

# 亚油酸氧化产物——羟基十八碳二烯酸的研究进展

姜春姣<sup>1,2</sup>, 江 芸<sup>2</sup>, 耿志明<sup>1,\*</sup>, 张牧烱<sup>1</sup>, 孙 冲<sup>1</sup>, 卞 欢<sup>1</sup>, 王道营<sup>1</sup>, 徐为民<sup>1,3</sup>

(1.江苏省农业科学院农产品加工研究所, 江苏 南京 210014; 2.南京师范大学金陵女子学院, 江苏 南京 210097;

3.江苏省肉类生产与加工质量安全控制协同创新中心, 江苏 南京 210095)

**摘 要:** 羟基十八碳二烯酸(hydroxyoctadecaenoic acids, HODEs)是亚油酸的氧化产物, 研究表明, 内源性的HODEs具有病理生理学作用, 与人类某些疾病的形成和发展有关; 而外源性的HODEs可能具有相同的病理生理学作用, 其潜在的安全隐患值得关注。本文就HODEs的种类、产生机理、病理和生理学意义、检测方法等进行综述, 并就食品安全领域的相关研究作一些展望。

**关键词:** 食品安全; 亚油酸; 脂质氧化; 羟基十八碳二烯酸

## Progress in Research on Hydroxyoctadecaenoic Acids as Oxidation Products of Linoleic Acid

JIANG Chunjiao<sup>1,2</sup>, JIANG Yun<sup>2</sup>, GENG Zhiming<sup>1,\*</sup>, ZHANG Muhan<sup>1</sup>, SUN Chong<sup>1</sup>, BIAN Huan<sup>1</sup>, WANG Daoying<sup>1</sup>, XU Weimin<sup>1,3</sup>

(1. Institute of Agro-Products Processing, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China;

2. Ginling College, Nanjing Normal University, Nanjing 210097, China;

3. Jiangsu Collaborative Innovation Center of Meat Production and Processing, Quality and Safety Control, Nanjing 210095, China)

**Abstract:** Hydroxyoctadecaenoic acids (HODEs) are oxidation products of linoleic acid (LA). Existing studies indicate that endogenous HODEs exert pathophysiological roles in the development and progression of some human diseases, while exogenous HODEs may have the same effects and the potential health risk associated with them deserves the public's concern. The present paper reviews the classification, formation mechanism, pathophysiological significance and analytical methods of HODEs. Moreover, prospects for future research in the field of food safety are also proposed.

**Keywords:** food safety; linoleic acid; lipid oxidation; hydroxyoctadecaenoic acids

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201807041

中图分类号: TS201.6

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2018)07-0278-07

引文格式:

姜春姣, 江芸, 耿志明, 等. 亚油酸氧化产物——羟基十八碳二烯酸的研究进展[J]. 食品科学, 2018, 39(7): 278-284.

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201807041. <http://www.spkx.net.cn>

JIANG Chunjiao, JIANG Yun, GENG Zhiming, et al. Progress in research on hydroxyoctadecaenoic acids as oxidation products of linoleic acid[J]. Food Science, 2018, 39(7): 278-284. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-201807041. <http://www.spkx.net.cn>

亚油酸(linoleic acid, LA)是一种 $\omega$ -6多不饱和脂肪酸, 是人体生长发育的必需脂肪酸。LA是磷脂中主要的多不饱和脂肪酸, 也是前列腺素、白细胞三烯等的前体<sup>[1]</sup>, 参与构建细胞膜, 对细胞信号传导、基因表达调节等有着重要的影响<sup>[2]</sup>。与花生四烯酸一样, LA在脂肪氧合酶(lipoxygenase, LOX)和细胞色素P450<sup>[3-5]</sup>、过渡金属离子和自由基<sup>[6-7]</sup>等作用下极易发生氧化。在LOX催化或自由基诱导自动氧化途径中,

LA被氧化形成初级氧化产物——氢过氧化十八碳二烯酸(hydroperoxyoctadecadienoic acids, HPODEs)<sup>[8]</sup>。HPODEs极不稳定, 通过酶或非酶途径进一步分解形成一系列次级氧化产物, 其中包括羟基十八碳二烯酸(hydroxyoctadecaenoic acids, HODEs)<sup>[9]</sup>。

研究表明, 内源性HODEs具有病理生理学作用, 脂质代谢产生的HODEs与某些疾病的形成与发展有关, 过多摄入脂肪可导致机体产生高浓度HODEs, 对动脉粥样

收稿日期: 2016-12-05

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(31671877); 江苏省苏北科技发展计划项目(BN2015006);

国家现代农业(肉鸡)产业技术体系建设专项(CARS-41)

第一作者简介: 姜春姣(1992—), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品科学。E-mail: 2393526680@qq.com

\*通信作者简介: 耿志明(1965—), 男, 研究员, 硕士, 研究方向为食品科学。E-mail: zmgeng@163.com

硬化及某些癌症的发生具有促进作用<sup>[2,10-11]</sup>。近年来的研究显示, HODEs也广泛存在于富含油脂、高温加工或加工周期较长的食品中<sup>[12-13]</sup>, 在腌腊肉制品中含量尤其丰富<sup>[14]</sup>。膳食中的外源性HODEs可能具有内源性HODEs同样的病理生理学作用, 其潜在的安全隐患值得关注。本文就HODEs的种类、形成机理、病理和生理学意义、检测方法等进行简要综述, 并就食品安全领域的相关研究作一些展望。

