0.994\ 6$ ) 计算果糖含量 (mol/L)。

### 1.3.8 氨基酸含量的测定

样品中氨基酸含量采用OPA试剂法测定<sup>[12]</sup>。将40 mg OPA用1 mL甲醇溶解, 并与25 mL 0.1 mol/L乙酸钠、2.5 mL 20 g/100 mL SDS、100  $\mu$ L  $\beta$ -巯基乙醇混合, 蒸馏水定容至50 mL, 即得到OPA试剂。量取0.25、0.50、0.75、1.00、1.25、1.50、1.75 mL浓度为 $2.85 \times 10^{-4}$  mol/L的亮氨酸标准溶液, 分别加蒸馏水至2 mL, 加入2 mL OPA试剂, 室温条件下反应2 min, 于340 nm波长处测定吸光度, 以浓度为纵坐标, 吸光度为横坐标绘制标准曲线, 利用标准曲线 ( $y=4 \times 10^{-4}x - 2 \times 10^{-5}$ ,  $R^2=0.995\ 4$ ) 计算样品中氨基酸含量 (mol/L)。

### 1.3.9 荧光性AGEs生成的动力学分析

荧光性AGEs生成的反应级数及速率常数利用方程(2)~(5), 运用最小二乘法拟合得出。

荧光性AGEs生成的速率公式为:

$$\frac{dC}{dt} = K \times C^n \quad (2)$$

变换方程形式, 反应程度可被描述为:

$$C - C_0 = Kt \quad (n=0) \quad (3)$$

$$\ln \left( \frac{C}{C_0} \right) = Kt \quad (n=1) \quad (4)$$

$$C^{1-n} - C_0^{1-n} = Kt(1-n) \quad (n \neq 0) \quad (5)$$

式中:  $n$ 为反应级数;  $K$ 为速率常数;  $t$ 为反应时间/min;  $C$ 为 $t$ 时刻的指标值/AU;  $C_0$ 为初始指标值/AU。

将数据通过Matlab软件, 运用最小二乘法进行拟合, 得出反应级数和速率常数。

反应活化能 ( $E_a$ ) 利用Arrhenius方程的定积分式(6)计算。

$$\ln \frac{K_2}{K_1} = \frac{E_a}{R} \times \frac{T_2 - T_1}{T_2 T_1} \quad (6)$$

式中:  $K_1$ 、 $K_2$ 分别为 $T_1$ 、 $T_2$ 时刻对应的速率常数/(AU/min);  $E_a$ 为活化能/(kJ/mol);  $R$ 为气体常数/(kJ/(mol·K));  $T$ 为绝对温度/K。

## 1.4 数据处理

所有实验均进行3次重复, 图中数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 显著性分析采用DPS v7.05软件进行, 显著性水平为0.05, 多重比较分析采用Duncan法(新复极差法)。

## 2 结果与分析

### 2.1 BSA质量浓度对荧光性AGEs生成量的影响

BSA分子结构中的游离氨基是荧光性AGEs生成所必须的活性基团<sup>[13]</sup>, 由图1可知, 随着反应时间延长和

BSA质量浓度的增加, 荧光性AGEs生成量均显著增加 ( $P < 0.05$ )。反应24 min后, BSA质量浓度分别为1、2、3、4 mg/mL时, 反应体系的相对荧光值分别为292.31、486.40、545.52、650.92 AU。蛋白质中赖氨酸残基的侧链、精氨酸的胍基以及半胱氨酸均是生成AGEs的活性基基团<sup>[14]</sup>, 随着BSA质量浓度的增加, 氨基基团浓度也随之增多, 反应物分子之间的碰撞作用增大, 反应速率加快, 荧光性AGEs积累加剧。

