

甲鱼抗氧化肽对非酶糖基化反应及其终产物的抑制作用

王 楠¹, 章涵钰¹, 楼 博¹, 王 伟², 史学波³

(¹浙江树人学院生物与环境工程学院 杭州 310015

²浙江省农业科学院农产品质量标准化研究所 杭州 310021

³浙江中得农业集团有限公司 杭州 310021)

摘要 建立体外非酶糖基化蛋白质-还原糖模拟反应体系的基础上,探究甲鱼抗氧化肽对非酶糖基化反应的抑制率(NEG)和晚期糖基化终末产物(AGEs)抑制率的影响。结果表明:甲鱼抗氧化肽能够抑制非酶糖基化反应和晚期糖基化终产物的产生,具有剂量依赖性。当甲鱼抗氧化肽处理蛋白质-还原糖体系 21 d 时,1.00 mg/mL 甲鱼抗氧化肽对 NEG 的抑制率达 68.79%;当处理 28 d 时,1.00 mg/mL 甲鱼抗氧化肽对 AGEs 的抑制率达 89.35%。红外光谱结果也证实了甲鱼抗氧化肽能够抑制糖基化反应进程。

关键词 甲鱼抗氧化肽; 非酶糖基化反应; 晚期糖基化终末产物; 抑制作用

文章编号 1009-7848(2022)02-0058-07 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2022.02.007

非酶糖基化(Non-enzymatic gluco-sylation, NEG)是一系列复杂的非酶促反应,是蛋白质-还原糖发生美拉德反应的第 1 步,形成席夫碱和 Amadori 等可逆的产物,经过氧化、重排、交联等过程,最终形成不可逆的晚期糖基化终末产物(Advanced glycation end products, AGEs)。AGEs 不仅在加工食品中广泛存在,在人体内由于还原糖类羰基化合物和蛋白类氨基化合物的存在也进行非酶糖基化反应。国内外研究证实 AGEs 对人体有影响,能导致糖尿病并发症视网膜病变(DR)^[1]、动脉粥样硬化^[2]、组织老化^[3]。AGEs 形成机制的复杂性给 AGEs 抑制剂的研究带来很多困难。AGEs 在形成过程中经历氧化过程,提示抗氧化剂可能对 AGEs 的形成有抑制作用。目前,对食源性 AGEs 抑制剂的研究尚处于起步阶段。有研究证实天然酚类物质具有显著的抗糖基化能力,能有效抑制 AGEs 的生成,对许多 AGEs 有关疾病起到一定预防和治疗功效^[4]。Ferchichi 等^[5]研究证实:从金丝桃科和叶绿素科分级分离的多酚对 AGEs 有抑制作用,对预防微血管疾病及其并发症有一定潜力。

收稿日期: 2021-02-11

基金项目: 浙江省自然科学基金项目(LY17C200012)

作者简介: 王楠(1981—),女,博士,教授

E-mail: xiaofeiyu0708@163.com

近年来,抗氧化肽成为国内外研究最多的生物活性肽之一。目前有大豆、玉米、乳清、鱼、贻贝和虾等多种抗氧化肽^[6]。本研究在建立体外非酶糖基化模拟体系的基础上,在反应体系中添加抗氧化肽,探究抗氧化肽对 AGEs 的影响作用,为拓展抗氧化肽的新用途提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

甲鱼,市售;D-葡萄糖、肌肽,上海沪试实验室器材股份有限公司;标准牛血清白蛋白(BSA)、乙二胺四乙酸二钠(EDTA)、硝基四氮唑蓝(NBT)(100 mg 溶于 0.1 mol/L pH=10.8 的碳酸盐缓冲液),SIGMA 公司;注射用青霉素钠、硫酸链霉素(双抗),Solarbio 公司;其它试剂均为分析纯级;试验用水均为超纯水。

1.2 仪器与设备

UV-124 型紫外-可见分光光度计,岛津有限公司;F-7000 荧光分光光度计,日立高新技术公司;TENSOR27 型傅里叶变换红外光谱仪,德国布鲁克公司;PHS-3C pH 计,杭州奥立龙仪器有限公司;Biofuge Primo R 型台式高速冷冻离心机,德国贺利氏公司;FD-1D-50 型冷冻干燥机,北京医康实验仪器有限公司;恒温培养箱,上海博迅实业有限公司医疗设备厂;超净台,苏州净化设备有限公司;水浴锅,上海亚荣生化仪器厂。