## 1 HODEs的种类以及在生物和膳食样本中的含量

早在20世纪40年代, LA即被发现发现在LOX作用下被氧化形成HPODEs<sup>[15]</sup>。在随后20多年的时间里, 色谱分离以及质谱技术在分离与鉴定由LA自动氧化(非酶)途径和LOX催化的酶促氧化途径产生的氧化产物中得到了广泛的研究<sup>[16-20]</sup>。HPODEs本身不稳定, 通常采用硼氢化钾(钠)将HPODEs还原成化学性质稳定的HODEs, 并进行甲酯化, 然后进行色谱分离、质谱鉴定。由于LA含有1,4-戊二烯基团, 在形成HPODEs时不仅有位置异构体, 还有顺反异构体。还原反应以及甲酯化不改变异构体信息, 所以存在同样多异构体的HODEs<sup>[19]</sup>, 包括13-、9-羟基-(顺,反)-十八碳二烯酸(9-,13-hydroxy-(Z,E)-octadecadienoic acid, 9-,13-(Z,E)-HODE)、13-、9-羟基-(反,反)-十八碳二烯酸(9-,13-hydroxy-(E,E)-octadecadienoic acid, 9-,13-(E,E)-HODE)。由于在HODEs中连接羟基的碳是手性碳, HODEs还有对映异构体存在, 如9-(S)-羟基十八碳二烯酸(9(S)-hydroxyoctadecadienoic acid, 9(S)-HODE)和13-(S)-羟基十八碳二烯酸(13(S)-hydroxyoctadecadienoic acid, 13(S)-HODE)<sup>[21]</sup>。除HODEs形成机理相关研究外, 一般研究只关注位置异构体, 即9-HODE和13-HODE。

在相当长的一段时期, HODEs作为性质稳定的LA的次级氧化产物, 以人工合成的形式出现在LA氧化产物的分离鉴定等相关研究中。直到1970年, Brooks等<sup>[22-23]</sup>才首次报道晚期主动脉病变的人体组织中存在9-HODE和13-HODE。1990年后, 陆续出现更多的有关人体或动物组织中HODEs的报道<sup>[24-28]</sup>, 如山羊血清中13-HODE质量浓度为22.30 ng/mL<sup>[24]</sup>; 健康人体尿液中13-HODE质量浓度0.92 ng/mL<sup>[24]</sup>, 血浆中tHODE(9-HODE与13-HODE之和)浓度为203 nmol/L, 红细胞中浓度为1 917 nmol/L<sup>[27]</sup>; 健康人体红细胞膜中9-HODE/LA之比为3.1:100.0, 而II型糖尿病患者则为20.9:100.0<sup>[26]</sup>。由此可见, HODEs是人体脂质代谢的产物, 血液中tHODE以及9-HODE、13-HODE与LA之间的相互关系与某些疾病的发生发展密切相关, 将来有可能成为某些疾病诊断新的标志物。

食品中的HODEs直到最近才为人们关注。Levandi等<sup>[29]</sup>发现小麦贮藏过程中有HODEs形成, Püssa等<sup>[13]</sup>发现畜禽肉在贮藏过程中产生大量LA的氧化产物, 其中包括HODEs, 某些产品中tHODE含量高达1 000 µg/g。Song Hui等<sup>[14]</sup>的研究表明, 传统腌腊肉制品普遍含有HODEs, 其中13-HODE含量范围为1.40~100.77 µg/g。膳食中的HODEs(外源性HODEs)进入人体后可能具有体内脂质代谢产生的HODEs(内源性HODEs)同样的生理病理学作用, 但有关膳食中的HODEs进入人体后如何代谢、转归, 以及是否具有生理病理学作用仍需要开展广泛而深入的研究。

## 2 HODEs的形成机理

表1 LA氧化类型及其初级产物HPODEs  
Table 1 Oxidation types and primary oxidation products of LA

氧化类型	HPODE异构体		
	位置	顺反	对映
LOX酶促氧化	9,13	Z,E	S
自由基自动氧化	9,13	Z,E、E,E	R=S(外消旋)
非酶促、非自由基氧化	9,10,12,13	Z,E	

HODEs是LA的次级氧化产物, 即HPODEs还原后的产物。LA主要通过LOX酶促氧化、自由基自动氧化以及非酶促非自由基途径产生HPODEs, 不同途径产生的HPODEs的异构体数量不同<sup>[18,30]</sup>(表1), 目前有关LA的氧化研究以LOX酶促氧化、自由基自动氧化途径为主。HPODEs经过酶促(如谷胱甘肽过氧化物酶等)或非酶促(血红蛋白、过渡金属离子等)途径还原形成HODEs, 不改变原有的异构信息(如位置、顺反), HPODEs的酶促、自由基自动氧化形成途径见图1。