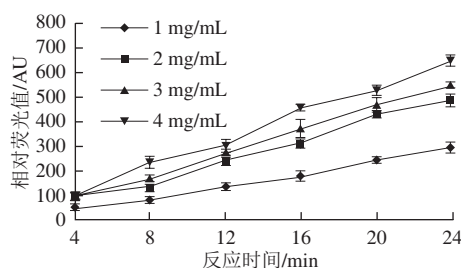


图1 BSA质量浓度对荧光性AGEs生成量的影响

Fig. 1 Effects of BSA concentration on the formation of fluorescent AGEs

### 2.2 果糖浓度对荧光性AGEs生成量的影响

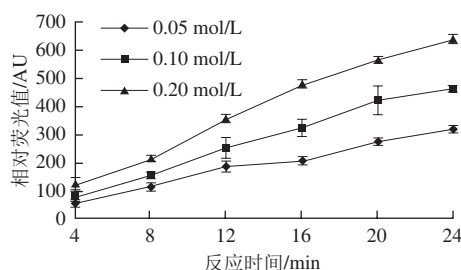


图2 果糖浓度对荧光性AGEs生成量的影响

Fig. 2 Effects of fructose concentration on the formation of fluorescent AGEs

果糖侧链的开环结构是荧光性AGEs生成过程中的活性基团<sup>[15]</sup>, 由图2可知, 随着果糖浓度的增加, 荧光性AGEs生成量显著增加 ( $P < 0.05$ )。反应时间为4 min时, 果糖添加量为0.20、0.05 mol/L之间的相对荧光值差值为64.94 AU。随着反应时间的延长, 这种差异趋势逐渐变大。反应24 min后, 相对荧光值差值达到了322.56 AU, 相当于4 min时的4.97倍。果糖浓度越大, 侧链的开环结构也就越多。这种开环结构不仅可作为反应底物, 而且可催化反应进行<sup>[16]</sup>, 加速荧光性AGEs生成。

### 2.3 温度对荧光性AGEs生成量的影响

温度不仅可改变反应物的旋光性, 而且影响反应物活性<sup>[17]</sup>, 由图3可知, 随温度的升高, 荧光性AGEs含量呈现不断增大的趋势。在85、100  $^{\circ}$ C反应条件下, 4~24 min之内, 相对荧光差值分别为22.57、76.46、135.44、242.34、319.03、383.87 AU。温度升高, 分子之间碰撞加剧, 反应速率增大。温度亦可增加底物的反应活性, 果糖的开环结构随温度的升高而增加<sup>[18]</sup>。此外, 果糖在高温条件下, 产生C2、C3活性碎片, 这些

碎片具有较高的反应活性<sup>[19]</sup>。这些因素共同作用,加速了荧光性AGEs的生成。Sun Xiaohua等<sup>[20]</sup>探究了加热温度、加热时间对牛肉中2种AGEs代表物质羧甲基赖氨酸(*N*<sup>ε</sup>-carboxymethyllysine, CML)和羧乙基赖氨酸(*N*<sup>ε</sup>-carboxyethyllysine, CEL)生成量的影响,同样表明CML与CEL的生成量均随加热温度升高和加热时间的延长而增加。因此在食品生产中,在合理范围内降低加热温度、缩短加热时间均是抑制AGEs生成的有效措施。

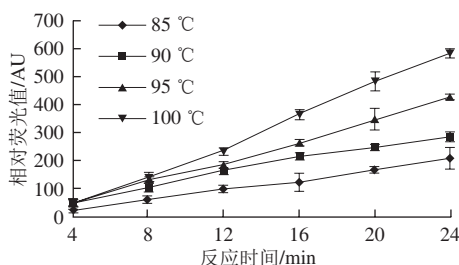


图3 温度对荧光性AGEs生成量的影响

Fig. 3 Effects of temperature on the formation of fluorescent AGEs

## 2.4 pH值对荧光性AGEs生成量的影响

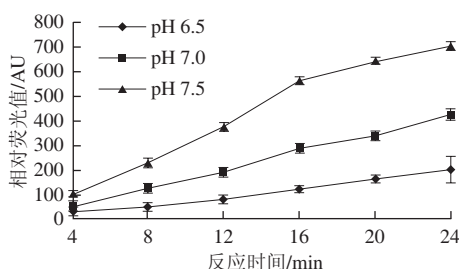


图4 pH值对荧光性AGEs生成量的影响

Fig. 4 Effects of pH on the formation of fluorescent AGEs

荧光性AGEs在弱酸、碱性条件下均可生成, pH值较小时, 氨基完全质子化, 羧基反应停止。当pH>3时, 反应速率随pH值的升高而加快<sup>[21]</sup>。由图4可知, 荧光性AGEs的生成量随pH值的增加而显著增加 ( $P<0.05$ )。pH值为6.5时, 荧光性AGEs生成量较小, 反应的滞留时间(延长直线, 交于x轴的时间值为滞留时间)较长<sup>[22]</sup>, 且整个反应的速率也较低。这是由于酸性条件下, 氨基易被质子化, 抑制反应进行所导致的。pH值为7.5时, 荧光性AGEs生成量均显著增加 ( $P<0.05$ )。这是由于在美拉德反应中, 反醇醛、烯醇化和脱水反应等糖降解方式都受到碱催化<sup>[23]</sup>, 致使反应物活性提高, 荧光性AGEs生成加剧。

