

硫代葡萄糖苷检测技术及其在花椰菜硫苷研究中的应用

Analytical methods of glucosinolate and its application in relative research in *Brassica oleracea*

鄂恒超

赵晓燕

张艳梅

周昌艳

E Heng-chao ZHAO Xiao-yan ZHANG Yan-mei ZHOU Chang-yan

(上海市农业科学院农产品质量标准与检测技术研究所, 上海 201403)

(Institute for Agri-Food Standards and Testing Technology, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai 201403, China)

摘要: 文章综述了硫代葡萄糖苷类化合物检测技术研究进展以及近 10 年在花椰菜硫苷研究中的应用,并展望其未来的发展方向。

关键词: 硫代葡萄糖苷; 代谢产物; 检测技术; 花椰菜

Abstract: This study reviews the research advancements of analytical methods with glucosinolates and its application in *Brassica oleracea*, with a view to providing reference for breeding, nutrition evaluation, and development in *B. oleracea*.

Keywords: glucosinolate; metabolite; analytical method; *Brassica oleracea*

硫代葡萄糖苷(glucosinolates, GSLs)简称硫苷,是一类广泛存在于双子叶被子植物根、茎、叶和种子中的次生代谢产物。根据硫苷中侧链基团的不同,可将硫苷分为脂肪类、芳香类和吲哚类硫苷 3 类 180 余种^[1]。硫苷在芥子酶(myrosinase)、高温、强酸、强碱等条件下可发生降解,产生异硫氰酸酯类、腈类、硫氰酸酯类、环腈类(epithionitriles)、噁唑烷酮类化合物(Oxazolidine-2-thiones, OZTs)等物质^[2-3],进而产生抗癌、抗菌杀虫、改善风味等多种作用^[4-5]。

花椰菜是中国重要的十字花科芸薹属甘蓝类蔬菜,是硫苷含量最为丰富的几种蔬菜之一^[6]。花椰菜种植地域分布广泛,常见品种类型有白花菜、松花菜、青花菜以及罗马花椰菜等^[7]。近年来,随着花椰菜新品种的不断

选育,除产量和口感方面多样化外,总硫苷含量和种类也有着较大差异^[8],因此,高效准确完成硫苷的定性定量分析对花椰菜育种、营养评价以及硫苷类物质研究开发中至关重要。文章拟通过系统整理硫苷的检测方法,以及近 10 年花椰菜中硫苷检测新方法的应用,并对其未来发展方向进行展望,旨在为花椰菜中硫苷开发、育种以及营养评价等研究提供参考。

1 硫代葡萄糖苷分析方法

1.1 样品前处理

硫苷的化学性质相对稳定,但植物中黑芥子酶会使硫苷产生酶解反应,因此在硫苷提取过程中首先需要高温结合有机溶剂的方式进行黑芥子酶灭活处理。其次,在硫苷提取过程中,一般采用沸水、甲醇、乙醇和氯仿等作为提取溶剂。目前应用较广泛的溶剂为一定比例的甲醇—水溶液,提取方式主要有浸提、震荡、涡旋、超声等。Ares 等^[9]采用微波加热方式提取西兰花叶中硫苷,仅需 3.5 min,是目前文献报道提取时间最短的方法。通过以上提取方法获得的硫苷类化合物粗提物含有较多杂质^[10],通常需净化处理。常用的净化方法包括萃取法和色谱法等。前者是基于硫苷在不同溶液中的溶解度差异达到富集硫苷的目的,后者则是利用硫苷特有的化学性质,选择合适的固定相和流动相,达到硫苷富集的目的。常用的固定相有 DEAE Sephadex A-25 树脂、酸性氧化铝、亲水键合填料、反相硅胶等^[11]。此外, Szmigielska 等^[12]利用阴离子交换膜在油菜籽提取液中吸附硫苷类化合物,除 4-hydroxyglucobrassicin 外其余硫苷都具有较好的回收率。目前常用的样品前处理方法是將一定量的样品于 75 °C 下预热后,加入预热至 75 °C (或沸腾)的 70 %

基金项目:上海市市级农口系统青年人才成长计划(编号:沪农青字[2018]第 1-37 号)

作者简介:鄂恒超,男,上海市农业科学院助理研究员,博士。

通信作者:赵晓燕(1981—),女,上海市农业科学院副研究员,硕士。E-mail: cindy8119@163.com

收稿日期:2020-05-21

甲醇—水溶液, 75 °C 水浴提取 10~30 min, 浸提过程中震荡, 离心收集上清, 沉淀重复上述操作 2~3 次, 合并上清液。提取液经 DEAE Sephadex A-25 树脂吸附处理后获得总硫苷。

1.2 硫苷定性定量检测方法

目前硫代葡萄糖苷的测定方法主要分为间接法和直接法(表 1)^[13]。间接测定法主要是利用 GSLs 在酶催化等降解过程中会产生硫酸盐、葡萄糖以及异硫氰酸酯等中间产物(图 1), 通过定性定量检测这些产物, 间接对硫苷进行定性定量; 直接检测法不需破坏硫苷分子直接完成定性定量。