1.3 试验方法

1.3.1 甲鱼抗氧化肽的制备 甲鱼抗氧化肽按以下流程制备：甲鱼宰杀→去脂→脱壳→蛋白酶酶解→灭酶(90 °C, 15 min)→离心过滤(4 000 r/min, 10 min)→保存、备用。

1.3.2 甲鱼抗氧化肽分子质量的测定 参考国家标准 GB/T 22492-2008《大豆肽粉》的方法测定肽的相对分子质量分布^[7]。

1.3.3 DPPH·清除能力的测定 DPPH·清除率测定参考 Umayaparvathi 等^[8]的研究方法，取 0.1 mL 蛋白酶解液，加入 2.8 mL 1×10⁻⁴ mol/L DPPH·无水乙醇溶液，混匀后在室温下避光反应 20 min，并在 4 000 r/min 下离心 10 min，取上清液在波长 517 nm 处测定吸光度，空白组以等体积无水乙醇溶液代替 DPPH·溶液，对照组以等体积蒸馏水代替样品溶液，并以等体积蒸馏水和无水乙醇混合液空白调零。清除率(*I*)按下式计算：

$$I(\%) = \left(1 - \frac{A_i - A}{A_0}\right) \times 100 \quad (1)$$

式中，*A*₀——对照组吸光度；*A*_i——样品组吸光度；*A*——空白组吸光度。

1.3.4 体外蛋白质-还原糖糖基化体系建立 参考张丽娜等^[9]、李军等^[10]和吴光杰等^[11]的研究方法建立蛋白质-还原糖体系。无菌条件下，在稀释后的 PBS 溶液中加入 BSA、D-葡萄糖、EDTA、青霉素钠、硫酸链霉素，使各组分终含量为 EDTA 8 μmol/L、双抗 100 U/mL、BSA 20 mg/mL、D-葡萄糖 80 μmol/L。在上述配置好的溶液中加入甲鱼抗氧化肽，配置成质量浓度为 0.25, 0.50, 0.75, 1.00 mg/mL 的溶液。同时以肌肽作为阳性对照。保鲜膜覆盖，在 37 °C 生化培养箱中避光温孵，温孵时间分别为 3, 7, 14, 21, 28 d。分别设不加样品组 a；不加 D-葡萄糖、不加样品组 b；不加 BSA、不加样品组 c；不加 BSA 组 d；不加 D-葡萄糖组 e, 5 组对照组。试验设 3 个平行。

分别取 NEG 反应体系反应的第 3, 7, 14, 21, 28 天时各组的反应液 0.1 mL，加入 4 mL NBT, 37 °C 温孵 15 min 后，立即加入 15% 乙酸 0.1 mL，并于冰水浴中终止反应，于波长 530 nm 处测定其吸光值 *A*，甲鱼抗氧化肽对 NEG 反应的抑制率(*IR*_{NEG})按式(2)计算：

$$IR_{NEG}(\%) = 1 - \frac{A_{\text{样品}} - A_{\text{对照 a}} - A_{\text{对照 b}} - A_{\text{对照 c}}}{A_{\text{对照 a}} - A_{\text{对照 b}} - A_{\text{对照 c}}} \times 100 \quad (2)$$

分别取 AGEs 生成反应体系反应的第 3, 7, 14, 21, 28 天时各组的反应液 1 mL，检测其荧光值 *F*，检测条件为：激发波长 370 nm、发射波长 440 nm、狭缝 5 mm。甲鱼抗氧化肽对 AGEs 生成的抑制率(*IRAGEs*)按式(3)计算：

$$IR_{AGEs}(\%) = 1 - \frac{F_{\text{样品}} - F_{\text{对照 d}} - F_{\text{对照 e}}}{F_{\text{对照 a}} - F_{\text{对照 b}} - F_{\text{对照 c}}} \times 100 \quad (3)$$

1.3.5 红外光谱分析 样品冷冻干燥后将样品与干燥的 KBr(质量比 1:100)混合置于玛瑙研钵中，研磨均匀后的粉末压制片，光谱范围 4 000~400 cm⁻¹，扫描次数 32 次。