## 2.5 荧光性AGEs生成过程中的底物消耗

还原糖和氨基作用可生成Amadori产物, Amadori产物不稳定, 进一步反应生成AGEs<sup>[24]</sup>。由图5、6可知, 随着反应时间的延长, 果糖和氨基酸含量均呈现不断下降的趋势, 这是由于果糖和氨基酸参加反应不断消耗所致。在4~24 min之内, 果糖和氨基酸的消耗量分别为 $1.25 \times 10^{-2}$  mol/L和 $1.92 \times 10^{-4}$  mol/L。果糖的消耗量要高

于氨基酸, 这可能与果糖侧链的开环结构催化反应进行有关<sup>[25]</sup>。此外, 果糖还会参与糖降解、焦糖化、糖异构化等反应, 造成果糖的额外消耗。糖基化的某些中间产物如Amadori重排产物等, 在烯醇化时会释放氨基基团<sup>[26]</sup>, 也会填补一部分消耗的氨基。

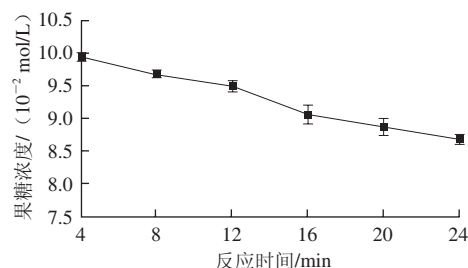


图5 荧光性AGEs生成过程中果糖的消耗

Fig. 5 Fructose depletion during the formation of fluorescent AGEs

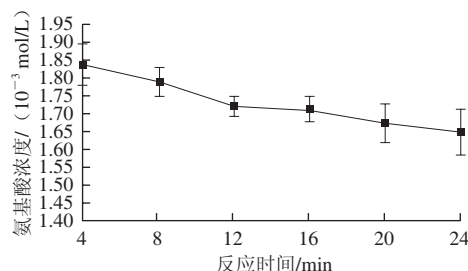


图6 荧光性AGEs生成过程中氨基酸的消耗

Fig. 6 Amino acid depletion during the formation of fluorescent AGEs

## 2.6 荧光性AGEs生成的动力学

表1 不同生成条件下荧光性AGEs生成的反应级数和速率常数

Table 1 Reaction order and rate constant for the formation of fluorescent AGEs under different forming conditions

影响因素	变量	反应级数n	速率常数K/ (AU/min)
BSA质量浓度/ (mg/mL)	1	0	12.60
	2	0	20.94
	3	0	23.22
	4	0	27.12
果糖浓度/ (mol/L)	0.05	0	12.87
	0.10	0	20.13
	0.20	0	27.00
温度/°C	85	0	8.67
	90	0	11.98
	95	0	18.71
	100	0	27.54
pH	6.5	0	8.89
	7.0	0	18.66
	7.5	0	31.57

反应级数不仅体现浓度对反应速率的影响程度, 也是推测反应机理的重要依据<sup>[27]</sup>, 动力学参数中, 首先需要确定的就是反应级数。表1为最小二乘法拟合得到的反应级数和速率常数。



由表1可知,在不同反应条件下,荧光性AGEs生成的反应级数均为0级。Hassan等<sup>[28]</sup>得出,棕色色素生成的动力学符合0级反应。Charissou等<sup>[29]</sup>也指出,AGEs的代表物质CML的生成也符合0级反应。本实验得出荧光性AGEs的生成也符合0级反应,与上述结果一致。

速率常数 $K$ 是化学动力学中一个非常重要的参数,可直接体现化学反应速率的快慢。由表1可知,随着底物浓度、温度及pH值的增加,荧光性AGEs生成的速率常数均不断增大。Chen Sulin等<sup>[30]</sup>同样表明,在糖-甘氨酸模型中,棕色色素生成的速率常数随底物浓度、反应温度的升高而增加。温度从85℃升高到100℃期间,荧光性AGEs生成的速率常数从8.67 AU/min增加到27.54 AU/min,增加了2.18倍。pH值为7.5时,荧光性AGEs生成的速率常数达到最大值31.57 AU/min。