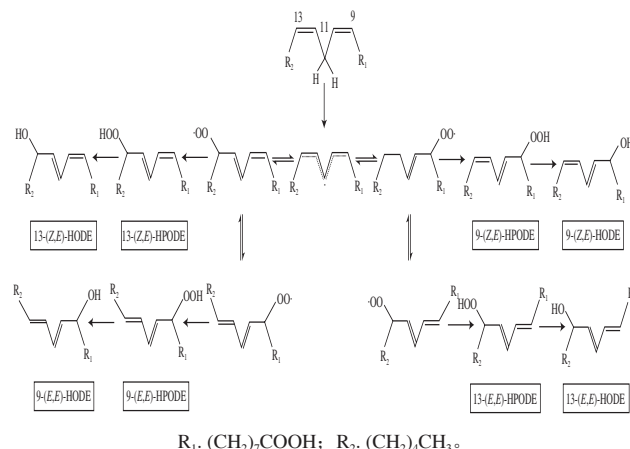


图1 亚油酸氧化产生HODEs的途径

Fig. 1 Formation pathways of HODEs from LA oxidation

两种途径都首先是LA中1,4-戊二烯亚甲基上H被俘获产生自由基, 然后与O<sub>2</sub>反应形成LA的氢过氧化物自

由基, 再从另一个LA俘获H生成HPODEs<sup>[8,30]</sup>。最终, HPODEs通过酶促或非酶促途径还原产生HODEs<sup>[31]</sup>。自由基途径产生4种HPODE异构体, 通过还原后形成同样4种HODE异构体; 而在LOX的酶促途径中, 只产生2种HPODE异构体, 即13-(Z,E)-HPODE和9-(Z,E)-HPODE, 还原后形成13-(Z,E)-HODE和9-(Z,E)-HODE<sup>[30]</sup>。在LOX催化的LA氧化途径中, 不同来源LOX的产物中9-HPODE和13-HPODE的比例不尽相同<sup>[32]</sup>。在大豆LOX的作用下, 产生的13-HPODE和9-HPODE的比例通常在92:7至70:30之间变化, 而来源于玉米胚芽、土豆及一些谷物的LOX的产物中9-HPODE的量高于13-HPODE<sup>[32]</sup>。

HPODEs还原为HODEs有酶促和非酶促两种途径, 其中体内HPODEs的酶促途径在谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)和谷胱甘肽还原酶作用下完成<sup>[31]</sup>。硒是GSH-Px酶系的组成成分, 它通过催化谷胱甘肽(glutathione, GSH)氧化成氧化型谷胱甘肽(oxidized glutathione, GSSG), 同时使HPODEs还原成HODEs。而谷胱甘肽还原酶则利用还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸催化GSSG产生GSH, 同时使HPODEs还原为HODEs的反应得以持续进行。

有关HPODEs转变为HODEs的非酶促途径研究, 除早期在氧化产物分离、鉴定研究中常用硼氢化钾作为还原剂外, 1970年即已发现在愈创木酚<sup>[20]</sup>、血红蛋白<sup>[33]</sup>作用下HPODEs可被还原为HODEs。在抗坏血酸、半胱氨酸等存在下, 血红素、血红蛋白以及铁、铜等金属离子可以降解HPODEs<sup>[31]</sup>。Gardner等<sup>[34]</sup>研究了Fe(III)-半胱氨酸作用下HPODEs的降解产物, 认为在半胱氨酸存在下, Fe(III)被还原为Fe(II), 然后和HPODEs反应形成羟自由基和烷氧自由基, 引发链式反应, 产生一系列次级产物, 其中包括HODEs。

LA的LOX酶促和非酶促氧化产生的HPODEs中9-HPODE和13-HPODE的比例不同, 也导致两种途径产生的HODEs中9-HODE和13-HODE的比例不同。如哺乳动物LOX催化氧化LA形成的HODEs中13-HODE占绝大多数<sup>[35]</sup>。因此, 分析样本(血液、尿液等)中9-HODE和13-HODE比例的变化, 有助于了解人体内HODEs形成途径的演变、不同途径的贡献, 及其与某些疾病发生发展的潜在关系; 研究肉制品加工过程中9-HODE和13-HODE比例的变化及其影响因素, 有助于揭示HODEs的形成规律及其机理, 为加工过程中脂质氧化的调控提供新的思路。

### 3 HODEs的检测方法

在早期的LA酶促氧化以及自由基诱导的自动氧化机理研究中, 气相色谱(gas chromatography, GC)和质谱(mass spectrometry, MS)技术是主要的分离、鉴定

HPODEs和HODEs的手段<sup>[16,20]</sup>。GC-MS也应用于生物样本(如血浆等)中包括HODEs在内的脂质氧化产物的定性、定量分析<sup>[26-27,36]</sup>。LA的初级氧化产物HPODEs经过硼氢化钾还原形成HODEs, 然后催化加氢、甲酯化, 经GC分离后运用MS进行不同异构体产物的鉴定。借助GC-MS手段, LA酶促和非酶促途径的氧化产物(包括不同异构体)得到了鉴定, 为解析LA酶促和非酶促途径氧化机理提供了强有力的技术支撑。但这一方法操作繁琐, 对设备及人员要求高。1990年以后, 为满足生物样本分析的需求, HODEs的酶联免疫吸附分析<sup>[2,25]</sup>以及放射免疫分析<sup>[37]</sup>也得到了发展与运用, 这些方法具有操作简便、高效、运行成本低廉等优点, 但通常难以提供异构体的相关信息, 且结果易出现假阳性等缺陷, 但对于大样本筛选仍不失为较好的方法。

LA氧化形成HPODEs时, 原来的1,4-戊二烯基团的两个双键转变为共轭双键, 在234 nm波长处有典型的紫外吸收, 这一特征也为利用高效液相色谱-紫外(high performance liquid chromatography-ultraviolet, HPLC-UV)检测法分析HODEs提供了可行性。通过选择合适的分离柱以及流动相, HPLC-UV法还可以测定不同异构体的HODEs<sup>[38-40]</sup>。HPLC-UV法操作简单、适于普及, 但灵敏度相对较差。近年来, 串联质谱(tandem mass, MS/MS)技术不断发展, HPLC-MS/MS在脂质氧化产物分离、鉴定上的应用越来越多。这一方法也已用于血浆<sup>[41-42]</sup>、畜禽肉制品<sup>[13-14,43-44]</sup>中HODEs等的分析。HPLC-MS/MS方法样本前处理无需繁琐的还原及甲酯化等步骤, 拥有优异的灵敏度和稳定性, 尤其适合多种成分的定性、定量分析, 但是和GC-MS一样, 运行及维护费用比较昂贵。