1.3.6 数据统计分析 本试验数据以平均数±标准差表示(*x*±*s*)，用 SPSS 16.0 统计软件分析。单因素方差分析检验，以 *P*<0.05 为差异显著，*P*<0.01 为差异极显著。

2 结果与分析

2.1 不同蛋白酶制备甲鱼抗氧化肽的 DPPH·清除率

由表 1 可知，4 种蛋白酶分别以最佳的酶解条件酶解甲鱼蛋白 4 h 时，中性蛋白酶酶解后的酶解液 DPPH·清除率最高，达(76.45±3.16)%，明显优于其它 3 种酶，故选用中性蛋白酶解甲鱼蛋白制备甲鱼抗氧化肽。

表 1 不同蛋白酶制备甲鱼抗氧化肽的 DPPH·清除率

Table 1 DPPH· clearance of turtle antioxidant peptides prepared by different proteases

酶种类	温度/°C	pH 值	DPPH·清除率/%
胰蛋白酶	37	8.0	22.35 ± 1.23
酸性蛋白酶	40	3.0	63.47 ± 1.97
胃蛋白酶	37	7.0	52.90 ± 2.30
中性蛋白酶	50	7.0	76.45 ± 3.16

2.2 甲鱼抗氧化肽分子质量分布

由图 1 可知，甲鱼抗氧化肽的相对分子质量在 1 000 u 以上的占总组分的 30.32%；相对分子质量在 1 000~200 u 范围占总组分的 63.23%；相对分子质量在 200~128 u 范围占总组分的 4.24%；

相对分子质量在 128 u 以下的占总组分的 2.21%，甲鱼抗氧化肽分子质量主要分布在 1 000~200 u。Zhong 等^[12]报道分子质量<1 ku 的鲢鱼加工副产品蛋白质肽 SCPH-V 具有较高的 DPPH·清除率。张东杰等^[13]的研究表明，分子质量在 156~1 439 u 范围的小分子肽具有较高的抗氧化活性。李桂峰等^[14]的研究表明，用木瓜蛋白酶水解双孢菇蛋白质制得的 600~2 600 u 之间的肽具有很好的·OH 清除率以及较好的 O₂·清除率。Mendis 等^[15]和庄永亮等^[16]认为肽类物质的相对分子质量低于 3 000 u 时具有良好的抗氧化性。Alemán 等^[17]的研究表明分子质量在 500~1 400 u 范围的鱿鱼胶原蛋白酶解物具有较好的抗氧化活性。本试验研究结果与以上文献报道结果一致，即具有较高抗氧化活性的肽的相对分子质量相对较小。

2.3 甲鱼抗氧化肽对蛋白质-还原糖糖基化体系的影响

2.3.1 甲鱼抗氧化肽对 NEG 反应的影响 如图 2 所示，在糖基化的开始阶段，随着甲鱼抗氧化肽和肌肽质量浓度的增加，NEG 的抑制率也增加，并呈正相关。随着处理时间的延长，相同质量浓度的肌肽和甲鱼抗氧化肽对 NEG 反应的抑制率呈先升后降低的趋势，说明当反应到 28 d 时底物可能已基本消耗完。当肌肽质量浓度为 1.00 mg/mL、温孵 7 d 时，对 NEG 反应的抑制率达 76.17%，然而从第 7 天开始，肌肽对糖基化反应体系产生的 NEG 反应的抑制率明显降低，波动较大。

各质量浓度的甲鱼抗氧化肽对糖基化反应的各个阶段的 NEG 反应抑制率都维持在较高水平，波动较小。甲鱼抗氧化肽质量浓度为 1.00 mg/mL、温孵时间为 21 d 时，对 NEG 反应的抑制率达到 68.79%。

2.3.2 甲鱼抗氧化肽对蛋白质-还原糖糖基化终产物 AGEs 的影响 如图 3 所示，随着甲鱼抗氧化肽和阳性对照肌肽质量浓度的增加，二者对蛋白质-还原糖糖基化终产物 AGEs 生成的抑制率逐渐增加。随着处理时间的延长，相同质量浓度的甲鱼抗氧化肽和肌肽对 AGEs 的抑制率逐渐增加，说明甲鱼抗氧化肽和肌肽对蛋白质-还原糖糖基化终产物 AGEs 的抑制率均具有时间和剂量依赖性，且均呈正相关。

