

刘楠, 崔柯鑫, 孙永, 等. 食品中脂肪氧化产生的活泼羰基化合物研究进展 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(17): 466–473. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021090098

LIU Nan, CUI Kexin, SUN Yong, et al. Research Progress of Active Carbonyl Compounds Produced by Oxidation of Fats in Food[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(17): 466–473. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021090098

· 专题综述 ·

食品中脂肪氧化产生的活泼羰基 化合物研究进展

刘楠¹, 崔柯鑫^{1,2}, 孙永¹, 王珊珊¹, 杨敏¹, 孙国辉¹, 王明丽³, 王大军⁴, 周德庆^{1,*}

(1. 中国水产科学研究院, 黄海水产研究所/青岛海洋科学与技术试点国家实验室海洋药物与生物制品
功能实验室, 山东青岛 266071;

2. 中国海洋大学, 食品科学与工程学院, 山东青岛 266005;

3. 蓬莱汇洋食品有限公司, 山东烟台 265609;

4. 烟台海裕食品有限公司, 山东烟台 264000)

摘要: 食品在加工过程中由于脂肪酸氧化会产生活泼羰基化合物 (Reactive carbonyl compounds, RCCs), RCCs 与炎症、衰老、肿瘤、阿尔茨海默病等密切相关, 在食品科学和药物科学领域引起了广泛地重视。RCCs 生物反应主要是由于它们能够共价修饰蛋白质, 与蛋白质形成加合物, 破坏其正常的生理功能。文章综述了活泼羰基化合物的种类和与之相关的化学反应以及以 4-羟基-反式-2-壬烯醛 (HNE)、4-羟基己烯醛 (HHE) 为代表的活泼羰基化合物的检测方法、饮食暴露量和控制手段等方面的研究进展, 以期为食品的质量控制以及活泼羰基化合物的消减提供参考。

关键词: 活泼羰基化合物, 食品, 检测方法, 控制, 脂肪酸

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2022)17-0466-08

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021090098



本文网刊:

Research Progress of Active Carbonyl Compounds Produced by Oxidation of Fats in Food

LIU Nan¹, CUI Kexin^{1,2}, SUN Yong¹, WANG Shanshan¹, YANG Min¹, SUN Guohui¹, WANG Mingli³,
WANG Dajun⁴, ZHOU Deqing^{1,*}

(1. Yellow Sea Fisheries Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Laboratory for Marine Drugs and Bioproducts of
Pilot National Laboratory for Marine Science and Technology (Qingdao), Qingdao 266071, China;

2. College of Food Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266005, China;

3. Penglai Huiyang Food Co., Ltd., Yantai 265609, China;

4. Yantai Haiyu Food Co., Ltd., Yantai 264000, China)

Abstract: During food processing, reactive carbonyl compounds (RCCs) are produced due to the oxidation of fatty acids. Since RCCs are closely related to inflammation, aging, tumor, Alzheimer's disease, etc., they have attracted extensive attention in the field of food science and drug science. The biological reaction of RCCs is mainly due to their ability to covalently modify proteins to form adducts with proteins and disrupt their normal physiological functions. This paper reviews the research progress on the types and their related chemical reactions of active carbonyl compounds, as well as detection methods, dietary exposure and control methods of active carbonyl compounds represented by 4-hydroxy-trans-2-

收稿日期: 2021-09-08

基金项目: 国家重点研发计划“蓝色粮仓科技创新”课题: 水产品加工储运过程中典型化学危害物消减控制技术 (2019YFD0901703); 烟台市蓝色产业领军人才团队项目: 海洋鱼类加工胺类危害物消减阻控关键技术研发与产业化应用。

作者简介: 刘楠 (1979-) (ORCID: 0000-0002-2571-6481), 女, 博士, 副研究员, 研究方向: 水产品加工与质量安全, E-mail: liunan@ysfri.ac.cn。

*** 通信作者:** 周德庆 (1962-) (ORCID: 0000-0002-9035-5440), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 水产品加工与质量安全, E-mail: zhoudq@ysfri.ac.cn。

nonenal (HNE) and 4-hydroxyhexenal (HHE), in order to provide reference for the quality control of food and the reduction of active carbonyl compounds.

Key words: reactive carbonyl compounds; foods; detection method; control; fatty acid

活泼羰基化合物(Reactive carbonyl compounds, RCCs)主要由脂类和糖类的非酶氧化反应产生。脂类氧化分解产生的 RCCs 从化学角度主要可以被分为三大类: a. α , β -不饱和醛, 如 4-羟基-反式-2-壬烯醛(HNE)、4-羟基己烯醛(HHE)和壬烯醛和丙烯醛(ACR); b. 酮醛, 如丙酮醛(MGO)、4-氧代-壬烯醛(ONE)和异酮类化合物(LGD₂); c. 二醛, 如乙二醛(GO)和丙二醛(MDA)^[1](结构见图 1)。RCCs 对蛋白质的氧化修饰已被证明可以在多种疾病中诱导抗体, 包括系统性红斑狼疮、酒精性肝病、糖尿病和类风湿性关节炎等^[2-3]。当 RCCs 由糖形成时, 与蛋白质形成的加合物被命名为糖基化终产物(Advanced glycation end products, AGEs), 而当 RCCs 由脂质形成时, 加合物则被命名为晚期脂类氧化终产物 ALEs (Advanced lipoxidation end products)^[4]。脂质过氧化产物的主要作用是抑制 DNA 的合成及细胞分裂和肿瘤生长, 诱导细胞凋亡^[5]。近几年, RCCs 中的 ACR、MDA、HNE、HHE 等活泼的醛类物质已被作为氧化应激损伤、疾病进程的重要生物标志物^[6-7]。

