

不同结球甘蓝品种硫代葡萄糖苷组分及含量分析

胡丽萍 刘光敏 康俊根 赵学志 马 越 何洪巨*

〔北京市农林科学院蔬菜研究中心, 农业部华北地区园艺作物生物学与种质创制重点实验室, 农业部都市农业(北方)重点实验室, 北京 100097〕

摘 要: 采用 HPLC 法, 对 11 个结球甘蓝叶片硫代葡萄糖苷(硫苷)组分及含量进行测定。结果表明: 结球甘蓝叶片中共含有 9 种硫苷, 分别为 3-甲基硫氧烯丙基硫苷(IBE)、2-羟基-3-丁烯基硫苷(PRO)、2-丙烯基硫苷(SIN)、4-甲基硫氧丁基硫苷(RAA)和 3-丁烯基硫苷(NAP)等 5 种脂肪族硫苷, 4-羟基吲哚基-3-甲基硫苷(4OH)、3-甲基吲哚基硫苷(GBC)、4-甲氧基吲哚基-3-甲基硫苷(4ME)和 1-甲氧基吲哚基-3-甲基硫苷(NEO)等 4 种吲哚族硫苷; IBE、SIN 和 GBC 是结球甘蓝叶片中硫苷的主要组分, 三者总量占总硫苷含量的 63.60%~91.06%。结球甘蓝叶片总硫苷含量在 $3.59 \sim 19.70 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ (DW) 之间, 总脂肪族硫苷含量在 $2.74 \sim 15.15 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ (DW) 之间, 总吲哚族硫苷含量在 $0.81 \sim 7.19 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ (DW) 之间。

关键词: 结球甘蓝; 硫代葡萄糖苷; 高效液相色谱法

硫代葡萄糖苷(Glucosinolates, 简称硫苷)是一类含氮和硫的次生代谢物质(Fahey et al., 2001; Halkier & Gershenzon, 2006)。所有硫苷都由 β -D-葡萄糖连接 1 个磺酸盐醛基基团和 1 个来源于氨基酸的侧链 R 构成(Fahey et al., 2001)。根据侧链 R 基团的不同, 可以把硫苷分为脂肪族、吲哚族和芳香族 3 类(Mithen, 2001)。完整的硫苷并不具有生理活性, 当其被咀嚼或被机械破碎时, 就会在内源芥子酶(Myrosinase, EC 3.2.3.1)的作用下水解产生多种具有生物活性的降解产物。这些降解产物具有抗虫、抗菌、抗癌, 以及影响植物本身风味等功能(Doughty et al., 1995; Bartlett et al., 1996; Mithen, 2001; Mithen et al., 2003; Rouzaud et al., 2003; 李鲜等, 2006)。人类流行病学针对硫苷的研究结果表明, 经常食用富含硫苷的十字花

科蔬菜, 如青花菜、甘蓝、花椰菜、芜菁、大白菜等可以有效地预防乳腺癌、结肠癌、肺癌、前列腺癌等多种癌症的发生(Nijhoff et al., 1995; Fahey et al., 1997; Manson et al., 1997; Mithen, 2001; Mithen et al., 2003; Keck & Finley, 2004; Cartea & Velasco, 2008)。

结球甘蓝(*Brassica oleracea* L. var. *capitata* L.) ($2x=18$) 属十字花科芸薹属甘蓝种, 是我国主要的食用蔬菜之一。甘蓝是公认的抗癌蔬菜(田多成等, 2014), 早在 1977 年国外学者就已经开展了有关甘蓝中硫苷组分、含量(Daxenbichler et al., 1977; Kushad et al., 2004)以及加工方式对硫苷含量的影响(Song & Thornalley, 2007)等方面的研究。近年来, 国内科研工作者也开始从事甘蓝硫苷方面的研究。何洪巨等(2002)对十字花科芸薹属中白菜类、芥菜类和甘蓝类蔬菜的硫苷组成与含量进行了分析, 结果表明甘蓝类蔬菜中硫苷含量最高, 白菜类蔬菜中硫苷含量最低。弓志青等(2011)对甘蓝内叶、外叶、漂烫及真空干燥后的硫苷含量进行了组分鉴定和含量分析, 结果表明甘蓝内叶和外叶的硫苷组分相同, 均含有 5 种脂肪族硫苷和 1 种吲

胡丽萍, 女, 博士, 助理研究员, 专业方向: 蔬菜营养品质, E-mail: huliping@nercv.org

* 通讯作者(Corresponding author): 何洪巨, 男, 博士, 研究员, 专业方向: 蔬菜营养品质, E-mail: hongjuhe@hotmail.org

收稿日期: 2014-11-11; 接受日期: 2015-02-10

基金项目: 北京市农林科学院科技创新能力建设专项(KJXC20140111), 农业部公益性行业专项(20130309)