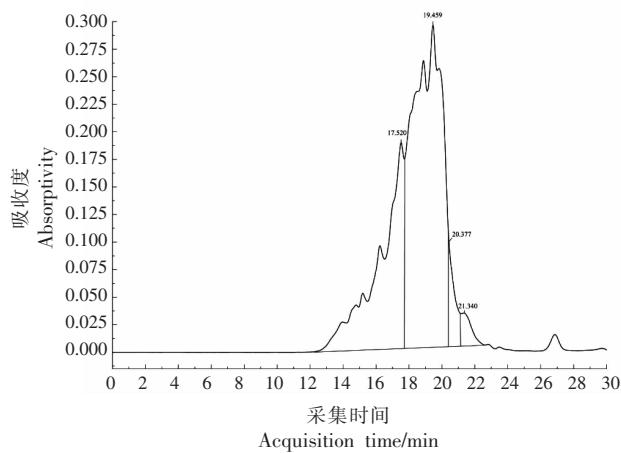


图 1 甲鱼抗氧化肽高效液相色谱图

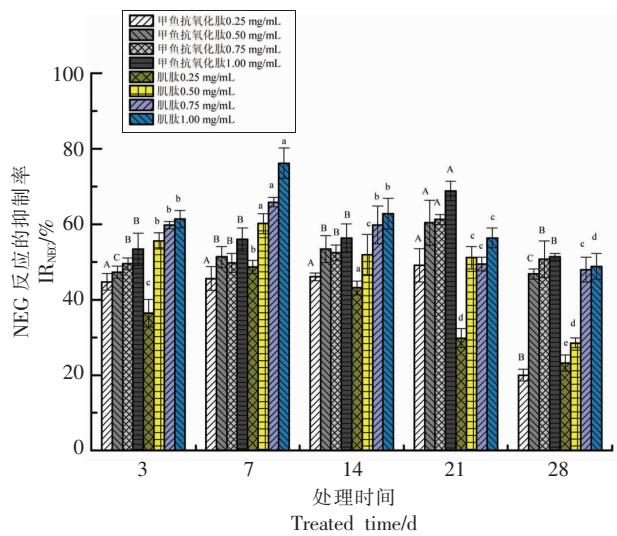
Fig.1 High performance liquid chromatography of turtle antioxidant peptides

在相同质量浓度条件下，甲鱼抗氧化肽对 AGEs 的抑制作用强于肌肽。当温孵 28 d 时，1.00 mg/mL 的甲鱼抗氧化肽，对 AGEs 的抑制率达 89.35%。

2.3.3 抗氧化肽对蛋白质-还原糖体系的影响 为进一步探究甲鱼抗氧化肽对 AGEs 抑制的作用机理，采用红外光谱分析甲鱼抗氧化肽对蛋白质-还原糖体系的影响。

如图 4 所示，535 cm⁻¹ 左右的不饱和键的震动峰发生了蓝移，说明反应体系生成了新的不饱和键，即产生了美拉德反应初期产物——Amadori 产物。1 000 cm⁻¹ 处的峰是由糖的 O-H 和 C-C 键的伸缩振动产生的^[18]，随着反应时间的延长，蛋白质发生糖基化作用越发明显。3 500~3 100 cm⁻¹ 范围的吸收峰强度的改变，是由 O-H 伸缩振动和游离 N-H 的伸缩振动所引起的，随着反应时间延长，峰的宽度明显增强，可能与糖基化反应过程中席夫碱的形成有关。随着反应时间的进一步延长，峰值也有相应减弱，说明美拉德反应进入中后期。

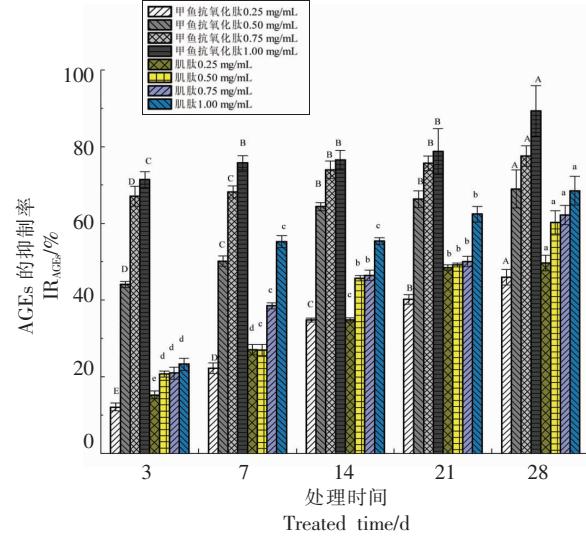
红外光谱中酰胺 I 区、酰胺 II 区和酰胺 III 区可以用于分析蛋白质的特殊结构，酰胺 I 区与蛋白质的二级结构密切相关。1 650 cm⁻¹ 左右是酰胺 I 区的特征吸收峰，主要是由 α-螺旋中肽链的 C=O 伸缩振动所引起；1 550 cm⁻¹ 左右是酰胺 II 区，1 400~1 200 cm⁻¹ 范围是酰胺 III 区，由 C-N 的伸缩振动和 N-H 的弯曲振动产生^[14]。图 4 可以看