1.2.1 硫苷间接分析法

(1) 硫酸根法: 通过检测样品中 GSLs 降解后产生的硫酸根离子含量, 间接测定样品中总硫苷含量, 常用的方法包括 BaSO₄ 重量法^[14]和滴定法^[15]等。这两种方法都是利用 BaSO₄ 难溶的特点, 在酶反应终止后加入过量的 Ba²⁺ 盐, 但重量法通过直接检测沉淀物重量计算总硫苷含量, 而滴定法是通过检测剩余 Ba²⁺ 含量计算总硫苷含量。该方法操作简单, 使用试剂、设备较少, 但该方法会受到酶活性和 pH 等因素影响, 进而影响硫苷降解程度, 使结果的不稳定性增加, 结果可信度不高。

(2) 葡萄糖残基检测法: 葡萄糖残基检测法包括比色法和荧光检测法等^[13]。比色法包括蒽酮比色法和 3,5-二硝基水杨酸比色法等, 其原理为显色试剂在一定条件下与硫苷降解产生的葡萄糖发生颜色反应, 根据颜色深浅可比较准确地测定硫苷总量。比色法的优点是试剂易获取、操作简单; 不足则在于玻璃器皿、净化树脂等对检测结果易产生干扰。Karcher 等^[16]利用硫苷降解得到的葡萄糖在葡萄糖氧化酶作用下得到葡萄糖酸(gluconic acid, GA)与 7-氨基萘-1,3-二磺酸(7-aminonaphthalene-1,3-disulfonic acid, ANDSA)反应生成荧光物质(GA-ANDSA), 进而通过荧光检测器检测推算硫苷的含量。该检测方法涉及酶降解、葡萄糖氧化、荧光物质生成等多个操作步骤, 因此对试验人员要求较高, 且易产生较大误差。该方法还包括双联酶极谱法^[17]和电流安培酶法^[18]等。

(3) 硫苷降解产生的异硫氰酸酯类(ITCs)、腈类(RCNs)、噁唑烷酮类化合物(OZTs)等产物也常用于定性定量分析样品中的硫苷。ITCs 作为硫苷降解产物中的主要活性物质受到更多的关注。目前常用的 ITCs 检测方法包括光谱法、容量法和色谱法等^[19-20]。如 NY/T 1596—2008 采用硫脲比色法测定油菜饼粕中异硫氰酸酯; 此外还有利用紫外分光光度计直接测定有机溶剂(正己烷、乙醇)提取 ITCs 在 249 nm 或 243 nm 处的吸光度值^[21-22]、红外吸收光谱测定 2 060~2 105 cm⁻¹ 处的特征

吸收值^[23], 定性、定量分析 ITCs。光谱法测定方法简单, 所需时间短、灵敏度高, 能完成定性和总量测定; 银量法是容量法的一种, 是中国测定菜籽饼粕中 ITCs 的国标方法之一(GB 13087—1991), 该法利用 ITCs 与氨水反应, 生成相应的硫脲类化合物, 然后再加入过量的硝酸银, 生成不溶解的硫化银和碳化二亚胺, 剩余的硝酸银用经典的伏尔哈德容量法测定。该方法时间长, 操作复杂, 但消耗较低, 适用于定性和总量测定。除银量法外, 容量法还包括直接滴定法和二乙胺滴定法等^[20]; 色谱法测定 ITCs 含量的方法包括气相色谱串联质谱法(GC-MS)和液相色谱串联质谱法(LC-MS)两种。GC-MS 方法能对多组分的 ITCs 进行分析和鉴定, 且操作简便, 应用相对较多^[24-25]。GC-MS 方法也有一定的局限性, 因为其不能测出受热易分解的吲哚类硫苷, 对以吲哚类硫苷为主的十字花科植物测定结果偏低, 另外花椰菜等样品自身含有一定量的 ITCs, 通过测定酶解产物 ITCs 间接定量硫苷的方法会有一定的偏差。与 GC-MS 方法相比, LC-MS 方法具有检测限低、分析时间短、分析范围广、分离能力强、定性分析结果可靠等优点^[26], 但目前尚未见应用此方法通过测定 ITCs 间接定性定量分析 GSLs 的报道。

此外, 通过测定硫酸酯酶水解产物间接定性定量分析硫苷化合物的方法也比较常见。国际标准化组织在 1992 年颁布了 ISO 9167-1:1992(E)推荐使用 HPLC 分析法, 定性定量检测硫酸酯酶水解后的脱硫酸硫苷, 间接测定硫苷类化合物的种类和含量。Olsen 等^[27]利用 HPLC-MS/MS 和 NMR 分析脱硫酸硫苷的方法, 鉴定了豆蔻科中 70 余种硫苷化合物。

1.2.2 硫苷直接分析法 直接测定法不涉及衍生化和降解过程, 既能大大减少降解环节产生的系统误差, 又能排除样品内已有的降解产物干扰, 提高方法的准确性。目前报道的直接测定法有麝香草酚法^[15]、近红外光谱法^[28-30]、胶束电动毛细管色谱法(MECC)^[31]、高效液相色谱法(HPLC)、LC-MS 等。

麝香草酚法在浓硫酸存在的条件下, 与完整硫苷分子上的葡萄糖残基产生颜色反应, 根据颜色深浅可比较准确地测定硫苷总量; 近红外光谱法主要是通过已知标品建立红外分析模型, 对比样品数据, 快速测定硫苷含量。NY/T 3295—2018 采用近红外光谱法测定油菜籽中硫苷含量; MECC 法利用硫苷分子中含有硫酸酯基、吲哚基等官能团, 能通过电泳的方式在硼酸盐缓冲体系中使硫苷达到分离的效果, 从而达到定性定量分析样品中硫苷化合物的目的。