1 与 RCCs 有关的主要生化反应

RCCs 中细胞毒性较强的 HHE、HNE 等 α , β -不饱和醛主要由脂质过氧化产生, ω -6 PUFA(18:2, 20:4)脂质过氧化的产物主要是 HNE 和己醛, ω -3 PUFA(22:6)的产物则是 HHE 和丙醛, 有 3 个及以上亚甲基中断双键(20:4, 22:6)的 PUFA 会生成 MDA^[8-9]。生成的 RCCs 会与一些氨基酸发生反应也会发生羰基化, 修饰后形成蛋白质羰基, 从而导致

蛋白质功能障碍, 引起“羰基应激”, 进而引发一系列炎症反应或加快疾病进程。

1.1 RCCs 的产生与脂肪氧化的关系

当食物中含有大量多不饱和脂肪酸、光、热、金属离子和自由基等促氧化剂存在时, 则会引发脂肪氧化, 在鱼类中会引起鱼体肌肉酸败, 产生不愉快的气味及有害物质^[10-11]。促使脂肪自氧化过程的自由基可由光、高能辐射等因子诱导产生, 也可由其他自由基诱导产生, 自由基反应的最大特点是倾向于进行链式反应。

脂质过氧化的启动可以由活性物种(Reactive species, RS)的添加引起, 或者更常见的是由 RS 从亚甲基(-CH₂-)基团中提取氢原子引起的; 在这两种情况下, 都会产生碳自由基^[12]。例如, 羟基·OH 可以通过 H·抽提进行反应, 如图 2 的引发阶段。过氧化氢自由基 HOO·可以从 PUFA 中提取 H·, 在有氧条件下, 碳自由基很容易与 O₂ 结合, 生成过氧基, 过氧基还可以从相邻的脂肪酸侧链中提取 H。如图 2 的传递阶段, 这是脂质过氧化的传播期。它形成新的碳自由基, 可以与 O₂ 反应形成新的过氧化物自由基, 因此脂质过氧化的连锁反应继续进行(图 2)。ROO 与其提取的 H 结合, 形成脂质过氧化氢(ROOH)。因此, 单个的引发有可能通过连锁反应产生多个过氧化物分子。

ROOH 在高温或金属存在下会发生水解或热裂, 容易分解为低分子量的次生产物, 产生许多挥发物和非挥发物, 挥发物如醛、短链碳氢化合物、醇、

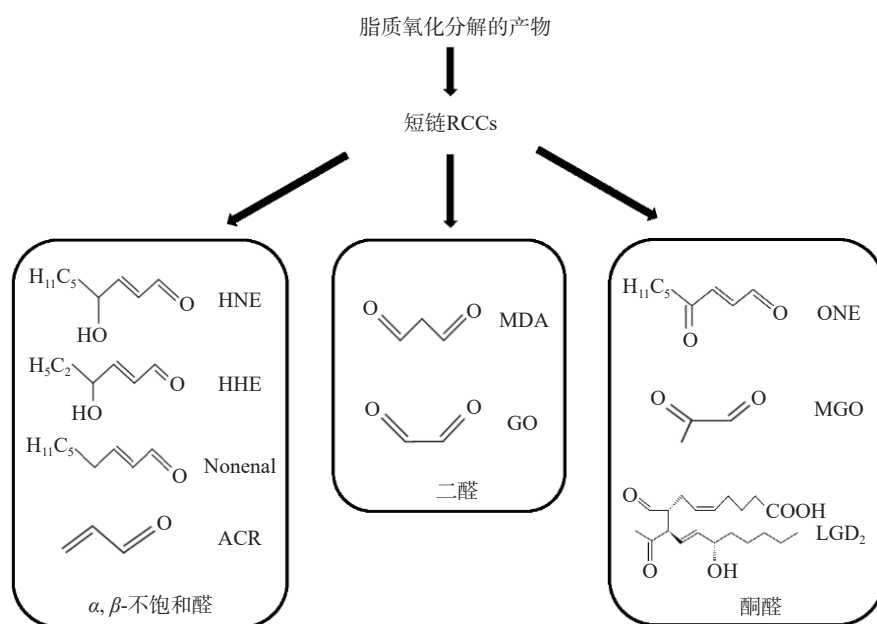


图 1 脂类氧化分解产生的最活跃羰基化合物种类

Fig.1 The most active carbonyl compounds produced by the oxidation and decomposition of lipids