注：不同大写字母代表相同质量浓度甲鱼抗氧化肽处理糖基化反应体系不同时间对 NEG 反应的抑制作用具有显著差异($P<0.05$)，不同小写字母代表相同质量浓度肌肽处理糖基化反应体系不同时间对 NEG 反应的抑制作用具有显著差异($P<0.05$)。

图 2 甲鱼抗氧化肽和肌肽对 NEG 反应的抑制作用

Fig.2 Inhibitory effects of turtle antioxidant peptides and carnosines on NEG



注：不同大写字母代表相同质量浓度甲鱼抗氧化肽处理糖基化反应体系不同时间对 AGEs 的抑制作用具有显著差异($P<0.05$)，不同小写字母代表相同质量浓度肌肽处理糖基化反应体系不同时间对 AGEs 的抑制作用具有显著差异($P<0.05$)。

图 3 甲鱼抗氧化肽和肌肽对 AGEs 生成的抑制率

Fig.3 Turtle antioxidative peptides and carnosines inhibit the production of AGEs

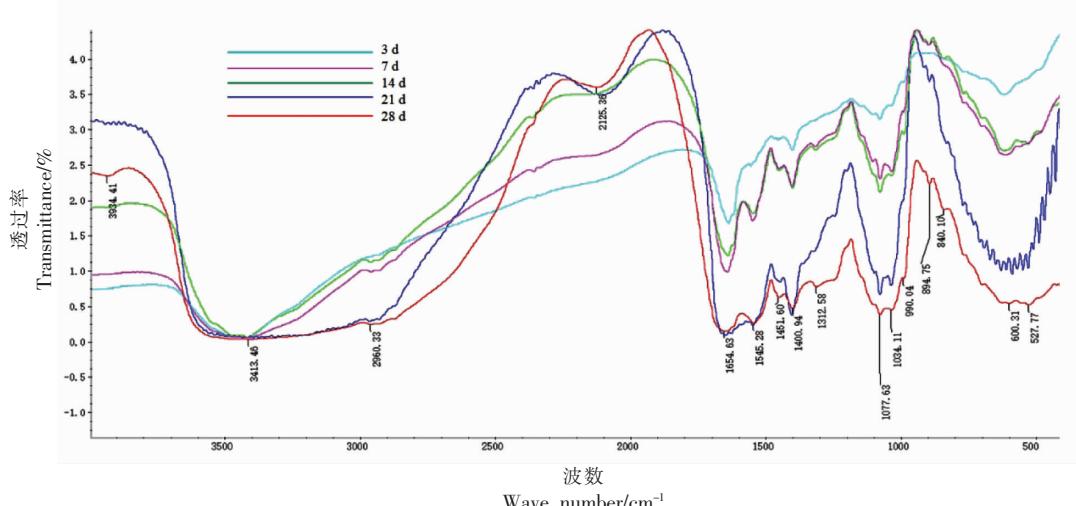


图 4 空白组糖基化反应体系反应不同时间的红外光谱图

Fig.4 Infrared spectral diagram of glycosylation reaction system of blank group at different reaction times

出,随着糖基化反应时间的增强,酰胺 I 区、酰胺 II 区和酰胺 III 区的峰有先变大再变小再变大的趋势,表明周围的基团聚合数量的改变。蛋白质-还原糖发生美拉德反应的反应初期,氨基与羟基发生脱水缩合、分子重排生成果糖胺,导致酰胺吸收峰增强;反应中期,糖胺烯醇化生成醛酮类物质,