HPLC 法可以更精确地鉴别硫苷, 是目前应用最广泛的硫苷检测方法, 其中超高效液相色谱(UPLC)具有快速、高分离度以及高灵敏度的优势, 在含量较低成分的检

表 1 常用硫苷检测方法及其优缺点

Table 1 Commonly used glucosinolates detection methods and their advantages and disadvantages

检测方法	方法简介	方法优缺点	参考文献
硫酸根检测重量法	测定硫酸盐重量,间接测定硫苷含量	优点:不需标样和大型仪器,方法简便 缺点:操作繁琐,误差较大;仅能检测硫苷总量,无法区分不同化合物含量	[14]
硫酸根检测滴定法	包括 EDTA 滴定法、电位滴定法等。解离硫苷产生 SO_4^{2-} ,加入过量 Ba^{2+} 沉淀,加入滴定液测定剩余 Ba^{2+} 含量,间接测定硫苷含量	优缺点与重量法相同	[15]
葡萄糖检测比色法	包括蒽酮比色法、3,5-二硝基水杨酸比色法等。显色试剂在一定条件下与硫苷降解产生的葡萄糖发生颜色反应,根据颜色深浅可比较准确地测定硫苷总量	优点:试剂易获取,操作简单 缺点:测定过程中对玻璃器皿的清洁度要求严格,净化树脂等对结果有干扰,葡萄糖标准液、硫酸溶液均需新鲜配制;仅能检测总硫苷含量	[13]
葡萄糖检测荧光检测法	硫苷降解得到葡萄糖,其在葡萄糖氧化酶作用下得到葡萄糖酸,再与试剂反应生成荧光活性物质	优点:灵敏度高 缺点:操作步骤繁琐,仅能检测总硫苷含量,游离葡萄糖有干扰	[16]
ITC 检测光谱法	硫苷降解产物 ITCs 与 80% 氨乙醇反应生成硫脲,用紫外分光光度计测定其在特定波长处吸光值,再折算出 ITCs 及 GLS 的总含量	方法简单,所需时间短、灵敏度高,能完成定性和总量测定	[21—22]
ITC 检测容量法	包括银量法等。利用 ITCs 与氨水反应,生成相应的硫脲类化合物,再加入过量的硝酸银,生成不溶解的硫化银和碳化二亚胺,剩余的硝酸银用经典的伏尔哈德容量法测定	优点:消耗较低,适用于定性和总量测定 缺点:时间长,操作复杂	[20]
ITC 检测色谱法	包括气相色谱法和液相色谱法,根据不同 ITCs 在固定相中保留时间不同,达到分离、分析的目的	优点:操作简便,灵敏度较高,分辨率高 缺点:时间长,吲哚类硫苷偏差大,样品中 ITCs 本底有干扰	[24—25]
脱硫酸硫苷检测色谱法	硫苷在硫酸酯酶存在条件下降解,脱硫酸产物基于 HPLC 等色谱技术完成分离、分析及定量检测等	优点:分离度好,灵敏度较高 缺点:步骤相对较多,易产生误差	[27]
硫苷检测毛细管电泳法	利用硫苷分子所带电荷不同,加入表面活性剂如十二烷基硫酸钠(SDS)等,在硼酸盐缓冲体系中分离硫苷	优点:需要样品量较少,灵敏度高 缺点:分离时间较长,需要对应标准品,成本高	[31]
硫苷检测 NIRS 法	通过已知标品建立红外分析模型,对比样品数据,快速测定硫苷含量	优点:分析速度快,无损检测,无化学试剂污染,采样量少 缺点:大量标品去建立可信模型,地域性强,可传递性差	[28—30]
硫苷检测 HPLC-UV 法	利用不同硫苷化合物色谱保留时间和紫外吸收强度完成定性定量分析	优点:前处理简单,高效,快速完成定性定量分析,灵敏度较高 缺点:每种化合物需要标准品进行比对,成本较高	[32—33]
硫苷检测 LC-MS 法	利用不同硫苷化合物色谱保留时间和分子量差异完成定性定量分析	优点:前处理简单,高效,快速完成定性定量分析,灵敏度较高 缺点:每种化合物需要标准品进行比对,成本较高	[34—39]

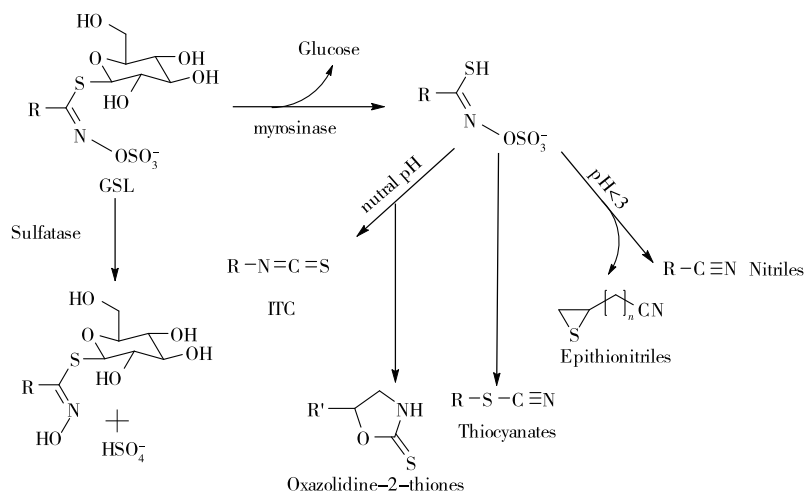
图 1 硫苷降解过程及其产物^[3]