$E_a$ 是分子从常态转变为容易发生化学反应的活跃状态所需要的能量,它的大小可衡量化学反应发生的难易程度。刘春霞<sup>[31]</sup>采用果糖-赖氨酸模拟反应体系,得出CML生成的 $E_a$ 为86.11 kJ/mol,本研究得出荧光性AGEs生成的活化能为70.58 kJ/mol,与上述研究接近。Ajandouz等<sup>[32]</sup>采用葡萄糖-蛋白反应模型,得出类黑素形成的活化能在92~164 kJ/mol之间<sup>[32]</sup>。也有研究采用葡萄糖-赖氨酸模拟体系,分别在pH 4、7条件下,90~110℃加热,发现形成Amadori产物的活化能分别为26 kJ/mol与42 kJ/mol<sup>[33]</sup>。本研究得出荧光性AGEs生成的活化能为70.58 kJ/mol,比类黑素形成的活化能低,但比Amadori产物形成的活化能高,这说明荧光性AGEs的生成比类黑素容易,但比Amadori产物难。

## 2.7 荧光性AGEs生成过程中底物消耗动力学

**表2 荧光性AGEs生成过程中底物消耗的反应级数及速率常数**  
**Table 2 Reaction order and rate constant for substrate depletion during the formation of fluorescent AGEs**

底物	反应级数 $n$	速率常数 $K$ / (mmol/min)
果糖	1	5.4
氨基酸	1	7.0

底物消耗包括果糖和氨基酸的消耗。表2为荧光性AGEs生成过程中,底物消耗的反应级数和速率常数。经动力学拟合,果糖的减少符合1级反应动力学,速率常数 $K$ 为5.4 mmol/min。氨基酸的减少符合1级反应动力学,速率常数 $K$ 为7.0 mmol/min。Labuza等<sup>[34]</sup>采用乳糖-赖氨酸体系,在水分活度为0.3~0.6时,分别在25~45℃加热,指出赖氨酸的消耗符合1级反应动力学;Vernin等<sup>[35]</sup>采用葡萄糖-脯氨酸模拟体系,在50~65℃期间反应,表明葡萄糖的消耗符合1级反应动力学。本实验也得出氨基酸与果糖的消耗均符合1级反应动力学,与上述研究一致。但Jousse等<sup>[36]</sup>指出底物减少符合2级反应动力学,这可能由反应条件的差异造成。

## 3 结论

本研究采用牛血清白蛋白/果糖模拟体系研究了不同BSA质量浓度、果糖浓度、温度及pH值条件下,荧光性AGEs的生成情况。随着BSA质量浓度、果糖浓度、温度及pH值的增加,荧光性AGEs生成量均呈现增加的趋势。体系反应24 min后,最大荧光值为637.58 AU,果糖和氨基酸分别减少了 $1.25 \times 10^{-2}$  mol/L和 $1.92 \times 10^{-4}$  mol/L,果糖消耗量相当于氨基酸消耗量的65.10倍,高于氨基酸。荧光性AGEs的生成符合0级反应,最大速率常数 $K$ 为31.57 AU/min,反应活化能 $E_a$ 为70.58 kJ/mol。底物的消耗符合1级反应。