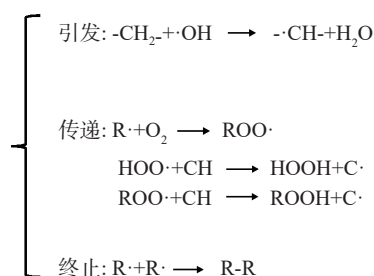


图2 脂肪的自氧化连锁反应

Fig.2 Auto-oxidation chain reaction of fat



图3 脂肪过氧化总过程

Fig.3 The total process of fat peroxidation

酯、酸和酮^[13],这时就会形成如MDA、HNE等一些有害的RCCs,过氧化总过程如图3。

1.2 RCCs与蛋白质的进一步氧化

蛋白质中没有天然存在的羰基,主要由氧化机制生成^[14]。羰基通过各种氧化途径引入蛋白质。蛋白质可以通过许多不同的方式进行氧化修饰,一是通过氨基酸侧链和蛋白质骨架的直接氧化;二是通过与PUFA和碳水化合物的氧化产物结合而发生间接氧化^[15]。活性氧(ROS)可以直接与蛋白质反应,也可以与糖和脂质等分子反应,生成RCCs后与蛋白质反应^[16]。如RCCs中的HNE能够通过大量靶点的Michael加成形成蛋白质加合物。HNE优先与含硫醇蛋白的半胱氨酸残基形成加合物,其中一些是参与氧化还原信号的蛋白质^[17],如图4。在大多数情况下,蛋白质的功能会因HNE加合物的形成而受损。HNE在蛋白质中形成具有三个不同侧链的加合物,即半胱氨酸(Cys)、组氨酸(His)和赖氨酸(Lys)^[12]。在合成的多氨基酸模型化合物中,研究了这些氨基酸(AA)残基与HNE形成加合物的反应活性。结果表明,半胱氨酸残基的活性最高,HNE/AA摩尔比的大小顺序为:Cys>His>Lys。对ONE也得到了类似的结果,Arg是ONE的目标,但一般不是HNE的目标^[18]。

在活性氧(ROS)存在时,自由基与蛋白质的反应会引起蛋白质骨架和氨基酸侧链的变化。这些变化包括肽键的断裂、氨基酸侧链的修饰和共价分子间

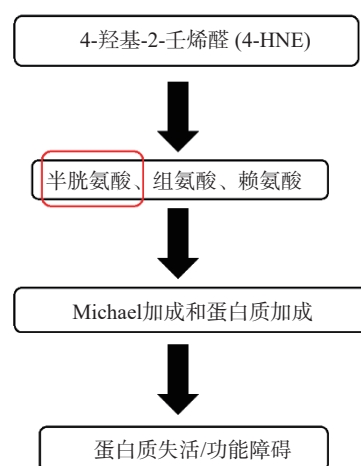


图4 RCCs与AA的反应

Fig.4 Reaction of active carbonyl compounds with amino acids

交联蛋白衍生物的形成。其中最常见氨基酸修饰是形成蛋白质羰基和蛋白质氢过氧化物^[19]。通常把蛋白质羰基化定义为一种不可逆的翻译后修饰(PTM),会在蛋白质中产生活泼的羰基部分,如醛、酮等^[20],蛋白质羰基通常被用作衰老和疾病中蛋白质氧化的指示物^[21]。一般来说,蛋白质羰基化的途径可以分为直接氧化、金属催化氧化与游离糖的反应以及脂质过氧化产物^[10]。通过金属催化裂解的蛋白质氧化是鱼体内系统中氧化损伤的主要原因,也是鱼死后肌肉中氧化损伤的主要原因^[15]。

2 RCCs的检测

来源于脂类过氧化的RCCs中主要的标志物质是HHE、HNE和MDA。其中,MDA是国标中对食品已经有所要求的重要检测指标,而国标中暂时还没有与HHE和HNE相关的检测和限量标准。RCCs的检测是一个复杂的过程,由于其化学结构的特殊性需要先衍生化,然后再检测。

2.1 衍生化与纯化

由于RCCs具有较强的极性在色谱柱中没有保留,且生物反应活性强,稳定性较差,无紫外或荧光吸收的官能团,因此提取前需先采用衍生化。目前常用的衍生化试剂有2,4-二硝基苯肼(DNPH)^[22]、O-2,3,4,5,6-(五氟苄基)羟胺(PFBHA)^[23]、双(三甲基硅烷基)三氟乙酰胺(BSTFA)^[24]和1-(4-胍基-4-氧代丁基)吡啶-1-溴化物(HPB)^[25]等。其中,2,4-二硝基苯肼(DNPH)最为常用,在酸性条件下可将RCCs衍生成一种稳定可测的物质—2,4-二硝基苯腙,具有紫外吸收^[25-27]。

食品体系较为复杂,为了减少各种杂质对羰基化合物分析的影响,分析前需要对样品进行纯化处理,最常用的方法是固相微萃取(SPME)^[28]。SPME是集取样、萃取、预浓缩于一体的绿色无溶剂萃取技术,是一种便捷、低成本、通用、易于自动化的样品高通量检测方法,常用作对于挥发性有机物质的分析,并具有良好的重现性^[29-31]。

2.2 检测方法

针对食品中的 MDA 以及有机化学试剂中的羰基化合物总量国标规定了检测方法,而针对于 HHE、HNE 这两种物质的检测主要是利用先色谱法分离后与质谱法结合来进行检测。

2.2.1 国标中羰基化合物总量的测定 国标对于有机化学试剂中微量羰基化合物总量的测定是利用 2,4-二硝基苯肼将羰基转化成 2,4-二硝基苯腙并用比色法进行测定,反应式如图 5。由于比色法存在一定的误差,也没有明确具体的提取方法,且不能提供羰基化合物的特定种类信息,因此存在一定的局限性。

2.2.2 MDA 的测定 国标中规定了食品中 MDA 的两种测定方法:第一种为高效液相色谱法:试样先用酸液提取,再将提取液与硫代巴比妥酸(TBA)作用生成有色化合物,采用高效液相色谱二极管阵列检测器测定,外标法定量;第二种为分光光度法:MDA 经三氯乙酸溶液提取后,与硫代巴比妥酸(TBA)作用生成粉红色化合物,测定其在 532 nm 波长处的吸光度值,与标准系列比较定量。