目前, HODEs的检测方法主要应用在体内脂质代谢以及肉制品贮藏加工过程中脂质氧化等研究领域。由于血液等生物样本中HODEs含量相对较低, HPLC-MS/MS分析方法是最佳的选择。而在加工肉制品中HODEs普遍含量较高, 辅以合适的样品前处理手段, HPLC-UV方法可以满足定性、定量分析加工肉制品中HODEs的要求。

### 4 HODEs与健康

1971年Harman<sup>[45]</sup>发现衰老与多不饱和脂肪酸的摄入量之间存在某种关联。LA是哺乳动物体内含量最多的多不饱和脂肪酸, 越来越多的研究表明LA的氧化产物参与多种生化反应, 这些反应与衰老相关疾病的发生、发展有着紧密联系<sup>[29]</sup>。HPODEs化学性质活泼, 可以与蛋白质、核酸等发生反应, 而HODEs化学性质相对稳定, 曾经认为HPODEs转变为HODEs是体内的一种脱毒反应, 但事实似乎并非如此<sup>[29]</sup>。研究显示, HODEs可诱导巨噬细胞释放白介素 $1\beta$ <sup>[46]</sup>, 白介素 $1\beta$ 具有刺激骨吸收<sup>[47]</sup>、阻



止细胞程序性死亡<sup>[48]</sup>等作用。HODEs还可以诱导过氧化物酶体增殖物激活受体( peroxisome proliferators activated receptor, PPAR)蛋白的产生<sup>[49]</sup>, PPAR与脂肪细胞分化有关<sup>[50]</sup>, 并具有促进单核细胞、巨噬细胞分化的作用<sup>[51]</sup>。研究还显示, HODEs具有促炎特性<sup>[52]</sup>, 可导致线粒体肿胀<sup>[53]</sup>。

1992年研究人员即发现在动脉粥样硬化病变组织中有大量的HODEs<sup>[54]</sup>, 动脉粥样硬化患者低密度脂蛋白的HODEs水平是健康人群的20倍以上<sup>[10]</sup>。HODEs具有促进单核细胞、巨噬细胞凋亡的作用, 9-HODE的作用更强<sup>[55]</sup>。在动脉粥样硬化早期, 15-LOX-1主导催化LA氧化形成13-HODE, 由于受损细胞得到有效清除, 13-HODE导致的巨噬细胞凋亡可以减少细胞结构损伤, 延缓病变进程。但在病变晚期, 自由基主导促进LA氧化, 迅速上升的HODEs水平导致大量巨噬细胞凋亡, 超出受损细胞清除能力, 最终导致斑块破裂、形成血栓<sup>[55]</sup>。

Sauer等<sup>[56]</sup>研究发现, LA摄入量、13-HODE释放量与肝癌细胞株7288CTC生长之间呈现正相关性; 用LOX抑制剂处理肝癌细胞株7288CTC不影响其LA摄入, 但抑制13-HODE释放及肿瘤生长; 将13-HODE添加到不含LA饲料喂养的小鼠全血再进行灌注, 发现小鼠肿瘤DNA水平显著增加。Sauer等认为, 13-HODE的形成减缓了上皮生长因子受体脱磷酸化, 是[3H]胸腺嘧啶掺入和肿瘤生长的限速步骤; 同时13-HODE还对丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)的磷酸化形态具有稳定作用, 也有利于肿瘤生长。

Spindler等<sup>[21]</sup>在人前列腺细胞(prostatic cell, PC)以及前列腺癌(prostatic cancer, PCa)细胞系中检测到高水平13-HODE, 认为13-HODE具有致癌作用。Kelavkar等<sup>[57]</sup>在无胸腺裸鼠中分别注射正常表达15-LOX-1的PC细胞系和高表达15-LOX-1的PCa细胞系, 发现后者形成了前列腺肿瘤。13-HODE对MAPK活性具有上调作用, 这一作用强化PPAR $\gamma$ 磷酸化, 降低其转录活性。合成的13-HODE具有与体内代谢产生的13-HODE相同的作用, 且达到同样生理效果所需浓度更低<sup>[58]</sup>。

Connolly等<sup>[59]</sup>发现LOX活性提高、食物中亚油酸含量增加具有促进乳腺癌发生和转化生长的作用。Reddy等<sup>[11]</sup>认为15-LOX-1代谢LA产生的13-HODE, 可以通过调节表皮生长因子、转化生长因子促进乳腺癌细胞生长。Dauchy等<sup>[60]</sup>在雌裸鼠体内异种移植人乳腺癌细胞MCF-7, 发现MCF-7的生长与雌裸鼠的LA摄入及其体内13-HODE水平呈现正相关, 认为13-HODE对人乳腺癌细胞增殖有促进作用。

关于HODEs对直肠结肠肿瘤的调节作用研究, 目前未取得一致结果。Ikawa等<sup>[61]</sup>发现直肠结肠肿瘤中15-LOX-1的表达显著高于相邻正常组织。在直肠结肠癌