酰胺吸收峰值减小;反应后期,蛋白质氨基酸与羰基化合物发生脱羧、脱氨,酰胺吸收带峰值增强。

图 5 为 0.50 mg/mL 肌肽处理组不同反应时间的糖基化产物红外光谱图,与空白对照组相比,相同温孵时间的肌肽处理组 1 000 cm⁻¹ 处的峰有所减弱。图 6 为 0.50 mg/mL 甲鱼抗氧化肽处理组

不同反应时间的糖基化产物红外光谱图,与对空白对照组和肌肽组相比,相同温孵时间的甲鱼抗氧化肽处理组 $1\,000\text{ cm}^{-1}$ 处的峰明显减弱。图6中甲鱼抗氧化肽处理28 d的糖基化产物红外光谱图

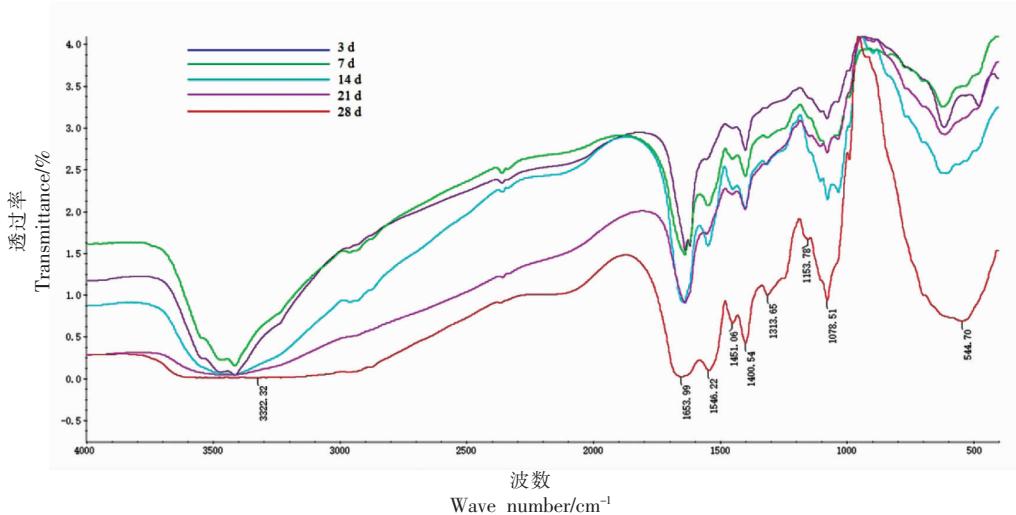


图5 反应不同时间肌肽处理组糖基化产物的红外光谱图

Fig.5 Infrared spectrum of glycosylation products in the group treated with carnosine at different reaction times

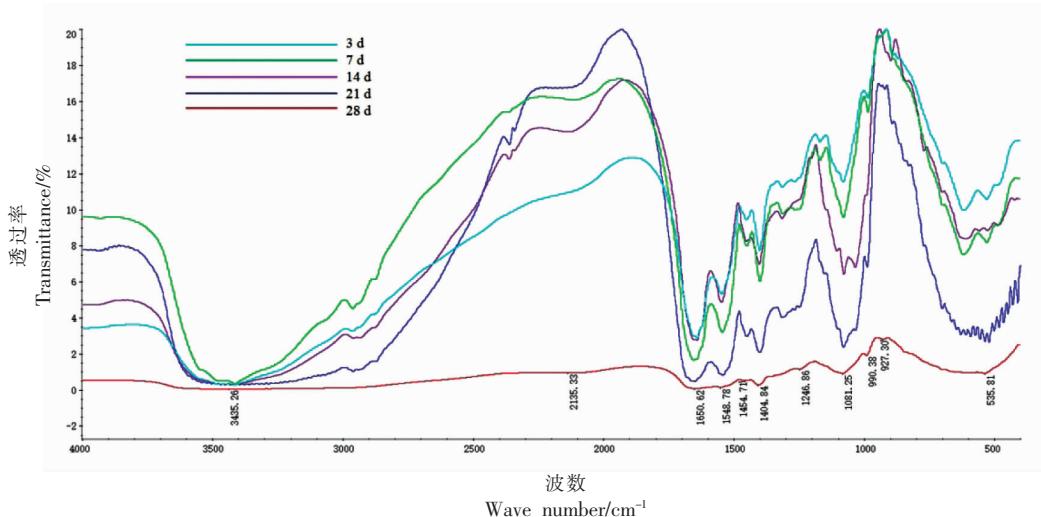


图6 反应不同时间甲鱼抗氧化肽处理组糖基化产物的红外光谱图

Fig.6 Infrared spectra of the glycosylation products in the turtle antioxidant peptide treatment group at different reaction times