2.2.3 HHE 和 HNE 的检测方法 国内外科研工作者对 HHE、HNE 的检测进行了较多的研究。一般采用气相色谱法(GC)、气相色谱质谱联用(GC-MS)、高效液相色谱法(HPLC)或液相色谱质谱联用(LC-MS)进行检测。

2.2.3.1 LC-MS 用酶系统形成的脂质过氧化产物的分析一般使用带有紫外检测的 HPLC。高效液相色谱法操作简单,定量准确,在 HHE 和 HNE 的检测中应用较为广泛。Uchida 等^[27]用 SPME 纤维从样品溶液中提取 HNE 或 HNE 与 DNPH 反应生成的衍生物,用 HPLC 测定 HNE 的含量^[32]。Johnston 等^[33]用 1-甲基-2-苯基吡唑比色法检测植物中的 MDA 和 HNE,这项研究表明,1-甲基-2-苯基吡唑比色法对植物组织中的 MDA 和 HNE 不是特异的,特别是对于含有高浓度单糖的样品,HPLC 被推荐为测量植物组织中 MDA 和 HNE 最可靠的方法。但由于食品体系的复杂性,单纯利用保留时间定性准确度不高,对于较准确的测定需要利用液相色谱分离后与质谱

联合来分析^[28]。Douny 等^[26]用 DNPH 衍生后,建立了 LC-MS 的分析方法测定植物油样中的 MDA、HNE、HHE 和 2,4-癸二烯(2,4-DECA),验证表明可以在同一次运行中分析油样中的 MDA、HHE、HNE 和 2,4-DECA,对 MDA 有很好的准确度,对其他 3 种醛在指定浓度下有一定的准确度。

2.2.3.2 GC-MS GC-MS 能够比较准确地对羰基化合物进行定性定量分析,允许在多种情况下指定结构。Surh 等^[34]采用选择性离子监测 GC-MS 测定了 56 种市售 PUFA 强化食品中 HHE 和 HNE 的含量。Pstergiadis 等^[23]建立了高效、安全的 GC-MS 检测方法,适用于食品中 HHE 和 HNE 的检测。付湘晋等^[35]以五氟苯肼为衍生化试剂,采用固相微萃取-气相/质谱法(SPME-GC/MS)检测鱼糜中的 RCCs 包括 MDA、HHE、HNE。然而,高分子量和极性化合物的鉴定困难以及分子离子的缺失限制了 GC-MS 的应用,且分析时间较长,对于同时检测多种羰基化合物并不适用^[28, 32]。

2.2.3.3 试剂盒快速检测 市场上检测鱼组织中 4-HHE 和 4-HNE 的试剂盒的出现满足了人们对 HHE 和 HNE 检测的需求。该方法采用双抗体夹心法测定标本中 4-HNE 或 4-HHE 的含量。该方法的原理为将 4-HNE 或 4-HHE 抗体包被微孔板,制成固相抗体,往包被单抗的微孔中依次加入经过匀浆离心后的鱼组织上清液标本,再与 HRP 标记的 4-HNE 或 4-HHE 抗体结合,形成抗体-抗原-酶标抗体复合物,经过彻底洗涤后加底物 TMB 显色。TMB 在 HRP 酶的催化下转化成蓝色,并在酸的作用下转化成最终的黄色。颜色的深浅和样品中 4-HNE 或 4-HHE 的含量具有正相关关系。用酶标仪在 450 nm 波长下测定吸光度(OD 值),通过标准曲线计算样品中鱼组织中的 4-HNE 或 4-HHE 浓度。试剂盒与传统的检测方法相比,检测速度更快,操作更简便,在应对突发事件时,试剂盒这种快速检测技术高效性的优势得到充分体现。然而试剂盒的弊端也很明显,其检测范围在 2~65 ng·L⁻¹ 之间,对于含量过高或过低以及需要准确定量分析的样品,还是要利用液相分离与质谱检测相结合的方法进行准确地分析测定。

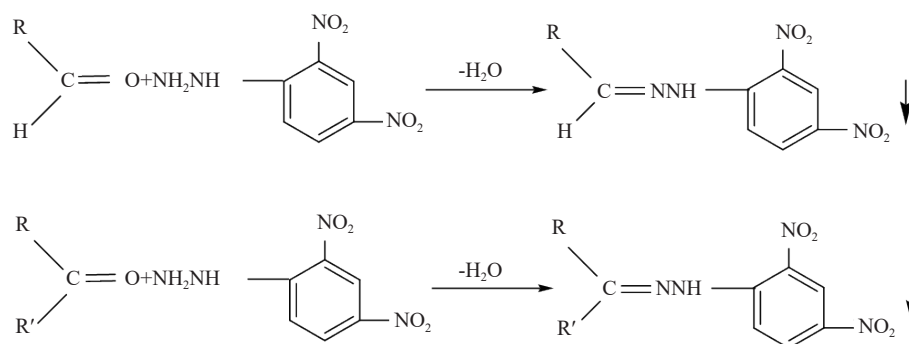


图 5 羰基化合物与 2,4-二硝基苯肼的反应

Fig.5 Reaction of carbonyl compounds with DNPH

综上,国标中虽然规定了羰基化合物总量的测定方法,但该方法适用于有机溶剂,不合适化学成分复杂的食品。国标中只规定了食品中活泼羰基化合物 MDA 的检测方法,其他的活泼羰基化合物如 HHE 和 HNE 并未有相关的规定,虽然进行了一些检测方法的研究,但是其准确性和通用性还有待提高。

3 与 RCCs 有关的饮食暴露量研究

RCCs 中的醛类衍生物是在脂肪、油和糖的烹调过程中产生的,因此食品是人体 RCCs 暴露的重要途径。根据 RCCs 的暴露量的研究判断其毒性更为科学可靠。仅根据饮食消耗,估计人体每天的 α, β 不饱和醛耐受剂量为 $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{bw}^{[36]}$ 。2006 年 WHO 的一个工作组通过小鼠实验确定了丙烯醛的容许口服摄入量为 $7.5 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \text{bw} \cdot \text{d}^{-1}$,但由于分析困难和缺乏可靠的含量测量,无法评估通过食物接触的丙烯醛^[37]。