细胞株HCT116中, 15-LOX-1的高表达伴随肿瘤细胞快速生长, 表明13-HODE对肿瘤生长有促进作用<sup>[62]</sup>; 但也有研究得出了不同结论<sup>[63]</sup>。值得关注的是, 在乙醇协同下, HODEs破坏肠上皮细胞屏障完整性, 诱发人克隆结肠癌细胞Caco-2炎症反应, 这些作用可以促进肿瘤侵袭和转移<sup>[64]</sup>。

虽然关于HODEs病理生理学作用的研究尚未取得一致性结论, 但是研究人员普遍认为HODEs与人类某些疾病的发生发展密切相关; 通过控制LA的摄入量、下调15-LOX-1表达或抑制其活性, 降低体内HODEs水平, 可以预防相关疾病发生或控制其发展。

## 5 膳食中HODEs的安全问题

Kuroda等<sup>[65]</sup>在酿制啤酒时发现, 麦芽粉碎糖化过程伴随产生大量的HODEs; 2009年, Püssa等<sup>[13]</sup>报道了畜禽肉在0~4℃贮藏过程中产生大量脂质氧化产物, 其中包括HODEs; 而最新研究表明, 香肠、风鱼制作中HODEs含量随加工时间的延长而增加, 在市场上获取的26个腌腊肉品均含有HODEs<sup>[14,43]</sup>。

值得关注的是, Montine等<sup>[66]</sup>研究发现<sup>13</sup>C同位素标记的羟基脂肪酸可以直接被人体吸收并进入血液中; Ferreiro-Vera等<sup>[67]</sup>的研究结果显示, 食用高温加热油脂制作的食品能显著增加消费者血液中HODEs水平。高温加热诱导油脂氧化产生包括羟基脂肪酸的一系列产物<sup>[12]</sup>。由此可见, 膳食中的HODEs可以被直接吸收并导致体内HODEs水平增加。

目前, HODEs的病理生理学作用研究中, 体内HODEs被视作内源性HODEs, 即都是通过体内脂质代谢产生的; 而体内HODEs中多少来源于膳食, 以及在HODEs的病理生理学作用中外源性HODEs的贡献如何尚不清楚。已有科学家建议在病理生理学研究区分体内HODEs的来源, 考虑膳食中的HODEs对体内HODEs总水平的贡献<sup>[29]</sup>。

## 6 结 语

HODEs是脂质氧化过程中亚油酸的氧化产物。自从20世纪80年代以来, 内源性HODEs在病理生理学上的作用一直是研究热点。HODEs不仅可以作为某些疾病(心脑血管疾病、癌症等)的信号分子, 而且可能具有调控抑制某些疾病发生的功能, 其相关研究将会是未来医药研究领域的的一个重要方面。

膳食中HODEs的相关研究在近年来才开展, 现有不多的研究表明HODEs可以在食品加工、储藏过程中形成并积累, 在动植物油脂、腌腊肉制品、啤酒、麦芽汁等

中广泛存在。由于HODEs具有病理生理学作用, HODEs在食品中的安全性相关研究将越来越受到关注。这些研究包括: 常见食品中HODEs的含量分布; 食品储藏、加工过程中HODEs的变化规律、影响因素及形成机理; 食品中HODEs在及动物体内的转归; HODEs膳食暴露量评估及流行病学调查等。