噻族硫苷; 漂烫、真空干燥后硫苷的保存率分别为 87.7% 和 37.4%。最近, 田多成等 (2014) 对结球甘蓝 F_2 群体硫苷总含量进行了 QTL 定位和分析, 检测到 3 个控制甘蓝硫苷含量性状的 QTLs, 同时得到 2 个控制硫苷含量 QTLs 共分离的分子标记。已有的研究表明, 同一种蔬菜作物的不同品种之间硫苷含量存在较大差异 (何洪巨 等, 2002; 张丽等, 2010; 廖永翠 等, 2011)。本试验对 11 个结球甘蓝品种的硫苷组分及含量进行测定, 以期对甘蓝种质资源利用以及选育富含硫苷的甘蓝新品种提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试的 11 个结球甘蓝品种分别为传奇、春秋绿球、绿甘 4 号、绿甘 6 号、绿甘 7 号、绿甘 8 号、瑞绿、天宝春秋、天宝春早、B183、B200, 均由北京研益农科技发展中心提供, 均为一代杂种。

各材料均于 2013 年 2 月 1 日播种, 4 月 3 日定植于北京市农林科学院蔬菜研究中心通州农场, 采用露地畦栽培, 株行距 50 cm 见方。随机排列, 3 次重复, 小区面积 6 m², 每小区种植 36 株。6 月 6 日取新鲜叶片进行硫苷测定。

1.2 试验方法

1.2.1 硫苷的提取 硫苷的提取参考何洪巨等 (2002) 的方法, 并做适当修改。取新鲜甘蓝叶片, 在真空冷冻干燥机内干燥。准确称量 0.2 g 冷冻干燥样品于 15 mL 离心管中, 依次加入 0.25 mL 苯甲基硫苷 (Glucotropaeolin, TRO, 内标) 和 5 mL 预热的甲醇 (100%), 80 ℃ 水浴 20 min。3 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 取上清液倒入另一离心管中, 冰浴保存。沉淀物继续用 70% 的甲醇重复离心 2 次, 合并上清液。取 2 mL 上清液过 DEAE 离子交换柱, 然后用 2 mL 0.02 mol·L⁻¹ 醋酸钠溶液冲洗柱子。把柱子转移至另一玻璃试管, 加入 75 μL 硫酸酯酶溶液, 封口过夜。用 0.5 mL 双蒸水冲洗过夜的柱子 3 次, 洗出液经 0.45 μm 滤膜过滤后用于 HPLC 分析。

1.2.2 HPLC 分析 采用 SHIMADZU-LC-20AD 高效液相色谱系统, LC-20AD 型梯度洗脱泵, SPD-20A 型紫外检测器, 检测波长 229 nm。采用 Waters

C18 色谱柱 (3.9 mm × 150 mm, 4 μm), 柱温 25 ℃, 进样量 10 μL。流动相 A 为 0.05% 四甲基氯化铵, 流动相 B 为 0.05% 四甲基氯化铵 (双蒸水: 乙腈 = 4 V: 1 V), 按表 1 进行梯度洗脱, 在 31 min 内可使硫苷全部分离。流动相流速为 1.0 mL·min⁻¹。

表 1 流动相梯度组成

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0	100	0
1	100	0
21	0	100
26	100	0
31	100	0

采用苯甲基硫苷作为内标, 根据保留时间和峰面积对硫苷组分进行定量测定。利用内标和响应因子计算硫代葡萄糖苷的含量, 以 μmol·g⁻¹ (DW) 为单位。

2 结果与分析

2.1 甘蓝叶片中硫苷组分

采用 HPLC 法对 11 个甘蓝品种叶片硫苷构成和含量进行了测定, 共检测到 9 种硫苷 (图 1, 表 2), 分别属于脂肪族和吲哚族, 其中脂肪族硫苷 5 种, 分别是 3- 甲基硫氧烯丙基硫苷 (IBE)、2- 羟基-3- 丁烯基硫苷 (PRO)、2- 丙烯基硫苷 (SIN)、4- 甲基硫氧丁基硫苷 (RAA) 和 3- 丁烯基硫苷 (NAP); 吲哚族硫苷 4 种, 分别是 4- 羟基