因此,活泼羰基化合物饮食暴露量的调查研究就更为重要,但目前的研究较为有限。2005 年在韩国的一项研究显示,根据 2001 年韩国膳食摄入量调查资料,韩国人每天接触 4-羟基-2-烯炔(不包括油炸食品)为 $4.3 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{d}^{-1}$,由 $1.6 \text{ } \mu\text{g}$ HHE 和 $2.7 \text{ } \mu\text{g}$ HNE 组成。据计算,韩国人每天可额外接触油炸食品中的 4-羟基-2-烯炔 $11.8 \text{ } \mu\text{g}$ 以上。韩国人摄入植物油、鱼、贝类和一些油炸食品中的 4-羟基-2-烯炔的综合暴露量为 $16.1 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{d}^{-1}$,相当于 60 kg 韩国成年人 $0.3 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \text{bw} \cdot \text{d}^{-1}$,这种情况下可能不会对人体健康造成风险^[13]。对于普遍喜食油炸食品或干腌制水产品的居民而言,RCCs 摄入极易超标,会造成一定的食品安全风险。尽管有研究报告了 4-羟基-2-烯炔的毒性,但还没有足够的数据表明 RCCs 的实际安全剂量,因此有待进一步研究。

2014 年在比利时的一项研究中,对含有 HHE、HNE、MDA 的 16 种食品类别进行了分析,结合从比利时人口的国家代表性样本中获得的消费数据,进行了定量暴露评估:84% 的分析样品 MDA 超标,63% 的样品检测到 HNE 和 16% 的 HHE, HHE 和 HNE 的检测率分别为 63% 和 16%。食用干坚果、油炸零食、薯条和腌制肉末产品对 MDA 和 HNE 的摄入量贡献最大。食用腌制和切碎的生肉产品的人中有一小部分人(3.8%),他们可能处于潜在的风险中。但由于没有可靠的 MDA、HNE 和 HHE 的毒理学数据,研究者认为应该采取预防措施,防止食品在加工和储存过程中的脂质氧化^[38]。

4 羰基化合物的消减与抑制

食品中 RCCs 的产生与很多因素相关,比如储藏过程中温度的变化、样品中盐含量、加工方式等,其中,添加抗氧化剂是最有效的控制 RCCs 产生与累积的手段^[1, 35, 39]。抗氧化剂是通过清除自由基、氧化前螯合金属、淬灭单线态氧和光敏剂以及灭活脂氧合酶来减缓食物的氧化速率,从而抑制脂肪氧化。酚

类化合物、抗坏血酸、氨基酸和其他的一些天然提取物作为重要的天然抗氧化剂被广泛地食用^[1, 39-43]。抗氧化剂可以与 RCCs 直接反应,阻断蛋白质-RCCs 的反应,从而起到保护蛋白质的作用。

天然多酚具有较强的延缓脂质过氧化的抗氧化活性,具有清除自由基能力与抑制脂质过氧化诱导的 BSA 修饰之间的相关性,可在一定程度上阻断对蛋白质羰基化的不利影响^[41]。刘焱等^[42]研究发现茶多酚能够通过抑制巯基含量的减少来抑制鱼油氧化而导致的蛋白质变性。苗苗^[43]研究发现茶多酚可以降低鱼糜中的 POV 值,表明茶多酚可以有效减缓氢过氧化物的积累,但是并未完全抑制其生成;同时研究还发现,贮藏后期鱼糜的 TBARS 值也有一定程度的降低。孙涛等^[44]研究发现槲皮素和葛根素能促进非酶糖基化早期产物果糖胺和 5-HMF 的生成,对反应中期的羰基化合物具有较强的抑制作用。因此有理由认为,酚类化合物清除 RCCs 的替代机制可能共同作用于控制蛋白质、脂质过氧化以及一些相关的人类疾病。

维生素 C 在体外可以与 HNE 形成迈克尔型结合物。反应为抗坏血酸的活化 C-H 基团在 HNE 的 C=C 双键上的 Michael 加成,然后环化生成半缩醛^[32]。但抗坏血酸性质不稳定,加工过程中的光照高温等因素会使其发生分解,从而变质失效。

抗氧化活性肽与氨基酸也可以与 RCCs 反应生成各种加合产物,如 Schiff 碱和 Michael 加合产物等,显著降低 RCCs 的含量,其中,L-半胱氨酸(Cys)应用较多,效果较好^[45-46]。

另外,把各种天然抗氧化剂按一定比例进行复配,研究新型复合抗氧化剂也是近年来抗氧化领域研究的热潮。已有研究发现,相对于单一的抗氧化剂,复合抗氧化剂的抗氧化效果更好^[47]。孙逸雯等^[48]研究了维生素 E 和迷迭香提取物复合的天然抗氧化剂对亚麻籽油氧化稳定性的影响,结果表明复合天然抗氧化剂可有效延缓亚麻籽油的氧化酸败。为提高冻藏大黄花鱼片的品质,卿明民等^[49]对茶多酚、维生素 E、异抗坏血酸钠进行了优化复配,结果表明复合抗氧化剂能有效抑制其因脂肪氧化引起的组织损失。

RCCs 的消减控制主要通过两条途径,一是通过抑制脂类氧化控制 RCCs 的产生;二是通过与 RCCs 发生反应,对其起到消减的作用。通过添加抗氧化剂对 RCCs 进行消减控制的主要问题是如何提高抗氧化剂的稳定性,因此复合型的抗氧化剂和稳定性更强的抗氧化剂更为有效。