#### 参考文献:

- [1] SPECTOR A A. Essentiality of fatty acids[J]. *Lipids*, 1999, 34: 1-3. DOI:10.1007/BF02562220.
- [2] CHOQUE B, CATHELINE D, RIOUX V, et al. Linoleic acid: between doubts and certainties[J]. *Biochimie*, 2014, 96(1): 14-21. DOI:10.1016/j.biochi.2013.07.012.
- [3] BAER A N, COSTELLO P B, GREEN F A. Stereospecificity of the hydroxyeicosatetraenoic and hydroxyoctadecadienoic acids produced by cultured bovine endothelial cells[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1991, 1085(1): 45-52. DOI:10.1016/0005-2760(91)90230-F.
- [4] KONKEL A, SCHUNCK W H. Role of cytochrome P450 enzymes in the bioactivation of polyunsaturated fatty acids[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2011, 1814(1): 210-222. DOI:10.1016/j.bbapap.2010.09.009.
- [5] KÜHN H. Biosynthesis, metabolism and biological importance of the primary 15-lipoxygenase metabolites 15-hydro(pero)xy-5Z,8Z,11Z,13E-eicosatetraenoic acid and 13-hydro(pero)xy-9Z,11E-octadecadienoic acid[J]. *Progress in Lipid Research*, 1996, 35(3): 203-226. DOI:10.1016/S0163-7827(96)00008-2.
- [6] KIM H, JANG Y S, HOU C T. Effect of metal ions on the production of isomeric 9,10,13 (9,12,13)-trihydroxy-11E, (10E)-octadecenoic acid from linoleic acid by *Pseudomonas aeruginosa*, PR3[J]. *Enzyme & Microbial Technology*, 2002, 30(6): 752-757. DOI:10.1016/S0141-0229(02)00053-4.
- [7] GARDNER H W. Oxygen radical chemistry of polyunsaturated fatty acids[J]. *Free Radical Biology & Medicine*, 1989, 7(1): 65-86. DOI:10.1016/0891-5849(89)90102-0.
- [8] NIKI E, YOSHIDA Y, SAITO Y, et al. Lipid peroxidation: mechanisms, inhibition, and biological effects[J]. *Biochemical & Biophysical Research Communications*, 2005, 338(1): 668-676. DOI:10.1016/j.bbrc.2005.08.072.
- [9] NIKI E. Lipid peroxidation: physiological levels and dual biological effects[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2009, 47(5): 469-484. DOI:10.1016/j.freeradbiomed.2009.05.032.
- [10] JIRA W, SPITELLER G, CARSON W, et al. Strong increase in hydroxy fatty acids derived from linoleic acid in human low density lipoproteins of atherosclerotic patients[J]. *Chemistry & Physics of Lipids*, 1998, 91(1): 1-11. DOI:10.1016/S0009-3084(97)00095-9.
- [11] REDDY N, EVERHART A, ELING T, et al. Characterization of a 15-lipoxygenase in human breast carcinoma BT-20 cells: stimulation of 13-HODE formation by TGF  $\alpha$ /EGF[J]. *Biochemical & Biophysical Research Communications*, 1997, 231(1): 111-116. DOI:10.1006/bbrc.1997.6048.
- [12] MARTÍNEZ-YUSTA A, GOICOECHEA E, GUILLÉN M D. A review of thermo-oxidative degradation of food lipids studied by  $^1\text{H}$  NMR spectroscopy: influence of degradative conditions and food lipid nature[J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2014, 13(5): 838-859. DOI:10.1111/1541-4337.12090.
- [13] PÜSSA T, RAUDSEPP P, TOOMIK P, et al. A study of oxidation products of free polyunsaturated fatty acids in mechanically deboned meat[J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2009, 22(4): 307-314. DOI:10.1016/j.jfca.2009.01.014.
- [14] SONG Hui, WU Haihong, GENG Zhiming, et al. Simultaneous determination of 13-HODE, 9,10-DHODE, and 9,10,13-THODE in cured meat products by LC-MS/MS[J]. *Food Analytical Methods*, 2016, 9(10): 2832-2841. DOI:10.1007/s12161-016-0470-1.
- [15] HAMBERG M, SAMUELSSON B. On the specificity of the lipoxidase catalyzed oxygenation of unsaturated fatty acids[J]. *Biochemical & Biophysical Research Communications*, 1965, 21(6): 531-536. DOI:10.1016/0006-291X(65)90517-6.
- [16] DOLEV A, ROHWEDDER W K, MOUNTS T L, et al. A note on the mechanism of lipoxidase reaction and the origin of the oxygen incorporated into linoleate hydroperoxide[J]. *Lipids*, 1967, 2(5): 257-264. DOI:10.1007/BF02531865.
- [17] GARDNER H W. Isolation of a pure isomer of linoleic acid hydroperoxide[J]. *Lipids*, 1975, 10(4): 248-252. DOI:10.1007/BF02532488.
- [18] FRANKEL E N, NEFF W E, ROHWEDDER W K, et al. Analysis of autoxidized fats by gas chromatography-mass spectrometry: II. methyl linoleate[J]. *Lipids*, 1977, 12(11): 908-913. DOI:10.1007/BF02533310.
- [19] CHAN H W, LEVETT G. Autoxidation of methyl linoleate. separation and analysis of isomeric mixtures of methyl linoleate hydroperoxides and methyl hydroxylinoates[J]. *Lipids*, 1977, 12(1): 99-104. DOI:10.1007/BF02532979.
- [20] STRECKERT G, STAN H J. Conversion of linoleic acid hydroperoxide by soybean lipoxygenase in the presence of guaiacol: identification of the reaction products[J]. *Lipids*, 1975, 10(12): 847-854. DOI:10.1007/BF02532331.
- [21] SPINDLER S A, SARKAR F H, SAKR W A, et al. Production of 13-hydroxyoctadecadienoic acid (13-HODE) by prostate tumors and cell lines[J]. *Biochemical & Biophysical Research Communications*, 1997, 239(3): 775-781. DOI:10.1006/bbrc.1997.7471.
- [22] BROOKS C J W, STEEL G, GILBERT J D, et al. Lipids of human atheroma part 4. characterisation of a new group of polar sterol esters from human atherosclerotic plaques[J]. *Atherosclerosis*, 1971, 13(2): 223-237. DOI:10.1016/0021-9150(71)90025-6.
- [23] BROOKS C J W, HARLAND W A, STEEL G, et al. Lipids of human atheroma: isolation of hydroxyoctadecadienoic acids from advanced aortal lesions[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1970, 202(3): 563-566. DOI:10.1016/0005-2760(70)90131-1.
- [24] SPINDLER S A, CLARK K S, BLACKBURN M L, et al. Occurrence of 13(S)-hydroxyoctadecadienoic acid in biological samples: importance of lipoxygenases in modulating epidermal growth factor-dependent mitogenesis[J]. *Prostaglandins*, 1997, 54(6): 875-880. DOI:10.1016/S0090-6980(97)00185-8.
- [25] SPINDLER S A, CLARK K S, CALLEWAERT D M, et al. Significance and immunoassay of 9- and 13-hydroxyoctadecadienoic acids[J]. *Biochemical & Biophysical Research Communications*, 1996, 218(1): 187-191. DOI:10.1006/bbrc.1996.0033.
- [26] INOUE M, MIO T, SUMINO K. Formation of 9-hydroxy linoleic acid as a product of phospholipid peroxidation in diabetic erythrocyte membranes[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1999, 1438(2): 204-212. DOI:10.1016/S1388-1981(99)00052-9.
- [27] YOSHIDA Y, SAITO Y, HAYAKAWA M, et al. Levels of lipid peroxidation in human plasma and erythrocytes: comparison between fatty acids and cholesterol[J]. *Lipids*, 2007, 42(5): 439-449. DOI:10.1007/s11745-007-3037-5.