Figure 1 Glucosinolates degradation process and the products

测中具有很高的应用价值,受到广泛应用。HPLC 联合紫外检测器(UV)或者二极管阵列(DAD)定性定量检测硫苷类化合物,能快速高效地完成样品的检测,具有较高的灵敏度^[32-33]。随着质谱技术的快速发展,UPLC-MS/MS 及 UPLC-HRMS 的联用技术越来越多地应用于硫苷检测中,目前已基于 LC-MS 技术开发出多种硫苷定性定量方法^[34-39],NY/T 3296—2018 即采用液相色谱串联质谱法检测油菜籽中的硫苷化合物。

上述硫代葡萄糖苷检测方法各有优缺点(表 1)。近红外反射谱法可以无损检测,虽然采样量少,但需大量样品去建立可信模型;荧光检测法检测步骤繁多,会导致检测结果误差增大;胶束电动毛细管电泳法干扰因素少,成本低,但分离时间长;气相色谱法无法检测出受热易分解的硫苷;高效液相色谱串联紫外检测法因可同时测定各种硫苷含量,重现性与精密度尚可,在实际应用中比较普遍,但该方法的检测限及其灵敏度较差,在硫苷或异硫氰酸酯含量较低的样品上存在方法应用的局限性;高效液相色谱串联质谱法因在硫苷检测中具备更低的检测限以及更高的灵敏度,受到越来越多的关注与应用,但在定性定量研究中需硫苷标准品,成本相对较高。

2 花椰菜中的硫苷分析

大量研究^[32]证实花椰菜含有丰富的硫苷类化合物,在硫苷种类和含量方面均排在市售蔬菜的前列。不同品种的花椰菜中硫苷总含量差异较大,丁云花等^[8]对 3 种类型 15 个花椰菜品种硫苷组分含量测定结果显示,其含量范围为 0.332 3~4.872 8 $\mu\text{mol/g}$ (FW)。花椰菜中已报道硫苷有 50 余个^[40],其中常见的有 20 个,包括脂肪类硫苷 12 个,芳香类硫苷 4 个,吲哚类硫苷 4 个,含量相对较

大的为 3-(甲基亚磺酰基)丙基硫苷(1)、4-(甲基亚磺酰基)丁基硫苷(2)、3-丁烯基硫苷(9)、3-吲哚基甲基硫苷(17)和 1-甲氧基-3-吲哚基甲基硫苷(18)等,这些硫苷的降解产物多具有抗肿瘤活性,其中 4-(甲基亚磺酰基)丁基硫苷的酶解产物莱菔硫烷抗癌活性得到了广泛研究且取得了国际上的认可^[41]。表 2 总结了近 10 年花椰菜中硫苷的定性定量分析方法,其中基于 LC-MS 的分析方法由于样品前处理简单、灵敏度高、定性定量方便等被广泛应用。高分辨质谱能提供准确的分子量信息,多用来进行定性分析;多级质谱因能选择特定离子进行碎裂片段分析,进而通过 SIM、MRM 等方式完成化合物定量分析,具有较高的灵敏度。花椰菜中常见硫苷及其在质谱中的 MS/MS 碎片信息,以及对应的降解产物相关信息见表 3。

3 总结与展望

目前,花椰菜中硫苷的分离、分析方法研究取得了很大的进展,但仍存在一些问题。① 检测技术方面,目前常用的色谱、质谱检测方法需购买硫苷标准品,但市场上的标准品价格较高且种类不齐全,使得检测成本相对较高。花椰菜中硫苷与异硫氰酸酯等降解产物是共存的,但迄今为止很多研究工作未同时考虑这两类化合物,导致对花椰菜中的硫苷营养成分评价不够全面。② 检测技术的不断创新要服务于花椰菜的生产加工。除花椰菜可食用部分外,其茎、叶中也含有大量的硫苷,但这些部位很多都以废弃物丢掉,未能得到更好的利用。基于以上不足,开发种类多样的硫苷化合物标准物质显得尤为必要。此外,开发同时分析硫苷和异硫氰酸酯等降解产物的分析方法,可有效地克服目前检测方法的不足;以及提高检测方法的灵敏度和检测限,缩短检测时间,提高检测效率和