3 结论

本试验研究了甲鱼抗氧化肽对蛋白质-还原糖体系NEG和AGEs产生的抑制作用。研究结果表明,随着甲鱼抗氧化肽质量浓度的增加,对非酶糖基化反应各个阶段的抑制作用均呈正相关。蛋白质-还原糖体系反应21 d时,1.00 mg/mL甲鱼

中,红外光谱中酰胺I区、酰胺II区和酰胺III区的振动产生明显降低,进一步证明,甲鱼抗氧化肽通过降低糖基化反应程度,来抑制非酶糖基化反应。

抗氧化肽对NEG的抑制率达68.79%。甲鱼抗氧化肽对AGEs的抑制作用,与甲鱼抗氧化肽的质量浓度和体系反应时间均呈正相关。甲鱼抗氧化肽对AGEs的抑制作用优于阳性对照肌肽。当甲鱼抗氧化肽质量浓度为1.00 mg/mL时,对AGEs的抑制率达89.35%。红外光谱结果表明,甲鱼抗

氧化肽通过降低糖基化反应程度来抑制非酶糖基化反应。本研究为降低AGEs的形成提供了理论依据和新思路,研究结果为拓展甲鱼抗氧化肽在食品加工领域的新用途提供了数据支持,为控制AGEs产生,提高食品的安全品质提供了科学依据。

参 考 文 献

- [1] TAO D, NI N H, ZHANG T S, et al. Accumulation of advanced glycation end products potentiate human retinal capillary endothelial cells mediated diabetic retinopathy[J]. Molecular Medicine Reports, 2019, 20(4): 3719–3727.
- [2] DEL TURCO S, BASTA G. An update on advanced glycation endproducts and atherosclerosis[J]. Biofactors, 2012, 38(4): 266–274.
- [3] GAUTIERI A, PASSINI F S, SILVÁN U, et al. Advanced glycation end-products: Mechanics of aged collagen from molecule to tissue[J]. Matrix Biology, 2016, 59: 95–108.
- [4] KIM Y S, KIM J, KIM K M, et al. Myricetin inhibits advanced glycation end product (AGE)-induced migration of retinal pericytes through phosphorylation of ERK1/2, FAK-1, and paxillin *in vitro* and *in vivo*[J]. Biochemical Pharmacology, 2015, 93(4): 496–505.
- [5] FERCHICHI L, DERBRÉ S, MAHMOOD K, et al. Bioguided fractionation and isolation of natural inhibitors of advanced glycation end-products (AGEs) from *Calophyllum flavoramulum* [J]. Phytochemistry, 2012, 78: 98–106.
- [6] BHAT Z F, KUMAR S, BHAT H F. Bioactive peptides from egg: A review[J]. Nutrition and Food Science, 2015, 45(2): 190–212.
- [7] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会. 大豆肽粉: GB/T 22492-2008[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, Standardization administration. Soy peptides powder: GB/T 22492-2008 [S]. Beijing: Standards Press of China, 2008.
- [8] UMAYAPARVATHI S, MEENAKSHI V, VIMALRAJ M, et al. Antioxidant activity and anticancer effect of bioactive peptide from enzymatic hydrolysate of oyster (*Saccostrea cucullata*) [J]. Biomedicine & Preventive Nutrition, 2014, 4(3): 343–353.
- [9] 张丽娜, 赵文红, 谢岩黎, 等. 麦麸阿魏酸糖酯对体外蛋白质非酶糖基化反应的影响[J]. 粮食与油脂, 2015, 28(5): 47–50.
ZHANG L N, ZHAO W H, XIE Y L, et al. Effects of feruloylated glycosides from wheat bran on non-enzymatic glycation of protein *in vitro*[J]. Cereals and Oils, 2015, 28(5): 47–50.
- [10] 李军, 涂宗财, 张露, 等. 热加工条件对牛血清白蛋白-葡萄糖糖基化体系抗氧化活性的影响[J]. 食品科学, 2020, 41(11): 7–13.
LI J, TU Z C, ZHANG L, et al. Effect of heat processing conditions on the antioxidant activity of bovine serum albumin-glucose glycosylation system [J]. Food Science, 2020, 41(11): 7–13.
- [11] 吴光杰, 田颖刚, 谢明勇, 等. 乌骨鸡活性肽对体外非酶糖基化的抑制作用[J]. 南昌大学学报(理科版), 2007, 31(5): 456–458, 462.
WU G J, TIAN Y G, XIE M Y, et al. Inhibitory effect of bioactive peptides from black-bone silky fowl nonenzymatic glucosylation of protein *in vitro* [J]. Journal of Nanchang University (Natural Science), 2007, 31(5): 456–458, 462.
- [12] ZHONG S Y, MA C W, LIN Y C, et al. Antioxidant properties of peptide fractions from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) processing by-product protein hydrolysates evaluated by electron spin resonance spectrometry[J]. Food Chemistry, 2011, 126(4): 1636–1642.
- [13] 张东杰, 马中苏. 凝胶过滤色谱分离大豆抗氧化肽活性的研究[J]. 中国酿造, 2010(6): 41–44.
ZHANG D J, MA Z S. Separation of soybean anti-oxidative peptide by gel filtration chromatography[J]. China Brewing, 2010(6): 41–44.
- [14] 李桂峰, 王向东, 赵国建, 等. 酶解双孢菇蛋白制备抗氧化肽的研究[J]. 中国食品学报, 2011, 11(5): 37–43.
LI G F, WANG X D, ZHAO G J, et al. Enzymolysis technology for preparation of antioxidant peptides from *Agaricus bisporus* protein[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2011, 11(5): 37–43.
- [15] MENDIS E, RAJAPAKSE N, BYUN H G, et al. Investigation of jumbo squid skin gelatin peptides for