- [28] NIKI E. Biomarkers of lipid peroxidation in clinical material[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2014, 1840(2): 809-817. DOI:10.1016/j.bbagen.2013.03.020.
- [29] LEVANDI T, PÜSSA T, VAHER M, et al. Oxidation products of free polyunsaturated fatty acids in wheat varieties[J]. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 2009, 111(7): 715-722. DOI:10.1002/ejlt.200800286.
- [30] SPITELLER G. Peroxidation of linoleic acid and its relation to aging and age dependent diseases[J]. *Mechanisms of Ageing & Development*, 2001, 122(7): 617-657. DOI:10.1016/S0047-6374(01)00220-2.
- [31] GARDNER H W. Decomposition of linoleic acid hydroperoxides. enzymic reactions compared with nonenzymic[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1975, 23(2): 129-136. DOI:10.1021/jf60198a012.
- [32] GARDNER H W. Isolation of a pure isomer of linoleic acid hydroperoxide[J]. *Lipids*, 1975, 10(4): 248-252. DOI:10.1007/BF02532488.
- [33] HAMBERG M. Decomposition of unsaturated fatty acid hydroperoxides by hemoglobin: structures of major products of 13L-hydroperoxy-9,11-octadecadienoic acid[J]. *Lipids*, 1975, 10(2): 87-92. DOI:10.1007/BF02532161.
- [34] GARDNER H W, KLEIMAN R, WEISLEDER D. Homolytic decomposition of linoleic acid hydroperoxide: identification of fatty acid products[J]. *Lipids*, 1974, 9(9): 696-706. DOI:10.1007/BF02532178.
- [35] KLIL-DRORI A, ARIEL A. 15-Lipoxygenases in cancer: a double-edged sword?[J]. *Prostaglandins & Other Lipid Mediators*, 2013, 106(1): 16-22. DOI:10.1016/j.prostaglandins.2013.07.006.
- [36] JOHNSON J A, BLACKBURN M L, BULL A W, et al. Separation and quantitation of linoleic acid oxidation products in mammary gland tissue from mice fed low- and high-fat diets[J]. *Lipids*, 1997, 32(4): 369-375. DOI:10.1007/s11745-997-0047-7.
- [37] TONOGAI Y, TAI H H. Quantitation of 13-hydroxyoctadecadienoic acid (13-HODE) by radioimmunoassay[J]. *Prostaglandins Leukotrienes & Essential Fatty Acids*, 1990, 39(2): 125-129. DOI:10.1016/0952-3278(90)90021-C.
- [38] CHO H, GALLAHER D D, CSALLANY A S. Nonradiometric HPLC measurement of 13(S)-hydroxyoctadecadienoic acid from rat tissues[J]. *Analytical Biochemistry*, 2003, 318(1): 47-51. DOI:10.1016/S0003-2697(03)00140-4.
- [39] GATA J L, PINTO M C, MACÍAS P. Lipoxygenase activity in pig muscle: purification and partial characterization[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1996, 44(9): 2573-2577. DOI:10.1021/jf960149n.
- [40] GLADOVIĆ N, ZUPANČIČ-KRALJ L, PLAVEC J, et al. Determination of primary oxidation products of linoleic acids and triacylglycerols[J]. *Journal of Chromatography A*, 1997, 767(1/2): 63-68. DOI:10.1016/S0021-9673(97)00004-6.
- [41] YOSHIDA Y, KODAI S, TAKEMURA S, et al. Simultaneous measurement of F<sub>2</sub>-isoprostane, hydroxyoctadecadienoic acid, hydroxyeicosatetraenoic acid, and hydroxycholesterols from physiological samples[J]. *Analytical Biochemistry*, 2008, 379(1): 105-115. DOI:10.1016/j.ab.2008.04.028.
- [42] LEVISON B S, ZHANG R, WANG Z, et al. Quantification of fatty acid oxidation products using online high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. *Free Radical Biology & Medicine*, 2013, 59(6): 2-13. DOI:10.1016/j.freeradbiomed.2013.03.001.
- [43] 宋慧, 耿志明, 任双, 等. 腌腊肉制品中13-HODE、9,10-DHODE、9,10-EPODE、9,10,13-THODE的HPLC-MS/MS检测[J]. *食品科学*, 2016, 37(18): 133-140. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201618022.
- [44] TOOMIK P, LEPP K, LEPASALU L, et al. The effect of tenderizing acids on linoleic acid oxidation during marination of pork[J]. *Meat Science*, 2012, 92(4): 870-873. DOI:10.1016/j.meatsci.2012.06.016.
- [45] HARMAN D. Free radical theory of aging: effect of the amount and degree of unsaturation of dietary fat on mortality rate[J]. *Journal of Gerontology*, 1971, 26(4): 451-457. DOI:10.1093/geronj/26.4.451.
- [46] KU G, THOMAS C E, AKESON A L, et al. Induction of interleukin 1 beta expression from human peripheral blood monocyte-derived macrophages by 9-hydroxyoctadecadienoic acid[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1992, 267(20): 14183-14188.
- [47] GOWEN M, MUNDY G R. Actions of recombinant interleukin 1, interleukin 2, and interferon-gamma on bone resorption *in vitro*[J]. *Journal of Immunology*, 1986, 136(7): 2478-2482.
- [48] MANGAN D F, WELCH G R, WAHL S M. Lipopolysaccharide, tumor necrosis factor-alpha, and IL-1 beta prevent programmed cell death (apoptosis) in human peripheral blood monocytes[J]. *Journal of Immunology*, 1991, 146(5): 1541-1546.
- [49] NAGY L, TONTONÓZ P, ALVAREZ J G, et al. Oxidized LDL regulates macrophage gene expression through ligand activation of PPARγ[J]. *Cell*, 1998, 93(2): 229-240. DOI:10.1016/S0092-8674(00)81574-3.
- [50] CHAWLA A, SCHWARZ E J, DIMACULANGAN D D, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) gamma: adipose-predominant expression and induction early in adipocyte differentiation[J]. *Endocrinology*, 1994, 135(2): 798-800. DOI:10.1210/en.135.2.798.
- [51] TONTONÓZ P, NAGY L, ALVAREZ J G, et al. PPARγ promotes monocyte/macrophage differentiation and uptake of oxidized LDL[J]. *Cell*, 1998, 93(2): 241-252. DOI:10.1016/S0092-8674(00)81575-5.
- [52] MOCH D, SCHEWE T, KÜHN H, et al. The linoleic acid metabolite 9*DS*-hydroxy-10,12(*E,Z*)-octadecadienoic acid is a strong proinflammatory mediator in an experimental wound healing model of the rat[J]. *Biomedica Biochimica Acta*, 1990, 49(4): 201-207.
- [53] BLONDIN G A. Isolation, properties, and structural features of divalent cation ionophores derived from beef heart mitochondria[J]. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1975, 264: 98-111. DOI:10.1111/j.1749-6632.1975.tb31477.x.
- [54] KÜHN H, BELKNER J, WIESNER R, et al. Structure elucidation of oxygenated lipids in human atherosclerotic lesions[J]. *Eicosanoids*, 1992, 5(1): 17-22.
- [55] VANGAVETI V N, SHASHIDHAR V M, RUSH C, et al. Hydroxyoctadecadienoic acids regulate apoptosis in human THP-1 cells in a PPARc-dependent manner[J]. *Lipids*, 2014, 49(12): 1181-1192. DOI:10.1007/s11745-014-3954-z.
- [56] SAUER L A, BLASK D E, DAUCHY R T. Dietary factors and growth and metabolism in experimental tumors[J]. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 2007, 18(10): 637-649. DOI:10.1016/j.jnutbio.2006.12.009.
- [57] KELAVKAR U P, NIXON J B, COHEN C, et al. Overexpression of 15-lipoxygenase-1 in PC-3 human prostate cancer cells increases tumorigenesis[J]. *Carcinogenesis*, 2001, 22(11): 1765-1773. DOI:10.1093/carcin/22.11.1765.
- [58] HSI L C, WILSON L C, ELING T E. Opposing effects of 15-lipoxygenase-1 and -2 metabolites on MAPK signaling in prostate alteration in peroxisome proliferator: activated receptor γ[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2002, 277(43): 40549-40556. DOI:10.1074/jbc.M203522200.