表 2 近 10 年花椰菜中硫苷的定性定量分析方法

Table 2 Qualitative and quantitative analytical methods of glucosinolates in <i>Brassica oleracea</i> in recent 10 years				
样品	处理方法	检测方法	检测目标	参考文献
西兰花	预热 1 min 浸提 5 min, 过滤冲洗, 提取液氮吹复溶后 DEAE-Sephadex A-25 柱处理, 硫酸酯酶水解过夜, 取适量吹干复溶备用	可见—近红外光谱法	glucoraphanin, glucobrassicin, 4-methoxyglucobrassicin, neo-glucobrassicin 以及总硫苷	[28]
西兰花叶	60%~70%乙醇加压力液体萃取, 氮吹复溶膜过滤备用	UPLC-Q-TOF-MS	定量分析 9 种硫苷	[34]
花椰菜、西兰花等 12 种十字花科蔬菜	70%甲醇 70 ℃ 恒温水浴提取 10 min 后离心, 沉淀重复提取 2 次, 合并上清后取适量蒸干复溶, 过膜备用	HILIC-MS/MS	定量分析 22 种硫苷	[42]
花椰菜、西兰花等 8 种十字花科蔬菜	70%甲醇 30 ℃ 超声 20 min 后离心, 上清膜过滤备用	UPLC-Q-Orbitrap-MS	定量分析 15 种硫苷	[32]
花椰菜叶	70%乙醇 70 ℃ 恒温水浴提取 30 min 后离心, 上清膜过滤备用	HPLC-Q-TOF-MS	定性鉴别 8 种硫苷	[33]
西兰花等蔬菜	60%甲醇室温条件下超声 60 min, 离心过膜待用	UPLC-HRAM/MS(n)	定性鉴别 146 种硫苷	[43]
花椰菜	70%甲醇震荡 10 min, 室温超声 10 min, 离心, 沉淀重复提取 1 次, 合并上清后取适量蒸干复溶, 过膜备用	UPLC-HRMS	定性鉴别 51 种硫苷	[40]
西兰花生产副产物	100%冰甲醇 70 ℃ 超声 15 min 后离心, 上清氮吹复溶膜过滤备用	UPLC-MS/MS	定量分析 12 种硫苷	[44]
花椰菜、西兰花等	70%甲醇 70~80 ℃ 水浴 10 min, 80 ℃ 超声 10 min, 离心, 沉淀重复提取 1 次, 合并上清后取适量蒸干复溶, 过膜备用	LC-ESI-FTICR MS	定性鉴别 26 种硫苷	[45]
29 个西兰花品种	100%预热甲醇 80 ℃ 水浴 20 min, 离心后沉淀 70%甲醇提取 2 次, 上清 DEAE 树脂处理, 硫酸酯酶水解	HPLC-DAD	定量分析 8 种硫苷	[46]
15 个花椰菜品种	100%预热甲醇 80 ℃ 水浴 20 min, 离心后沉淀 70%甲醇提取 2 次, 上清 DEAE 树脂处理, 硫酸酯酶水解	HPLC-DAD	定量分析 9 种硫苷	[8]
西兰花叶	70 W 微波加热 3.5 min, 冰浴 30 s 离心, 上清蒸干复溶过膜待用	LC-DAD LC-ESI-MS	定量分析 12 种硫苷	[9]

表 3 花椰菜中常见硫苷及其对应的降解产物

Table 3 The common glucosinolates and their degradation products in <i>Brassica oleracea</i>									
类别	化学式	CAS 号	分子量	质荷比 [M-H] ⁻	质谱碎片	降解产物 (ITC 等)	化学式	CAS 号	分子量
3-(甲基亚磺酰基)丙基硫苷	C ₁₁ H ₂₁ NO ₁₀ S ₃	554-88-1	423.47	422.03	422.03, 358.03, 259.01, 195.03, 145.05, 96.96, 74.99	3-(甲基亚磺酰基)丙基异硫氰酸酯	C ₅ H ₉ NOS ₂	505-44-2	163.26
4-(甲基亚磺酰基)丁基硫苷	C ₁₂ H ₂₃ NO ₁₀ S ₃	21414-41-5	437.49	436.04	436.04, 259.01, 195.03, 96.96, 74.99	4-(甲基亚磺酰基)丁基异硫氰酸酯	C ₆ H ₁₁ NOS ₂	4487-93-7	177.29
4-(甲基亚磺酰基)丁烯基硫苷	C ₁₂ H ₂₁ NO ₁₀ S ₃	28463-24-3	435.48	434.03	434.03, 297.23, 259.01, 195.03, 145.05, 96.96, 74.99	4-(甲基亚磺酰基)丁烯基异硫氰酸酯	C ₆ H ₉ NOS ₂	592-95-0	175.27
4-(甲硫基)丁基硫苷	C ₁₂ H ₂₃ NO ₉ S ₃	21973-56-8	421.49	420.05	420.05, 259.01, 195.03, 96.96, 74.99	4-(甲硫基)丁基异硫氰酸酯	C ₆ H ₁₁ NS ₂	4430-36-8	161.29
3-(甲基磺酰基)丙基硫苷	C ₁₁ H ₂₁ NO ₁₁ S ₃	554-86-9	439.47	438.02	438.02, 332.01, 259.01, 195.03, 135.97, 96.96, 74.99	3-(甲基磺酰基)丙基异硫氰酸酯	C ₅ H ₉ NO ₂ S ₂	505-34-0	179.26