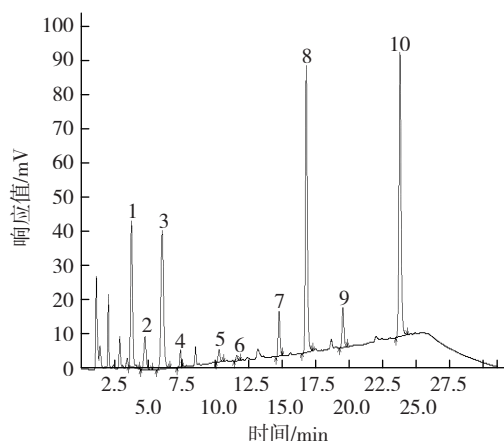


图 1 甘蓝叶片中硫苷含量检测 HPLC 图谱

1: 3- 甲基硫氧烯丙基硫苷 (IBE); 2: 2- 羟基-3- 丁烯基硫苷 (PRO); 3: 2- 丙烯基硫苷 (SIN); 4: 4- 甲基硫氧丁基硫苷 (RAA); 5: 3- 丁烯基硫苷 (NAP); 6: 4- 羟基吲哚基-3- 甲基硫苷 (4OH); 7: 苯甲基硫苷 (内标); 8: 3- 甲基吲哚基硫苷 (GBC); 9: 4- 甲氧基吲哚基-3- 甲基硫苷 (4ME); 10: 1- 甲氧基吲哚基-3- 甲基硫苷 (NEO)。

表 2 甘蓝叶片中硫苷的组分

色谱峰号	化学名称	常用名	缩写	所属类型
1	3- 甲基硫氧烯丙基硫苷 (3-Methyl sulfinyl propyl glucosinolate)	Glucobriferin	IBE	脂肪族
2	2- 羟基-3- 丁烯基硫苷 (2-Hydroxy-3-butenyl glucosinolate)	Progoitrin	PRO	脂肪族
3	2- 丙烯基硫苷 (2-Propenyl glucosinolate)	Sinigrin	SIN	脂肪族
4	4- 甲基硫氧丁基硫苷 (4-Methyl sulfinyl butyl glucosinolate)	Glucoraphanin	RAA	脂肪族
5	3- 丁烯基硫苷 (3-Butenyl glucosinolate)	Gluconapin	NAP	脂肪族
6	4- 羟基吲哚基-3- 甲基硫苷 (4-Hydroxyindol-3-ylmethyl glucosinolate)	4-Hydroxy glucobrassicin	4OH	吲哚族
8	3- 甲基吲哚基硫苷 (Indol-3-ylmethyl glucosinolate)	Glucobrassicin	GBC	吲哚族
9	4- 甲氧基吲哚基-3- 甲基硫苷 (4-Methoxyindol-3-ylmethyl glucosinolate)	4-Methoxy glucobrassicin	4ME	吲哚族
10	1- 甲氧基吲哚基-3- 甲基硫苷 (1-Methoxyindol-3-ylmethyl glucosinolate)	Neoglucobrassicin	NEO	吲哚族

吲哚基-3- 甲基硫苷 (4OH)、3- 甲基吲哚基硫苷 (GBC)、4- 甲氧基吲哚基-3- 甲基硫苷 (4ME) 和 1- 甲氧基吲哚基-3- 甲基硫苷 (NEO)。

11 个甘蓝品种中均没有检测到芳香族硫苷。

2.2 不同甘蓝品种叶片中总硫苷含量

由图 2 可以看出, 不同品种甘蓝叶片中总硫苷含量差异较大, 大致可以归为 3 类: B183 和绿甘 6 号总硫苷含量较高, 绿甘 4 号和绿甘 8 号总硫苷含量较低, 其余 7 个品种总硫苷含量居中; 绿甘 4 号总硫苷含量最低, 为 $3.59 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ (DW); 绿甘 6 号总硫苷含量最高, 为 $19.70 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ (DW), 是绿甘 4 号的 5.49 倍。

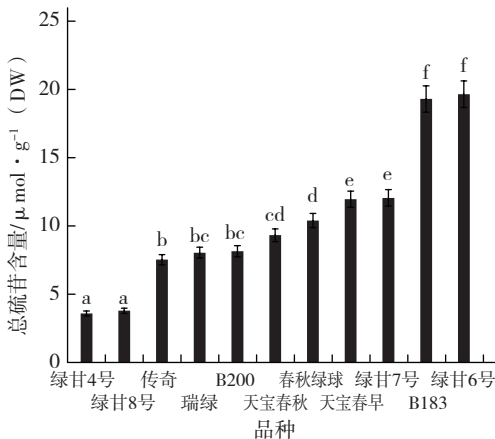


图 2 不同甘蓝品种叶片中总硫苷含量

图柱上不同小写字母表示差异显著 ($\alpha=0.05$)。

2.3 不同甘蓝品种叶片中硫苷的组分与含量

HPLC 检测结果表明 (表 3、表 4), 不同甘蓝品种间硫苷的组分和含量不尽相同, 总脂肪族硫苷含量在 $2.74 \sim 15.15 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ (DW) 之间, 总吲哚族硫苷含量在 $0.81 \sim 7.19 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ (DW) 之间。除瑞绿外, 其余 10 个甘蓝品种的总脂肪族硫苷含量均高于总吲哚族硫苷含量, 占总硫苷含量的 60% 以上; 天宝春早叶片中总脂肪族硫苷含量占总硫苷