## 参考文献:

- [1] WANG Z, JIANG Y, LIU N, et al. Advanced glycation end-product  $N^{\epsilon}$ -carboxymethyl-lysine accelerates progression of atherosclerotic calcification in diabetes[J]. *Atherosclerosis*, 2012, 221(2): 387-396. DOI:10.1016/j.atherosclerosis.2012.01.019.
- [2] LUGT T V D, WESELER A R, OPPERHUIZEN A, et al. Effect of food-derived advanced glycation end products on macrophage-like cells: implications for human health?[J]. *Toxicology Letters*, 2016, 258: 160. DOI:10.1016/j.toxlet.2016.06.1607T.
- [3] KOUIDRAT Y, AMAD A, ARAI M, et al. Advanced glycation end products and schizophrenia: a systematic review[J]. *Journal of Psychiatric Research*, 2015, 66/67: 112-117. DOI:10.1016/j.jpsychires.2015.04.023.
- [4] WANG X L, YU T, YAN Q C, et al. AGEs promote oxidative stress and induce apoptosis in retinal pigmented epithelium cells RAGE-dependently[J]. *Journal of Molecular Neuroscience*, 2015, 56(2): 449-460. DOI:10.1007/s12031-015-0496-7.
- [5] MALENE W P, RIKKE V H, JEANETTE M A, et al. Advanced glycation endproducts in food and their effects on health[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2013, 60(10): 10-37. DOI:10.1016/j.fct.2013.06.052.
- [6] MASAKO N, MIDORI K, SHIGERU O, et al. The pentosidine concentration in human blood specimens is affected by heating[J]. *Amino Acids*, 2013, 44(6): 1451-1456. DOI:10.1007/s00726-011-1180-z.
- [7] SILVIA B M, PATRICIO R S, PILAR B. Fluorescence from the maillard reaction and its potential applications in food science[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2005, 45(6): 483-495. DOI:10.1080/10408390591034472.
- [8] LIU S C, YANG D J, JIN S Y, et al. Kinetics of color development, pH decreasing, and anti-oxidative activity reduction of Maillard reaction in galactose/glycine model systems[J]. *Food Chemistry*, 2008, 108(2): 533-541. DOI:10.1016/j.foodchem.2007.11.006.
- [9] 李伶俐, 曾茂茂, 陈洁, 等. 葡萄糖/半胱氨酸美拉德反应动力学的研究[J]. *食品工业科技*, 2011, 32(10): 73-75.
- [10] 房红娟, 李红姣, 张双凤, 等. 加工条件对BSA-Glucose模拟体系中晚期糖基化末端产物形成的影响[J]. *食品科学*, 2012, 33 (21): 6-10.
- [11] SCHMID T, BAUMANN B, HIMMELSBACH M, et al. Analysis of saccharides in beverages by HPLC with direct UV detection[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2016, 408(7): 1871-1878. DOI:10.1007/s00216-015-9290-1.