续表 3

类别	化学式	CAS 号	分子量	质荷比 [M-H] ⁻	质谱碎片	降解产物 (ITC 等)	化学式	CAS 号	分子量
5-(甲硫基)戊基硫苷	C ₁₃ H ₂₄ NO ₉ S ₃	29611-01-6	435.52	434.06	434.06, 354.11, 259.01, 195.03, 128.93, 96.96, 74.99	5-(甲硫基)戊基异硫氰酸酯	C ₇ H ₁₃ NS ₂	4430-42-6	175.31
5-(甲基亚磺酰基)戊基硫苷	C ₁₃ H ₂₄ NO ₁₀ S ₃	499-37-6	451.50	450.06	450.06, 435.03, 386.06, 192.03, 96.96, 74.99	5-(甲基亚磺酰基)戊基异硫氰酸酯	C ₇ H ₁₃ NOS ₂	646-23-1	191.31
6-(甲基磺酰基)己基硫苷	C ₁₄ H ₂₇ NO ₁₁ S ₃	74542-18-0	481.60	480.07	480.07, 259.01, 96.96, 74.99	6-(甲基磺酰基)己基异硫氰酸酯	C ₈ H ₁₅ NO ₂ S ₂	167963-03-3	221.34
3-丁烯基硫苷	C ₁₁ H ₁₉ NO ₉ S ₂	19041-10-2	373.39	372.04	372.04, 259.01, 195.03, 130.03, 96.96, 74.99	3-丁烯基异硫氰酸酯	C ₅ H ₇ NS	34424-44-7	113.18
2-羟基-3-丁烯基硫苷	C ₁₁ H ₁₉ NO ₁₀ S ₂	585-95-5	389.39	388.04	388.04, 332.01, 259.01, 195.03, 135.97, 96.96, 74.99	告依春	C ₅ H ₇ NOS	1072-93-1	129.18
4-戊烯基硫苷	C ₁₂ H ₂₁ NO ₉ S ₂	19041-10-2	387.42	386.06	386.06, 306.10, 259.01, 195.03, 144.05, 96.96, 74.99	4-戊烯基异硫氰酸酯	C ₆ H ₉ NS	18060-79-2	127.21
黑芥子硫苷	C ₁₀ H ₁₇ NO ₉ S ₂	3952-98-5	359.40	358.03	358.03, 259.01, 195.03, 116.02, 96.96, 74.99	烯丙基异硫氰酸酯	C ₄ H ₅ NS	200-309-2	99.15
豆瓣菜苷	C ₁₅ H ₂₁ NO ₉ S ₂	499-30-9	423.45	422.06	422.06, 358.02, 259.01, 195.03, 96.96, 74.99	苯乙基异硫氰酸酯	C ₉ H ₉ NS	2257-09-2	163.24
2(R)-羟基-2-苯乙基硫苷	C ₁₅ H ₂₁ NO ₁₀ S ₂	21087-78-5	439.45	438.05	438.05, 332.01, 259.01, 195.03, 135.97, 96.96, 74.99	5-苯基-1,3-恶唑烷-2-硫酮	C ₉ H ₉ NOS	3433-15-6	179.24
苜蓿基硫苷	C ₁₄ H ₁₉ NO ₉ S ₂	5115-71-9	409.42	408.04	408.04, 259.01, 195.03, 166.03, 96.96, 74.99	苜蓿基异硫氰酸酯	C ₈ H ₇ NS	622-78-6	149.21
4-羟基苜蓿基硫苷	C ₁₄ H ₁₉ NO ₁₀ S ₂	20196-67-2	425.42	424.04	424.04, 360.02, 259.01, 195.03, 96.96, 74.99	4-羟基苜蓿基异硫氰酸酯	C ₈ H ₇ NOS	23763-98-6	165.21
3-吡啶基甲基硫苷	C ₁₆ H ₂₀ N ₂ O ₉ S ₂	4356-52-9	448.46	447.05	447.05, 367.10, 259.01, 195.03, 121.95, 96.96, 74.99	吡啶-3-甲醇	C ₉ H ₉ NO	700-06-1	147.17
1-甲氧基-3-吡啶基甲基硫苷	C ₁₇ H ₂₂ N ₂ O ₁₀ S ₂	5187-84-8	478.49	477.06	477.06, 446.05, 259.01, 96.96, 74.99	1-甲氧基-吡啶-3-甲醇	C ₁₀ H ₁₁ NO ₂	110139-35-0	177.20
4-羟基-3-吡啶基甲基硫苷	C ₁₆ H ₂₀ N ₂ O ₁₀ S ₂	83327-20-2	464.50	463.05	463.05, 285.02, 267.01, 259.01, 221.04, 96.96, 74.99	4-羟基-吡啶-3-甲醇	C ₉ H ₉ NO ₂	81779-28-4	163.17
4-甲氧基-3-吡啶基甲基硫苷	C ₁₇ H ₂₂ N ₂ O ₁₀ S ₂	83327-21-3	478.49	477.06	477.06, 299.06, 274.99, 259.01, 96.96, 74.99	4-甲氧基-吡啶-3-甲醇	C ₁₀ H ₁₁ NO ₂	96888-16-3	177.20