含量的比例最高, 达 86.99%; 瑞绿叶片中总脂肪族硫苷含量占总硫苷含量的 49.63%, 略低于吲哚族硫苷。

进一步分析发现, 11 个甘蓝品种叶片中主要的硫苷成分是 IBE (脂肪族)、SIN (脂肪族) 和 GBC (吲哚族), 三者总量占总硫苷含量的 63.60% ~ 91.06%。除绿甘 8 号外, IBE 在其余 10 个甘蓝品种叶片中的含量均较高, 在 $1.28 \sim 7.66 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ (DW) 范围内, 在总硫苷含量中所占的比例在 22.69% ~ 52.52% 范围内; IBE 含量最高的品种是 B183 [$7.66 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ (DW)], 在总硫苷含量中所占比例最高的品种是绿甘 7 号 (52.52%); IBE 在绿甘 8 号中的含量极低, 仅为 $0.07 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ (DW), 占总硫苷含量的 1.85%。SIN 在 11 个甘蓝品种叶片中的含量在 $1.05 \sim 6.63 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ (DW) 范围内, 在总硫苷含量中所占的比例在 9.49% ~ 53.83% 范围内; SIN 含量最高的品种是 B183 [$6.63 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ (DW)], 在总硫苷含量中所占比例最高的品种是绿甘 8 号 (53.83%)。GBC 在不同甘蓝品种间含量差异较大, 在总硫苷含量中所占的比例在 9.01% ~ 41.69% 范围内; GBC 含量最低的品种是绿甘 4 号, 为 $0.57 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ (DW); GBC 含量最高的品种是绿甘 6 号, 为 $6.19 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ (DW), 是绿甘 4 号的 10.86 倍。

与 IBE、SIN 和 GBC 不同, NAP、4ME、NEO 和 4OH 这 4 种硫苷在 11 个甘蓝品种叶片中的含量均较低, 均小于 $1 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ (DW)。B200 和绿甘 8 号中未能检测到 4OH。PRO 在绿甘 6 号和天宝春早两个品种中的含量分别是 $1.47 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ (DW) 和 $1.00 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ (DW), 其余 9 个品种中的含量均小于 $0.5 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ (DW)。值得注意的是, RAA 仅在绿甘 6 号中含量较高, 为 $4.49 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ (DW),

表3 不同甘蓝品种叶片中硫苷组分与含量

品种	脂肪族硫苷/ $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ (DW)						吲哚族硫苷/ $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ (DW)					总硫苷/ $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ (DW)
	IBE	SIN	PRO	RAA	NAP	合计	4OH	GBC	4ME	NEO	合计	
绿甘6号	4.47 ± 0.19	1.87 ± 0.08	1.47 ± 0.13	4.49 ± 0.38	0.21 ± 0.03	12.51 ± 0.97	0.21 ± 0.03	6.19 ± 0.45	0.51 ± 0.03	0.28 ± 0.02	7.19 ± 0.53	19.70 ± 1.04
B183	7.66 ± 0.70	6.63 ± 0.28	0.35 ± 0.03	0.13 ± 0.02	0.38 ± 0.03	15.15 ± 1.03	0.11 ± 0.01	2.99 ± 0.11	0.80 ± 0.05	0.30 ± 0.04	4.20 ± 0.44	19.35 ± 1.00
绿甘7号	6.35 ± 0.38	2.92 ± 0.20	0.04 ± 0.00	0.28 ± 0.03	0.30 ± 0.07	9.89 ± 0.76	0.02 ± 0.00	1.74 ± 0.10	0.12 ± 0.03	0.32 ± 0.09	2.20 ± 0.21	12.09 ± 0.74
天宝春早	4.40 ± 0.57	3.87 ± 0.55	1.00 ± 0.20	0.96 ± 0.18	0.20 ± 0.03	10.43 ± 0.74	0.04 ± 0.01	1.08 ± 0.21	0.37 ± 0.03	0.07 ± 0.01	1.56 ± 0.11	11.99 ± 1.53
春秋绿球	3.46 ± 0.35	2.14 ± 0.34	0.18 ± 0.00	0.44 ± 0.07	0.28 ± 0.02	6.50 ± 0.43	0.08 ± 0.00	2.72 ± 0.17	0.82 ± 0.13	0.29 ± 0.11	3.91 ± 0.56	10.41 ± 0.77
天宝春秋	3.40 ± 0.85	1.67 ± 0.08	0.28 ± 0.03	0.68 ± 0.10	0.54 ± 0.01	6.57 ± 0.51	0.09 ± 0.02	1.88 ± 0.13	0.69 ± 0.05	0.11 ± 0.04	2.77 ± 0.32	9.34 ± 1.07
B200	3.60 ± 0.39	1.57 ± 0.28	0.07 ± 0.00	0.49 ± 0.07	0.68 ± 0.05	6.41 ± 0.43	—	1.38 ± 0.35	0.28 ± 0.04	0.09 ± 0.00	1.75 ± 0.15	8.16 ± 0.45
瑞绿	2.13 ± 0.29	1.21 ± 0.05	0.22 ± 0.03	0.11 ± 0.03	0.33 ± 0.05	4.00 ± 0.32	0.05 ± 0.01	3.36 ± 0.36	0.43 ± 0.02	0.22 ± 0.03	4.06 ± 0.46	8.06 ± 0.69
传奇	2.07 ± 0.10	1.39 ± 0.12	0.44 ± 0.05	0.26 ± 0.05	0.42 ± 0.06	4.58 ± 0.29	0.02 ± 0.00	2.26 ± 0.53	0.43 ± 0.08	0.25 ± 0.03	2.96 ± 0.32	7.54 ± 0.55
绿甘8号	0.07 ± 0.02	2.04 ± 0.17	0.15 ± 0.06	0.11 ± 0.02	0.37 ± 0.08	2.74 ± 0.21	—	0.85 ± 0.15	0.07 ± 0.03	0.13 ± 0.05	1.05 ± 0.15	3.79 ± 0.35
绿甘4号	1.28 ± 0.10	1.05 ± 0.04	0.07 ± 0.03	0.13 ± 0.03	0.25 ± 0.04	2.78 ± 0.17	0.02 ± 0.00	0.57 ± 0.10	0.04 ± 0.00	0.18 ± 0.06	0.81 ± 0.12	3.59 ± 0.29