- [12] FAYLE S E, HEALY J P, BROWN P A, et al. Novel approaches to the analysis of the Maillard reaction of proteins[J]. Electrophoresis, 2001, 22(8): 1518-1525. DOI:10.1002/1522-2683(200105)22:8<1518::AID-ELPS1518>3.0.CO;2-U.
- [13] LARS L, RYSIEWSKI K, DUMPITAK C, et al. Kinetics of advanced glycation end products formation on bovine serum albumin with various reducing sugars and dicarbonyl compounds in equimolar ratios[J]. Rejuvenation Research, 2012, 15(2): 201-205. DOI:10.1089/rej.2011.1284.
- [14] SHARMA C, KAUR A, THIND S S, et al. Advanced glycation end-products (AGEs): an emerging concern for processed food industries[J]. Journal of Food Science and Technology, 2015, 52(12): 7561-7576. DOI:10.1007/s13197-015-1851-y.
- [15] NGUYEN H T, FELS H J V D, BOEKEL M A J S V. Kinetics of *N*<sup>ε</sup>(carboxymethyl)lysine formation in aqueous model systems of sugars and casein[J]. Food Chemistry, 2016, 192: 125-133. DOI:10.1016/j.foodchem.2015.06.110.
- [16] AJANDOUZ E H, PUIGSERVER A. Nonenzymatic browning reaction of essential amino acids: effect of pH on caramelization and Maillard reaction kinetics[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1999, 47(5): 1786-1793. DOI:10.1021/jf980928z.
- [17] BRANDS C M J, BOEKEL M A J S V. Kinetic modeling of reactions in heated monosaccharide-casein systems[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(23): 6725-6739. DOI:10.1021/jf011164h.
- [18] ALEXANDRE F, HERAUD N, OLIVER N, et al. Arginine-derived advanced glycation end products generated in peptide-glucose mixtures during boiling[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(16): 3626-3635. DOI:10.1021/jf4050183.
- [19] AJOUZ E H, TCHIAKPE L S, DALLE O F, et al. Effects of pH on caramelization and Maillard reaction kinetics in fructose-lysine model systems[J]. Journal of Food Science, 2001, 66(7): 926-931. DOI:10.1111/j.1365-2621.2001.tb08213.x.
- [20] SUN X, TANG J, JING W, et al. Formation of advanced glycation endproducts in ground beef under pasteurisation conditions[J]. Food Chemistry, 2015, 172: 802-807. DOI:10.1016/j.foodchem.2014.09.129.
- [21] WU Q, LI S Y, YANG T, et al. Inhibitory effect of lotus seedpod oligomeric procyanidins on advanced glycation end product formation in a lactose-lysine model system[J]. Electronic Journal of Biotechnology, 2015, 18(2): 68-76. DOI:10.1016/j.ejbt.2014.10.005.
- [22] ROZYCKI S D, BUERA M P, PIAGENTINI A M. Advances in the study of the kinetics of color and fluorescence development in concentrated milk systems[J]. Journal of Food Engineering, 2010, 101(1): 59-66. DOI:10.1016/j.jfoodeng.2010.06.009.
- [23] 邵澜媛, 周建伟, 刘东红. 食品中美拉德反应机理及动力学模型的研究进展[J]. 中国食品学报, 2012, 12(12): 103-112.
- [24] 李巨秀, 房红娟, 胡微祥, 等. 食品中晚期糖基化末端产物的研究进展[J]. 食品科学, 2011, 32(21): 293-297.
- [25] CHRISTOPHER J G, IONNALAGADDA J G, JONNALAGADDA R R, et al. Molecular insight of non enzymatic glycosylation of collagen-therapeutic perspective of dietary carbohydrates[J]. Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre, 2013, 2(2): 119-125. DOI:10.1016/j.bcdf.2013.09.004.
- [26] MARTINS S I F S, BOEKEL M A J S. Key intermediates in early stage Maillard reaction: kinetic analysis[J]. International Congress, 2002, 1245: 469-470. DOI:10.1016/S0531-5131(02)00904-4.
- [27] 马伟, 张持, 李倩, 等. 反应活化能与反应级数的测定[J]. 化工高等教育, 2015, 32(4): 63-66. DOI:10.3969/j.issn.1000-6168.2015.04.016.
- [28] HASSAN A, ASSAN A, VERONIQUE D, et al. Effects of temperature and pH on the kinetics of caramelisation, protein cross-linking and Maillard reactions in aqueous model systems[J]. Food Chemistry, 2008, 107(3): 1244-1252. DOI:10.1016/j.foodchem.2007.09.062.
- [29] CHARISSOU A, AIT-AMEUR L, BIRLOUEZ-ARAGON I. Kinetics of formation of three indicators of the Maillard reaction in model cookies: influence of baking temperature and type of sugar[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55(11): 4532-4539. DOI:10.1021/jf063024j.
- [30] CHEN S L, JIN S Y, CHEN C S. Relative reactivities of glucose and galactose in browning and pyruvaldehyde formation in sugar/glycine model systems[J]. Food Chemistry, 2005, 92(4): 597-605. DOI:10.1016/j.foodchem.2004.09.005.
- [31] 刘春霞. 果糖赖氨酸体系中羧甲基赖氨酸和羧乙基赖氨酸的形成研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2015: 34.
- [32] AJANDOUZ E H, DESSEAUX V, TAZI S, et al. Effects of temperature and pH on the kinetics of caramelisation, protein cross-linking and Maillard reactions in aqueous model systems[J]. Food Chemistry, 2008, 107(3): 1244-1252. DOI:10.1016/j.foodchem.2007.09.062.
- [33] BOEKEL M A J S V. Kinetic aspects of the Maillard reaction: a critical review[J]. Food, 2001, 45(3):150-159. DOI:10.1002/1521-3803(20010601)45:3<150::AID-FOOD150>3.0.CO;2-9
- [34] LABUZA T P, SALTMARCH M. Kinetics of browning and protein quality loss in whey powders during steady state and nonsteady state storage conditions[J]. Journal of Food Science, 2006, 47(1): 92-96. DOI:10.1111/j.1365-2621.1982.tb11035.x.
- [35] VERNIN G L, DEBRAUWER G M, VERNIN R M, et al. Off flavors in foods and beverages[J]. Flavour and Fragrance Journal, 1992, 8(4): 569-623.
- [36] JOUSSE F, JONGEN T, AGTEROF W, et al. Simplified kinetic scheme of flavor formation by the Maillard reaction[J]. Journal of food Science, 2006, 67(7): 2534-2542. DOI:10.1111/j.1365-2621.2002.tb08772.x.