5 结论与展望

本文主要综述了由脂肪氧化产生的以 HHE 和 HNE 为代表的 RCCs 的检测方法、饮食暴露和消减控制。近年来,国内外对于婴儿奶粉^[34]、油炸食品^[24, 50]、肉制品^[51-52]、植物油^[53]、白酒及其制品^[54]中的 RCCs 均有一定的研究。RCCs 对食品安全有重要影响,但

目前的研究存在以下问题:缺少对于水产品中 RCCs 累积规律的研究以及国家安全标准限量的规定,特别是我国传统特色干腌制品,如腌鱼、咸鱼干等的相关研究非常匮乏;尚未建立出针对于干制水产品中 RCCs 的有效控制手段。在今后的工作中应从蛋白质氧化、脂肪氧化、RCCs、自由基和抗氧化剂等之间的关系开展研究,解析 RCCs 累积机制与脂肪氧化机制,开发能够有效消减控制 RCCs 产生和累积的抗氧化剂,提高干制水产品的食用品质及安全性。

参考文献

- [1] 付湘晋,罗煜,刘咏,等.水产品、肉制品中活泼羰基化合物的研究进展[J].*现代食品科技*,2017,33(6):332-338. [FU Xi-angjin, LUO Yu, LIU Yong. Research on reactive carbonyl compounds in aquatic products and meat products: A review[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2017, 33(6): 332-338.]
- [2] 江楷煜.氨基酸对活泼羰基化合物的消除机理及其化合物的细胞毒性研究[D].广州:暨南大学,2020. [JIANG Kaiyu. Scavenging mechanism of amino acids for reactive carbonyl species and the cytotoxicity of selected adducts[D]. Guangzhou: Jinan University, 2020.]
- [3] KEHM R, BALDENSPERGER T, RAUPBACH J, et al. Protein oxidation-formation mechanisms, detection and relevance as biomarkers in human diseases[J]. *Redox Biology*, 2021, 42: 1-23.
- [4] ALTOMARE A, BARON G, BALBINOT M, et al. In-depth AGE and ALE profiling of human albumin in heart failure: *Ex vivo* studies[J]. *Antioxidants*, 2021, 10(358): 1-21.
- [5] JAGANJAC M, CINDRIC M, JAKOVCEVIC A, et al. Lipid peroxidation in brain tumors[J]. *Neurochemistry International*, 2021, 149: 105118.
- [6] GALLO G, SPROVIERI P, MARTINO G. 4-Hydroxynonenal and oxidative stress in several organelles and its damaging effects on cell functions[J]. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 2020, 71(1): 15-33.
- [7] 原野,潘碧莹,龚嘉华,等.油脂过氧化形成的活性羰基物质(RCS)的毒性作用及控制策略研究[J].*中国油脂*,2018,43(1): 89-93. [YUAN Ye, PAN Biying, GONG Jiahua, et al. Toxicity and inhibition strategy of reactive carbonyl species (RCS) from lipid peroxidation[J]. *China Oils and Fats*, 2018, 43(1): 89-93.]
- [8] ESTERBAUER H, SCHAUR R J, ZOLLNER H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes[J]. *Free Radical Biology Medicine*, 1991, 11(1): 81-128.
- [9] MA L, LIU G, CHENG W, et al. The distribution of 4-hydroxy-hexenal and 4-hydroxy-nonenal in different vegetable oils and their formation from fatty acid methyl esters[J]. *International Journal of Food Science and Technology*, 2019, 54(5S1): 1720-1728.
- [10] HEMATYAR N, RUSTAD T, SAMPELS S, et al. Relationship between lipid and protein oxidation in fish[J]. *Aquaculture Research*, 2019, 50(5): 1393-1403.
- [11] TENYANG N, TIENCHEU B, TONFACK D F, et al. Alteration of the lipid of red carp (*Cyprinus carpio*) during frozen storage[J]. *Food Science & Nutrition*, 2019, 7(4): 1371-1378.
- [12] SCHAUR R J, SIEMS W, BRESGEN N, et al. 4-Hydroxy-nonenal-a bioactive lipid peroxidation product[J]. *Biomolecules*, 2015, 5(4): 2247-2337.
- [13] CHOE E, MIN D B. Mechanisms of antioxidants in the oxidation of foods[J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2009, 8(4): 345-358.
- [14] ZHAO B, ZHOU H, ZHANG S, et al. Changes of protein oxidation, lipid oxidation and lipolysis in Chinese dry sausage with different sodium chloride curing salt content[J]. *Food Science and Human Wellness*, 2020, 9(4): 328-337.
- [15] MOLLER I M, ROGOWSKA-WRZESINSKA A, RAO R S P. Protein carbonylation and metal-catalyzed protein oxidation in a cellular perspective[J]. *Journal of Proteomics*, 2011, 74(11S1): 2228-2242.
- [16] DALLE-DONNE I, ALDINI G, CARINI M, et al. Protein carbonylation, cellular dysfunction, and disease progression[J]. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2006, 10(2): 389-406.
- [17] BREITZIG M, BHIMINENI C, LOCKEY R, et al. 4-Hydroxy-2-nonenal: A critical target in oxidative stress?[J]. *American Journal Physiology Cell Physiology*, 2016, 311(4): C537-C543.
- [18] DOORN J A, PETERSEN D R. Covalent adduction of nucleophilic amino acids by 4-hydroxynonenal and 4-oxononenal[J]. *Chemico-Biological Interactions*, 2003, 143: 93-100.
- [19] LUND M N, HEINONEN M, BARON C P, et al. Protein oxidation in muscle foods: A review[J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2011, 55(1): 83-95.
- [20] FEDOROVA M, BOLLIENEI R C, HOFFMANN R. Protein carbonylation as a major hallmark of oxidative damage: Update of analytical strategies[J]. *Mass Spectrometry Reviews*, 2014, 33(2): 79-97.
- [21] LUNA C, ESTEVEZ M. Oxidative damage to food and human serum proteins: Radical-mediated oxidation vs. glyco-oxidation[J]. *Food Chemistry*, 2018, 267(SI): 111-118.
- [22] GOLDRING C, CASINI A F, MAELLARO E, et al. Determination of 4-hydroxynonenal by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection[J]. *Lipids*, 1993, 28(2): 141-145.
- [23] PAPASTERGIADIS A, MUBIRU E, VAN LANGENHOVE H, et al. Development of a sensitive and accurate stable isotope dilution assay for the simultaneous determination of free 4-hydroxy-2-(E)-nonenal and 4-hydroxy-2-(E)-hexenal in various food matrices by gas chromatography-mass spectrometry[J]. *Food Analytical Methods*, 2014, 7(4): 836-843.
- [24] SURH J, KWON H. Estimation of daily exposure to 4-hydroxy-2-alkenals in Korean foods containing n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids[J]. *Food Additives and Contaminants Part A-Chemistry Analysis Control Exposure & Risk Assessment*, 2005, 22(8): 701-708.
- [25] 滕浩. 衍生化-质谱法分析生物样品中的活泼羰基化合物[D].长沙:湖南师范大学,2019. [TENG Hao. Derivatization-mass spectrometry for the analysis of reactive carbonyl compounds in biological samples[D]. Changsha: Hunan Normal University, 2019.]
- [26] DOUNY C, TIHON A, BAYONNET P, et al. Validation of the analytical procedure for the determination of malondialdehyde