- their *in vitro* antioxidant effects [J]. Life Science, 2005, 77(17): 2166–2178.
- [16] 庄永亮, 李八方, 赵雪, 等. 酶解海蜇胶原蛋白制备抗氧化肽工艺[J]. 农业工程学报, 2009, 25(S1): 129–133.
ZHUANG Y L, LI B F, ZHAO X, et al. Technology for production of antioxidant peptides from jellyfish umbrella by enzymolysis[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2009, 25(S1): 129–133.
- [17] ALEMÁN A, PÉREZ-SANTÍN E, BORDENAVE-JUCHEREAU S, et al. Squid gelatin hydrolysates with antihypertensive, anticancer and antioxidant activity[J]. Food Research International, 2011, 44(4): 1044–1051.
- [18] 王阿美, 涂宗财, 王辉, 等. 红外和 CD 光谱的 HSA 糖基化反应产物结构和反应进程分析[J]. 光谱学与光谱分析, 2018, 38(10): 3090–3095.
WANG A M, TU Z C, WANG H, et al. Research in glycated progress and products of human serum albumin by infrared and CD spectroscopy[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2018, 38 (10): 3090–3095.

Inhibitory Effect of Antioxidant Peptides of Turtle on Non-enzymatic Gluco-sylation and Its End Products

Wang Nan¹, Zhang Hanyu¹, Lou Bo¹, Wang Wei², Shi Xuebo³

(¹College of Biology and Environmental Engineering, Zhejiang Shuren University, Hangzhou 310015

²Institute of Quality and Standard for Agricultural Products, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021

³Zhejiang Zhongde Agriculture Group Co. Ltd., Hangzhou 310021)

Abstract On the basis of establishing the simulated reaction system of non-enzyme gluco-sylation protein and reducing sugar *in vitro*, the inhibitory effect of turtle antioxidant peptide on non-enzyme gluco-sylation (NEG) reaction and advanced glycation end products (AGEs) was investigated. The results showed that the mass concentration of anti-oxidation peptide was 1.00 mg/mL, and the inhibition rate of NEG was 68.79% when incubated for 21 days, the inhibition rate of AGEs was 89.35% when incubated for 28 days. Infrared spectroscopy results proved that antioxidant peptide of turtle could effectively inhibit the production of AGEs in non-enzymatic gluco-sylation reaction.

Keywords turtle antioxidant peptide; non-enzymatic gluco-sylation reaction; advanced glycation end products; inhibitory effect