注：—表示未发现此类硫苷的存在，下表同。

表4 不同甘蓝品种叶片中各硫苷含量占总硫苷含量的比例

品种	脂肪族硫苷/%						吲哚族硫苷/%				
	IBE	SIN	PRO	RAA	NAP	合计	4OH	GBC	4ME	NEO	合计
绿甘6号	22.69 ± 0.97	9.49 ± 0.42	7.46 ± 0.68	22.79 ± 1.92	1.07 ± 0.18	63.50 ± 3.40	1.07 ± 0.15	31.42 ± 2.27	2.59 ± 0.18	1.42 ± 0.09	36.50 ± 2.34
B183	39.59 ± 3.64	34.26 ± 1.47	1.81 ± 0.14	0.67 ± 0.09	1.96 ± 0.14	78.29 ± 4.96	0.57 ± 0.05	15.45 ± 0.58	4.13 ± 0.26	1.55 ± 0.23	21.71 ± 0.21
绿甘7号	52.52 ± 3.16	24.15 ± 1.61	0.33 ± 0.00	2.32 ± 0.22	2.48 ± 0.54	81.80 ± 4.71	0.17 ± 0.00	14.39 ± 0.79	0.99 ± 0.29	2.65 ± 0.72	18.20 ± 1.32
天宝春早	36.70 ± 4.79	32.28 ± 4.56	8.34 ± 1.69	8.01 ± 1.46	1.67 ± 0.22	86.99 ± 11.09	0.33 ± 0.08	9.01 ± 1.75	3.09 ± 0.22	0.58 ± 0.08	13.01 ± 1.75
春秋绿球	33.24 ± 3.37	20.56 ± 3.26	1.73 ± 0.00	4.23 ± 0.67	2.69 ± 0.17	62.44 ± 7.20	0.77 ± 0.00	26.13 ± 1.67	7.88 ± 1.25	2.79 ± 1.06	37.56 ± 0.58
天宝春秋	36.40 ± 9.10	17.88 ± 0.84	3.00 ± 0.32	7.28 ± 1.02	5.78 ± 0.11	70.34 ± 10.49	0.96 ± 0.19	20.13 ± 1.34	7.39 ± 0.57	1.18 ± 0.39	29.66 ± 1.07
B200	44.12 ± 4.73	19.24 ± 3.42	0.86 ± 0.00	6.00 ± 0.86	8.33 ± 0.65	78.55 ± 1.59	—	16.91 ± 4.33	3.43 ± 0.49	1.10 ± 0.00	21.45 ± 4.04
瑞绿	26.43 ± 3.66	15.01 ± 0.66	2.73 ± 0.37	1.36 ± 0.33	4.09 ± 0.64	49.63 ± 5.46	0.62 ± 0.12	41.69 ± 4.44	5.33 ± 0.21	2.73 ± 0.33	50.37 ± 4.71
传奇	27.45 ± 1.27	18.44 ± 1.66	5.84 ± 0.61	3.45 ± 0.61	5.57 ± 0.81	60.74 ± 1.86	0.27 ± 0.00	29.97 ± 7.04	5.70 ± 1.04	3.32 ± 0.40	39.26 ± 5.70
绿甘8号	1.85 ± 0.46	53.83 ± 4.58	3.96 ± 1.65	2.90 ± 0.53	9.76 ± 2.11	72.30 ± 5.80	—	22.43 ± 3.90	1.85 ± 0.70	3.43 ± 1.21	27.70 ± 3.43
绿甘4号	35.65 ± 2.89	29.25 ± 1.21	1.95 ± 0.74	3.62 ± 0.74	6.96 ± 1.21	77.44 ± 3.62	0.56 ± 0.00	15.88 ± 2.83	1.11 ± 0.00	5.01 ± 1.74	22.56 ± 4.46