- and three other aldehydes in vegetable oil using liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) and application to linseed oil[J]. *Food Analytical Methods*, 2015, 8(6): 1425–1435.
- [27] UCHIDA T, GOTOH N, WADA S. Method for analysis of 4-hydroxy-2-(E)-nonenal with solid-phase microextraction[J]. *Lipids*, 2002, 37(6): 621–626.
- [28] 崔梅梅. LC-MS/MS 检测 α -二羰基化合物的方法建立与应用[D]. 天津: 天津科技大学, 2017. [CUI Meimei. Establishment and application of LC-MS/MS for the detection of α -dicarbonyl compounds[D]. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology, 2017.]
- [29] 王子宜, 韩海燕, 王静. 固相微萃取在样品分析中的最新研究进展和应用前景[J]. 广州化工, 2020, 48(12): 18–20. [WANG Ziyi, HAN Haiyan, WANG Jing. The latest research progress and application prospect of solid phase microextraction in sample analysis[J]. Guangzhou Chemical Industry, 2020, 48(12): 18–20.]
- [30] 王玉, 赵延宁, 薛勇, 等. 基于电子鼻与 SPME-GC-MS 法分析咸鲛鱼加工过程挥发性风味成分变化[J]. 食品工业科技, 2018, 39(24): 266–272. [WANG Yu, ZHAO Yanning, XUE Yong, et al. Analysis of volatile flavor compounds changes during sated Spanish Mackerel processing by electronic nose and SPME-GC-MS[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2018, 39(24): 266–272.]
- [31] 余明月, 杨小秋, 樊蓉, 等. 顶空-固相微萃取-气相色谱-质谱联用法用于非目标性筛选饮用水中挥发性有机物[J]. 分析化学, 2020, 48(9): 1228–1235. [YU Mingyue, YANG Xiaoqiu, FAN Rong, et al. Non-target screening analysis of volatile organic compounds in drinking water by headspace-solid phase microextraction gas chromatography-mass spectrometry[J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2020, 48(9): 1228–1235.]
- [32] MIRANDA C L, REED R L, KUIPER H C, et al. Ascorbic acid promotes detoxification and elimination of 4-hydroxy-2(E)-nonenal in human monocytic THP-1 cells[J]. *Chemical Research in Toxicology*, 2009, 22(5): 863–874.
- [33] JOHNSTON J W, HORNE S, HARDING K, et al. Evaluation of the 1-methyl-2-phenylindole colorimetric assay for aldehydic lipid peroxidation products in plants: Malondialdehyde and 4-hydroxynonenal[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2007, 45(2): 108–112.
- [34] SURH J, LEE S, KWON H. 4-Hydroxy-2-alkenals in polyunsaturated fatty acids-fortified infant formulas and other commercial food products[J]. *Food Additives and Contaminants*, 2007, 24(11): 1209–1218.
- [35] 付湘晋, 刘颖, 李忠海, 等. 鱼糜中活泼羰基化合物在胶凝过程中的变化[J]. 食品工业科技, 2017, 38(10): 72–75. [FU Xi-angjin, LIU Ying, LI Zhonghai, et al. Effect of gelling on the active carbonyl compounds in surimi[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2017, 38(10): 72–75.]
- [36] LOPACHIN R M, GAVIN T. Molecular mechanisms of aldehyde toxicity: A chemical perspective[J]. *Chemical Research in Toxicology*, 2014, 27(7): 1081–1091.
- [37] DIETER M. NTP technical report on the toxicity studies of ethylene glycol ethers: 2-Methoxyethanol, 2-ethoxyethanol, 2-butoxyethanol (CAS Nos. 109-86-4, 110-80-5, 111-76-2) administered in drinking water to F344/N rats and B6C3F1 mice[J]. *Toxic Rep Ser*, 1993, 26: 1–15.
- [38] PAPASTERGIADIS A, FATOUH A, JACXSENS L, et al. Exposure assessment of malondialdehyde, 4-hydroxy-2-(E)-nonenal and 4-hydroxy-2-(E)-hexenal through specific foods available in Belgium[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2014, 73: 51–58.
- [39] ZHANG D, ZHU P, HAN L, et al. Highland barley and its by-products enriched with phenolic compounds for inhibition of pyrraline formation by scavenging alpha-dicarbonyl compounds[J]. *Foods*, 2021, 10(110): 1–15.
- [40] 朱卫星, 王远亮, 李宗军. 蛋白质氧化机制及其评价技术研究进展[J]. 食品工业科技, 2011, 32(11): 483–486. [ZHU Weixing, WANG Yuanliang, LI Zongjun. Research progress of protein oxidation mechanism and evaluation technology[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2011, 32(11): 483–486.]
- [41] ZHU Q, QIAN Y, ZHENG Z, et al. Natural polyphenols alleviated lipid peroxidation-induced modification on BSA[J]. *Journal of Functional Foods*, 2013, 5(1): 355–361.
- [42] 刘焱, 刘伦伦, 赵晨, 等. 茶多酚对氧化脂肪-蛋白质体系的作用研究[J]. 激光生物学报, 2015, 24(5): 490–494. [LIU Yan, LIU Lunlun, ZHAO Chen, et al. The effect of tea polyphenols on the oxidation of fat-protein system[J]. *Acta Laser Biology Sinica*, 2015, 24(5): 490–494.]
- [43] 苗苗. 鱼糜制品贮藏过程中脂肪氧化及其控制技术研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2016. [MIAO Miao. Studies on lipid oxidation and its control technology of surimi products during storage and transportation[D]. Harbin: Harbin Institute of Technology, 2016.]
- [44] 孙涛, 李铭, 谢晶, 等. 槲皮素与葛根素对食品体系中非酶糖基化的抑制作用[J]. 食品科学, 2014, 35(3): 47–49. [SUN Tao, LI Ming, XIE Jing, et al. Inhibitory effect of flavonoid compounds on dietary nonenzymatic glycation[J]. *Food Science*, 2014, 35(3): 47–49.]
- [45] YIN Z, JIANG K, SHI L, et al. Formation of di-cysteine acrolein adduct decreases cytotoxicity of acrolein by ROS alleviation and apoptosis intervention[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 387: 1–11.
- [46] ZHAO Q, ZOU Y, HUANG C, et al. Formation of a hydroxymethylfurfural-cysteine adduct and its absorption and cytotoxicity in Caco-2 cells[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2017, 65(45): 9903–9909.
- [47] 王莹, 曾祥辉, 黄大川, 等. 迷迭香复配抗氧化剂对食品的影响及应用研究进展[J]. 中国调味品, 2020, 45(10): 181–185. [WANG Ying, ZENG Xianghui, HUANG Dachuan, et al. Research progress on the effect of rosemary compound antioxidants on food and their application[J]. *China Condiment*, 2020, 45(10): 181–185.]
- [48] 孙逸雯, 魏训娇, 吴昕月, 等. 复合天然抗氧化剂及新型包装对亚麻籽油氧化稳定性的影响[J]. 中国油脂, 2019, 44(11): 86–89. [SUN Yiwen, WEI Xunjiao, WU Xinyue, et al. Effect of complex natural antioxidants and new packaging on oxidative stability of linseed oil[J]. *China Oils and Fats*, 2019, 44(11): 86–89.]