精确度等,均对花椰菜的品质评价,指导育种和产品开发具有重要意义。

参考文献

- [1] 田艳, 邓放明, 卿志星, 等. 十字花科植物中硫代葡萄糖苷类物质的结构与功能研究进展[J]. 食品科学, 2020, 41(1): 292-303.
- [2] 杨瑛洁, 李淑燕, 胡国伟, 等. 硫代葡萄糖苷的降解途径及其产物的研究进展[J]. 西北植物学报, 2011, 31(7): 1 490-1 496.
- [3] WITTSTOCK U, HALKIER B A. Glucosinolate research in the *Arabidopsis* era[J]. Trends in Plant Science, 2002, 7(6): 263-270.
- [4] 许婷, 吴秋云, 毛舒香, 等. 十字花科蔬菜功能成分多样性研究进展[J]. 湖南农业科学, 2016(6): 119-122.
- [5] KARA M, SOYLU E M. Assessment of glucosinolate - derived isothiocyanates as potential natural antifungal compounds against citrus sour rot disease agent *Geotrichum citri - aurantii*[J]. Journal of Phytopathology, 2020, 168(5): 1-11.
- [6] 丁云花, 何洪巨, 赵学志, 等. 不同类型花椰菜主要营养成分分析[J]. 中国蔬菜, 2016(4): 58-63.
- [7] 马蓉, 梁颖, 王树林, 等. 花椰菜不同品种类型间营养成分差异及烹饪对其含量的影响[J]. 食品工业科技, 2020, 41(7): 7-12.
- [8] 丁云花, 宋曙辉, 赵学志, 等. 不同类型花椰菜硫代葡萄糖苷组分与含量分析[J]. 中国蔬菜, 2015(12): 38-43.
- [9] ARES A M, NOZAL M J, BERNAL J L, et al. Optimized extraction, separation and quantification of twelve intact glucosinolates in broccoli leaves[J]. Food Chemistry, 2014, 152: 66-74.
- [10] 李宁. 西兰花干硫苷的提取工艺优化及富集纯化研究[D]. 杭州: 浙江工商大学, 2015: 1-8.
- [11] 代梅, 高林, 吴继红. 西兰花中硫代葡萄糖苷的研究进展[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(6): 212-217.
- [12] SZMIGIELSKA A M, SCHOENAU J J, LEVERS V. Determination of glucosinolates in canola seeds using anion exchange membrane extraction combined with the high-pressure liquid chromatography detection[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2000, 48(10): 4 487-4 491.
- [13] 李培武, 周海燕. 油菜硫代葡萄糖苷检测技术研究进展[J]. 中国油料作物学报, 2008(1): 127-131, 136.
- [14] 涂宗财, 郭逍遥, 刘成梅, 等. 芥菜中硫代葡萄糖苷提取工艺条件的优化[J]. 食品与生物技术学报, 2007(6): 9-12.
- [15] 张勤争, 奚海福, 朱学群. EDTA 容量法测定油菜籽硫代葡萄糖苷含量[J]. 中国油料, 1993(2): 41-44.
- [16] KARCHER A, MELOUK H A, EL RASSI Z. High-performance liquid-phase separation of glycosides. III. Determination of total glucosinolates in cabbage and rapeseed by capillary electrophoresis via the enzymatically released glucose[J]. Analytical Biochemistry, 1999, 267(1): 92-99.
- [17] IORI R, LEONI O, PALMIERI S. A polarographic method for the simultaneous determination of total glucosinolates and free glucose of cruciferous material[J]. Analytical Biochemistry, 1983, 134(1): 195-198.
- [18] TSIAFOULIS C G, PRODRIMIDIS M I, KARAYANNIS M I. Development of a flow amperometric enzymatic method for the determination of total glucosinolates in real samples[J]. Analytical Chemistry, 2003, 75(4): 927-934.
- [19] 桑鲁燕, 孙冰心, 白翔, 等. 异硫氰酸酯研究发展现状[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(11): 4 111-4 114.
- [20] 陈兰英, 毕明芳, 余倩, 等. 异硫氰酸酯的分析方法[J]. 化学世界, 2014, 55(5): 307-310.
- [21] 王建华, 王宇, 汪发文, 等. 关于辣椒膏中“辣椒油”检测方法的探讨[J]. 中国调味品, 1997(1): 26-27.
- [22] 张清峰, 姜子涛, 张久春, 等. 紫外分光光度法测定辣椒及芥末制品中异硫氰酸酯含量的研究[J]. 中国调味品, 2005(6): 15-20.
- [23] LIEBER E, RAO C N R, RAMACHANDRAN J. The infrared spectra of organic thiocyanates and isothiocyanates[J]. Spectrochimica Acta, 1959, 13(4): 296-299.
- [24] 吴元锋, 毛建卫, 袁海娜, 等. 气质联用分析芸苔属种子水解液中的异硫氰酸盐[J]. 分析试验室, 2008(9): 53-56.
- [25] FRANK N, DUBOIS M, GOLDMANN T, et al. Semi-quantitative analysis of 3-butenyl isothiocyanate to monitor an off-flavor in mustard seeds and glucosinolates screening for origin identification[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(6): 3 700-3 707.
- [26] WANG Hu, LIN Wen, SHEN Guo-xiang, et al. Development and validation of an LC-MS-MS method for the simultaneous determination of sulforaphane and its metabolites in rat plasma and its application in pharmacokinetic studies[J]. Journal of Chromatographic Science, 2011, 49(10): 801-806.
- [27] OLSEN C E, HUANG X C, HANSEN C I C, et al. Glucosinolate diversity within a phylogenetic framework of the tribe Cardamineae (*Brassicaceae*) unraveled with HPLC-MS/MS and NMR-based analytical distinction of 70 desulfo-glucosinolates[J]. Phytochemistry, 2016, 132: 33-56.
- [28] 郑治洪. 近红外光谱(NIRS)法与重量法测定油菜硫苷含量的比较[J]. 贵州农业科学, 2003(1): 42-43.
- [29] VELASCO L, BECKER H C. Analysis of total glucosinolate content and individual glucosinolates in *Brassica spp.* by near-infrared reflectance spectroscopy[J]. Plant Breeding, 1998, 117(2): 97-102.
- [30] HERNANDEZ-HIERRO J M, VALVERDE J, VILLACRECES S, et al. Feasibility study on the use of visible-near-infrared spectroscopy for the screening of individual and total glucosinolate contents in broccoli[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60(30): 7 352-7 358.