在另外10个品种中其含量均低于 $1 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ (DW)。RAA的水解产物萝卜硫素，是迄今发现的抗癌功能最强的天然植物活性物质，它能使致癌基因失去作用 (Juge et al., 2007)。

3 结论与讨论

近年来，癌症的发病率持续上升，而硫苷的降解产物异硫氰酸盐是迄今为止蔬菜中发现的抗癌、防癌效果最好的天然生物活性物质 (Mithen, 2001)，硫苷成为研究热点。大量研究表明，硫苷确实具有抗癌作用，且浓度越高抗癌作用越明显 (李鲜等, 2006)。因此，选育高硫苷含量的药食两用蔬菜品种逐渐得到育种家的重视。将青花菜野生祖先 *Brassica villosa* 基因组的3个小片段导入普通青花菜中，获得高硫苷含量的青花菜后代，其抗癌能力是普通青花菜的80倍 (Mithen et al., 2003; Sarikamis et al., 2006)。我国科研工作者正在对白

菜类蔬菜中硫苷的生物合成途径、控制白菜类蔬菜中硫苷含量积累的QTL及相关基因进行系统研究，这些研究成果必将极大地推进高硫苷含量白菜新品种的选育工作 (廖永翠等, 2011; 王辉等, 2011a; Wang et al., 2011)。日本学者正在进行高硫苷含量萝卜新品种的选育工作 (张丽等, 2012)。

目前在天然植物中已发现120多种硫苷，但在十字花科植物中仅检测到20多种 (Fahey et al., 2001)。本试验中，通过HPLC法在11个甘蓝品种中共检测到IBE、PRO、NAP、SIN和RAA等5种脂肪族硫苷，4ME、4OH、NEO和GBC等4种吲哚族硫苷，没有检测到芳香族硫苷，这与何洪巨等 (2002) 和弓志青等 (2011) 对甘蓝硫苷的研究中没有检测到芳香族硫苷的结果相符。而Kushad等 (2004) 对甘蓝硫苷的检测中发现芳香族硫苷 (苯乙基硫苷)，但含量极低。研究表明，栽培品种、栽培环境条件、栽培季节、生长期长短、以及同一

植株的不同生长阶段、不同部位均会对十字花科作物中硫苷的含量产生影响 (Brown et al., 2003; 王辉等, 2011b; Sun et al., 2011)。如苯乙基硫苷在十字花科蔬菜中的积累量易受栽培环境条件的影响 (廖永翠等, 2011); 青花菜花球中 RAA 平均含量分别是茎和叶片的 4.4 倍和 13.97 倍 (姚雪琴等, 2011)。本试验中未检测到芳香族硫苷, 可能是由于其含量较低而在本试验条件下没有检测到所致。

11 个甘蓝品种叶片硫苷组分及含量分析显示, 总硫苷含量在 $3.59 \sim 19.70 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ (DW) 范围内。在 11 个品种中 90% 以上的甘蓝品种脂肪族硫苷含量高于吲哚族硫苷含量, 但也有部分材料吲哚族硫苷含量高于脂肪族硫苷含量, 这与人研究结果一致 (董莉等, 2012)。这说明并非十字花科植物中的硫苷种类均以脂肪族为主, 不同材料在主要硫苷种类上也存在差异。

本试验结果表明, 参试 11 个甘蓝品种中绿甘 6 号和 B183 硫苷含量相对较高。这两个品种叶片中总硫苷含量相当, 所含硫苷组分相同, 但各组分含量差异较大, 最突出的差异在于 RAA 含量。RAA 在 B183 叶片中的含量仅为 $0.13 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ (DW), 而在绿甘 6 号叶片中其含量达到 $4.49 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ (DW), 是 B183 的 34.54 倍。事实上, 本试验仅在绿甘 6 号 1 个品种中检测到较高含量的 RAA, 其他 10 个品种中 RAA 含量都较低。RAA 的水解产物萝卜硫素 (Sulforaphane) 是迄今为止发现的最强烈的 Phase II 酶诱导剂, 它能使癌症基因失去作用, 较好的预防癌症的发生 (Fahey et al., 2001; Juge et al., 2007; 姚丹燕等, 2014)。绿甘 6 号可作为富含 RAA 甘蓝育种备选材料。