- [49] 卿明民, 陈朋, 臧静楠, 等. 复合抗氧化剂对冻藏大黄花鱼片品质的影响[J]. *保鲜与加工*, 2021, 21(2): 13–19. [QING Mingmin, CHEN Peng, ZANG Jingnan, et al. Effects of complex antioxidants on qualities of frozen *Larimichthys croceas* fillets[J]. *Storage and Process*, 2021, 21(2): 13–19.]
- [50] 赵佳慧. 炸鸡排工艺和配料对羰基化合物和 3-氯丙醇酯生成的影响[D]. 南昌: 南昌大学, 2020. [ZHAO Jiahui. Effects of technology and ingredients of fried chicken on the formation of 3-chloropropanol ester and carbonyl compounds[D]. Nanchang: Nanchang University, 2020.]
- [51] RUAN E D, AALHUS J, JUAREZ M. A rapid, sensitive and solvent-less method for determination of malonaldehyde in meat by stir bar sorptive extraction coupled thermal desorption and gas chromatography/mass spectrometry with in situ derivatization[J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2014, 28(24): 2723–2728.
- [52] 温荣欣, 扈莹莹, 殷小钰, 等. 食盐添加量对哈尔滨风干肠脂质和蛋白氧化及挥发性化合物形成的影响[J]. *食品科学*, 2020, 41(2): 29–36. [WEN Rongxin, HU Yingying, YIN Xiaoyu, et al. Effect of salt addition on lipid and protein oxidation and volatile compound formation in Harbin dry sausages[J]. *Food Science*, 2020, 41(2): 29–36.]
- [53] MA L, LIU G, CHENG W, et al. The effect of heating on the formation of 4-hydroxy-2-hexenal and 4-hydroxy-2-nonenal in unsaturated vegetable oils: Evaluation of oxidation indicators[J]. *Food Chemistry*, 2020, 321(126603).
- [54] 司波, 袁雯雯, 顾会会, 等. 高效液相色谱分析白酒及加工中活泼羰基化合物[J]. *食品与发酵工业*, 2021, 47(10): 240–245. [SI Bo, YUAN Wenwen, GU Huihui, et al. Simultaneous determination of reactive carbonyl species in Chinese baijiu and its processing by HPLC[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2021, 47(10): 240–245.]