- [31] FELDL C, MOLLER P, OTTE J, et al. Micellar electrokinetic capillary chromatography for determination of indolyl glucosinolates and transformation products thereof[J]. Analytical Biochemistry, 1994, 217(1): 62-69.
- [32] PARK C H, YEO H J, PARK S Y, et al. Comparative phytochemical analyses and metabolic profiling of different phenotypes of Chinese cabbage (*Brassica Rapa* ssp. *Pekinensis*)[J]. Foods, 2019, 8(11): 587
- [33] HU Ye, LIANG Hao, YUAN Qi-peng, et al. Determination of glucosinolates in 19 Chinese medicinal plants with spectrophotometry and high-pressure liquid chromatography[J]. Natural Product Research, 2010, 24(13): 1 195-1 205.
- [34] ARES A M, BERNAL J, NOZAL M J, et al. Fast determination of intact glucosinolates in broccoli leaf by pressurized liquid extraction and ultra high performance liquid chromatography coupled to quadrupole time-of-flight mass spectrometry[J]. Food Research International, 2015, 76: 498-505.
- [35] TOLRA R P, ALONSO R, POSCHENRIEDER C, et al. Determination of glucosinolates in rapeseed and *Thlaspi caerulescens* plants by liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography A, 2000, 889(1/2): 75-81.
- [36] LEE K C, CHEUK M W, CHAN W, et al. Determination of glucosinolates in traditional Chinese herbs by high-performance liquid chromatography and electrospray ionization mass spectrometry[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2006, 386(7/8): 2 225-2 232.
- [37] TIAN Qing-guo, ROSSELOT R A, SCHWARTZ S J. Quantitative determination of intact glucosinolates in broccoli, broccoli sprouts, Brussels sprouts, and cauliflower by high-performance liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry[J]. Analytical Biochemistry, 2005, 343(1): 93-99.
- [38] HWANG I M, PARK B, DANG Y M, et al. Simultaneous direct determination of 15 glucosinolates in eight *Brassica* species by UHPLC-Q-Orbitrap-MS[J]. Food Chemistry, 2019, 282: 127-133.
- [39] 彭佩, 田艳, 邓放明, 等. 基于 HPLC-Q-TOF-MS 技术鉴定不同品种花椰菜叶中硫代葡萄糖苷[J]. 食品与机械, 2019, 35(4): 42-47, 119.
- [40] CAPRIOTTI A L, CAVALIERE C, LA BARBERA G, et al. Chromatographic column evaluation for the untargeted profiling of glucosinolates in cauliflower by means of ultra-high performance liquid chromatography coupled to high resolution mass spectrometry[J]. Talanta, 2018, 179: 792-802.
- [41] 梁浩, 李瑞敏, 袁其朋. 天然活性异硫氰酸酯类化合物的研究进展[J]. 北京化工大学学报(自然科学版), 2015, 42(2): 1-12.
- [42] LIANG Xu, LEE H W, LI Zhi-feng, et al. Simultaneous quantification of 22 glucosinolates in 12 *Brassicaceae* vegetables by hydrophilic interaction chromatography-tandem mass spectrometry[J]. ACS Omega, 2018, 3(11): 15 546-15 553.
- [43] SUN Jiang-hao, ZHANG Meng-liang, CHEN Pei. GLS-finder: A platform for fast profiling of glucosinolates in *Brassica* vegetables[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2016, 64(21): 4 407-4 415.
- [44] THOMAS M, BADR A, DESJARDINS Y, et al. Characterization of industrial broccoli discards (*Brassica oleracea* var. *italica*) for their glucosinolate, polyphenol and flavonoid contents using UPLC MS/MS and spectrophotometric methods[J]. Food Chemistry, 2018, 245: 1 204-1 211.
- [45] LELARIO F, BIANCO G, BUFO S A, et al. Establishing the occurrence of major and minor glucosinolates in *Brassicaceae* by LC-ESI-hybrid linear ion-trap and Fourier-transform ion cyclotron resonance mass spectrometry[J]. Phytochemistry, 2012, 73(1): 74-83.
- [46] 丁云花, 何洪巨, 宋曙辉, 等. 不同西兰花品种中硫代葡萄糖苷的组分与含量分析[J]. 长江蔬菜, 2015(20): 70-74.

(上接第 194 页)

- [9] 李小婷, 闫淑琴, 刘碧婷, 等. 无矾红薯粉丝品质改进[J]. 食品科技, 2011, 36(4): 121-126, 130.
- [10] 管爱红, 李智, 葛宏义. 红薯淀粉中添加剂明矾的定性和定量太赫兹时域光谱技术检测[J]. 光谱学与光谱分析, 2018(1): 267-270.
- [11] WANDEE Y, UTTAPAP D, PUNCHA-ARNON S, et al. Quality assessment of noodles made from blends of rice flour and canna starch[J]. Food Chemistry, 2015, 179: 85-93.
- [12] 陶瑞青, 张海均, 贾冬英, 等. 薯类粉丝加工中明矾替代物的研究进展[J]. 粮食与饲料工业, 2012(2): 44-45, 49.
- [13] 胡晓川, 张萌. 无铝明矾代用品制作油条的工艺[J]. 食品研究与开发, 2014(10): 64-66.
- [14] 巫东堂, 周柏玲, 卢健鸣, 等. 无铝粉丝(条)研制及生产工艺研究[J]. 农业工程学报, 2003(1): 162-164.
- [15] ITTHIVADHANAPONG P, SANGNARK A. Effects of substitution of black glutinous rice flour for wheat flour on batter and cake properties[J]. International Food Research Journal, 2016, 23(3): 1 190-1 198.
- [16] 唐丽, 张娟, 李一沛, 等. 湿热处理对不同水分含量的米粉性质及粉条品质的影响[J]. 湖南农业科学, 2019, 40(2): 93-96.