脂肪族硫苷 IBE、SIN 和吲哚族硫苷 GBC 是参试 11 个甘蓝品种叶片中主要的硫苷。尽管抗癌效果最显著的是 RAA 的水解产物萝卜硫素, 但其他脂肪族硫苷如 IBE、SIN 等的水解产物同样被鉴定出同萝卜硫素类似的抗癌活性 (Fabey et al., 2001; Patel et al., 2012)。吲哚族硫苷 GBC 的水解产物是 3-吲哚甲醇, 它可以提高生物体苯酮还原酶的水平, 诱导细胞凋亡以抑制多种肿瘤细胞增殖 (Weng et al., 2008)。上述研究结果将为高硫苷含量甘蓝新品种选育及获取抗癌活性物质提取原料提供重要信息。

参考文献

- 董莉, 任雪松, 李成琼, 司军, 宋洪元. 2012. 甘蓝硫苷组分和含量分析. 西南大学学报: 自然科学版, 34 (12): 34-38.
- 弓志青, 张慙, 刘春泉. 2011. 甘蓝不同部位及加工对硫代葡萄糖苷组分和含量的影响. 中国食品学报, 11 (4): 218-223.
- 何洪巨, 陈杭, Schnitzler W H. 2002. 芸薹属蔬菜中硫代葡萄糖苷鉴定与含量分析. 中国农业科学, 35 (2): 192-197.
- 李鲜, 陈昆松, 张明方, Moshah K M. 2006. 十字花科植物中硫代葡萄糖苷的研究进展. 园艺学报, 33 (3): 675-679.
- 廖永翠, 宋明, 王辉, 徐东辉, 王晓武. 2011. 大白菜中硫代葡萄糖苷的鉴定及含量分析. 园艺学报, 38 (5): 963-969.
- 田多成, 何洪巨, 严慧玲, 颜建明, 康俊根. 2014. 甘蓝硫代葡萄糖苷总量性状的 QTL 定位及分析. 华北农学报, 29 (3): 6-10.
- 王辉, 孙日飞, 邓杰出, 武剑, 王晓武. 2011a. 控制白菜 3-丁烯基硫代葡萄糖苷积累的 QTL 定位及分析. 园艺学报, 38 (7): 1283-1290.
- 王辉, 廖永翠, 徐东辉, 孙日飞, 武剑, 王晓武. 2011b. 普通白菜叶片中硫代葡萄糖苷的季节性变化. 中国蔬菜, (10): 35-40.
- 姚丹燕, 吴秋云, 李倩, 黄科. 2014. 萝卜硫素调控机制的研究进展. 园艺学报, 41 (5): 1020-1026.
- 姚雪琴, 谢祝捷, 李光庆, 邱海荣, 李媛. 2011. 青花菜不同器官中 4-甲基亚磺酰丁基硫苷及萝卜硫素含量分析. 中国农业科学, 44 (4): 851-858.
- 张丽, 何洪巨, 陈静华, 赵学志. 2010. 不同萝卜品种中硫代葡萄糖苷组分及含量分析. 中国蔬菜, (18): 43-46.
- 张丽, 何洪巨, 赵学志, 陈翠蓉, 郑鹏婧. 2012. 不同萝卜品种幼苗中硫代葡萄糖苷含量与组分分析. 华北农学报, 27 (4): 107-111.
- Bartlett E, Mithen R, Clark S J. 1996. Feeding of the cabbage stem flea beetle *Psylliodes chrysocephala* on high and low glucosinolate cultivars of oilseed rape. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 80: 87-89.
- Brown P D, Tokuhisa J G, Reichelt M, Gershenzon J. 2003. Variation of glucosinolate accumulation among different organs and developmental stages of *Arabidopsis thaliana*. *Phytochemistry*, 62: 471-481.
- Cartea M E, Velasco P. 2008. Glucosinolates in *Brassica* foods: bioavailability in food and significance for human health. *Phytochemistry Reviews*, 7: 213-229.
- Daxenbichler M E, van Etten C H, Spencer G F. 1977. Glucosinolates and derived products in cruciferous vegetables. identification of organic nitriles from cabbage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 25 (1): 121-124.
- Doughty K J, Kiddle G A, Pye B J, Wallsgrove R M, Pickett J A. 1995. Selective induction of glucosinolates in oilseed rape leaves by methyl jasmonate. *Phytochemistry*, 38 (2): 347-350.