- [59] CONNOLLY J M, LIU X H, ROSE D P. Dietary linoleic acid-stimulated human breast cancer cell growth and metastasis in nude mice and their suppression by indomethacin, a cyclooxygenase inhibitor[J]. *Nutrition & Cancer*, 1996, 25(3): 231-240. DOI:10.1080/01635589609514447.
- [60] DAUCHY R T, DAUCHY E M, SAUER L A, et al. Differential inhibition of fatty acid transport in tissue-isolated steroid receptor negative human breast cancer xenografts perfused *in situ* with isomers of conjugated linoleic acid[J]. *Cancer Letters*, 2004, 209(1): 7-15. DOI:10.1016/j.canlet.2003.12.012.
- [61] IKAWA H, KAMITANI H, CALVO B F, et al. Expression of 15-lipoxygenase-1 in human colorectal cancer[J]. *Cancer Research*, 1999, 59(2): 360-366.
- [62] YOSHINAGA M, BUCHANAN F G, DUBOIS R N. 15-LOX-1 inhibits p21 (Cip/WAF 1) expression by enhancing MEK-ERK1/2 signaling in colon carcinoma cells[J]. *Prostaglandins & Other Lipid Mediators*, 2004, 73(1/2): 111-122. DOI:10.1016/j.prostaglandins.2004.01.001.
- [63] ZHU H, GLASGOW W, GEORGE M D, et al. 15-Lipoxygenase-1 activates tumor suppressor p53 independent of enzymatic activity[J]. *International Journal of Cancer*, 2008, 123(12): 2741-2749. DOI:10.1002/ijc.23855.
- [64] LIU H, JOSHI-BARVE S, BARVE S, et al. Effects of ethanol and oxidized metabolites of linoleic acid on Caco-2 cell model of intestinal epithelial barrier[J]. *Faseb Journal*, 2013, 27(7): 1093-1093.
- [65] KURODA H, KOBAYASHI N, KANEDA H, et al. Characterization of factors that transform linoleic acid into di- and trihydroxyoctadecenoic acids in mash[J]. *Journal of Bioscience & Bioengineering*, 2002, 93(1): 73-77. DOI: 10.1263/jbb.93.73.
- [66] MONTINE T J, QUINN J, KAYE, J, et al. F<sub>2</sub>-isoprostanes as biomarkers of late-onset Alzheimer's disease[J]. *Journal of Molecular Neuroscience*, 2007, 33(1): 114-119.
- [67] FERREIRO-VERA C, PRIEGO-CAPOTE F, MATA-GRANADOS J M, et al. Short-term comparative study of the influence of fried edible oils intake on the metabolism of essential fatty acids in obese individuals[J]. *Food Chemistry*, 2013, 136(2): 576-584. DOI:10.1016/j.foodchem.2012.08.081.