- Fahey J W, Zhang Y, Talalay P. 1997. Broccoli sprouts: an exceptionally rich source of inducers of enzymes that protect against chemical carcinogens. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94: 10367-10372.
- Fahey J W, Zalcmann A T, Talalay P. 2001. The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. *Phytochemistry*, 56: 5-51.
- Halkier B A, Gershenzon J. 2006. Biology and biochemistry of glucosinolates. *Annual Review of Plant Biology*, 57: 303-333.
- Juge N, Mithen R F, Traka M. 2007. Molecular basis for chemoprevention by sulforaphane: a comprehensive review. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 64: 1105-1127.
- Keck A S, Finley J W. 2004. Cruciferous vegetables: cancer protective mechanisms of glucosinolate hydrolysis products and selenium. *Integrative Cancer Therapies*, 3 (1): 5-12.
- Kushad M M, Cloyd R, Babadoost M. 2004. Distribution of glucosinolates in ornamental cabbage and kale cultivars. *Scientia Horticulturae*, 101: 215-221.
- Manson M M, Ball H W L, Barrett M C, Clark H L, Judah D J, Williamson G, Neal G E. 1997. Mechanism of action of dietary chemoprotective agents in rat liver: induction of phase I and II drug metabolizing enzymes and aflatoxin B1 metabolism. *Carcinogenesis*, 18 (9): 1729-1738.
- Mithen R. 2001. Glucosinolates-biochemistry, genetics and biological activity. *Plant Growth Regulation*, 34: 91-103.
- Mithen R, Faulkner K, Magrath R, Rose P, Williamson G, Marquez J. 2003. Development of isothiocyanate-enriched broccoli, and its enhanced ability to induce phase 2 detoxification enzymes in mammalian cells. *Theoretical and Applied Genetics*, 106: 727-734.
- Nijhoff W A, Grubben M J, Nagengast F M, Jansen J B, Verhagen H, van Poppel G, Peters W H. 1995. Effects of consumption of Brussels sprouts on intestinal and lymphocytic glutathione S-transferases in humans. *Carcinogenesis*, 16 (9): 2125-2128.
- Patel D K, Patel K, Gadewar M, Tahilyani V. 2012. A concise report on pharmacological and bioanalytical aspect of sinigrin. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2 (1): S446-S448.
- Rouzaud R, Rabot S, Ratcliffe B, Duncan A J. 2003. Influence of plant and bacterial myrosinase activity on the metabolic fate of glucosinolates in gnotobiotic rats. *British Journal of Nutrition*, 90: 395-404.
- Sarikamis G, Marquez J, MacCormack R, Bennett R N, Roberts J, Mithen R. 2006. High glucosinolate broccoli: a delivery system for sulforaphane. *Molecular Breeding*, 18: 219-228.
- Song L J, Thornalley P J. 2007. Effect of storage, processing and cooking on glucosinolate content of *Brassica* vegetables. *Food and Chemical Toxicology*, 45: 216-224.
- Sun B, Liu N, Zhao Y T, Yan H Z, Wang Q M. 2011. Variation of glucosinolates in three edible parts of Chinese kale (*Brassica alboglabra* Bailey) varieties. *Food Chemistry*, 124: 941-947.
- Wang H, Wu J, Sun S L, Liu B, Cheng F, Sun R F, Wang X W. 2011. Glucosinolate biosynthetic genes in *Brassica rapa*. *Gene*, 487: 135-142.
- Weng J R, Tsai C H, Kulp S K, Chen C S. 2008. Indole-3-carbinol as a chemopreventive and anti-cancer agent. *Cancer Letters*, 262 (2): 153-163.

Glucosinolate Profile and Content Analysis of Different Cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* L.) Varieties

HU Li-ping, LIU Guang-min, KANG Jun-gen, ZHAO Xue-zhi, MA Yue, HE Hong-ju*

[Key Laboratory of Urban Agriculture (North), Key Laboratory of Biology and Genetic Improvement of Horticultural Crops (North China), Vegetable Research Center of Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Beijing 100097, China]

Abstract: Taking 11 cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* L.) varieties as experimental material, their glucosinolate profiles and contents in leaves were evaluated by HPLC method. The results indicated that 9 types of glucosinolate were existed in cabbage leaves, including 5 aliphatic glucosinolates (Glucoiberin, Sinigrin, Progoitrin, Glucoraphanin and Gluconapin), and 4 indolic glucosinolates (4-Hydroxy glucobrassicin, Glucobrassicin, 4-Methoxy glucobrassicin and Neoglucobrassicin). Glucoiberin, Sinigrin and Glucobrassicin were the main glucosinolate profiles in cabbage leaves. The 3 glucosinolates ranged from 63.60%-91.06% of the total glucosinolate contents. The contents of total glucosinolate, total aliphatic glucosinolate and total indolic glucosinolate ranged 3.59-19.70 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ (DW), 2.74-15.15 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ (DW), and 0.81-7.19 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ (DW), respectively.

Key words: Cabbage; Glucosinolate; HPLC