

數種十字花科蔬菜吲哚硫糖苷含量之探討

顏國欽 *危貴金

國立中興大學食品科系 *中華醫專食品營養科

摘 要

本研究主要目的為探討十字花科蔬菜,高麗菜、花椰菜、山東白菜及青花菜之吲哚硫糖苷[indole glucosinolate (GS)]含量。四類蔬菜所含吲哚硫糖苷主要為3-indolylmethyl-GS,及1-methoxy-3-indolylmethyl-GS。高麗菜、花椰菜及青花菜都以3-indolylmethyl-GS含量較高,而山東白菜則以1-methoxy-3-indolylmethyl-GS含量較高。分析南部、中部及梨山三個主要產區之高麗菜、花椰菜及山東白菜之吲哚硫糖苷含量顯示,於三個產區之高麗菜及花椰菜亦都以3-indolylmethyl-GS的含量較多。南部及中部所測得吲哚硫糖苷含量以高麗菜及山東白菜差異較大,而花椰菜則差異不明顯。但此二種蔬菜由梨山地區所得的含量都較中、南部的含量低。高麗菜、花椰菜及山東白菜經加熱處理後,發現3-indolylmethyl-GS的損失都較1-methoxy-3-indolylmethyl-GS的損失程度低。

前 言

硫糖苷(glucosinolates, GS)大都存在於十字花科蔬菜中。硫糖苷易受同時存在之硫糖苷酶(myrosinase)水解而形成isothiocyanate, nitrile及oxazolidine-2-thiones等產物⁽¹⁾。這些水解產物不僅引起食品刺激味及苦味,亦會引起人體甲狀腺機能障礙⁽²⁾,及導致肝、腎腫大⁽³⁾。最近McDanell等⁽⁴⁾指出吲哚硫糖苷(indole glucosinolates)的水解產物會影響主要去毒酵素系統如glutathione-S-transferase (GST)及epoxide hydratase (EH)。而在蔬菜中存在的3-indolylmethyl-GS經酵素分解後所產生之indole-3-carbinol經餵食老鼠試驗發現可增加肝臟及腸內的GST活性三倍⁽⁵⁾。在另外試驗中亦顯示indole-3-carbinol可增加老鼠肝臟之EH活性二倍⁽⁶⁾。吲哚硫糖苷亦被報告有抑制化學性致癌的效果。Wattenberg等⁽⁷⁾曾探討出3-indole-methyl-GS具有抑制benzo (a) pyrene誘發腫瘤形成的效果。此外,以紅鱒魚餵食aflatoxin B₁的試驗中亦證明indole-3-carbinol可抑制癌症的形成⁽⁸⁾。

顏及危⁽⁹⁾曾針對國內十字花科蔬菜中硫糖苷之類型及含量加以分析探討,結果顯示所測定的數種蔬菜大都以吲哚硫糖苷的含量較高。由於吲哚硫糖苷的裂解產物具相當的生理效應,引發吾人更進一步探討國人飲食中十字花科蔬菜其吲哚硫糖苷的含量及分佈情形,以做為飲食健康之參考。

材料與方法

一、材料

(一)食品材料

- (1)高麗菜(*Brassica oleracea* L. var *capitata* L.)。
- (2)結球白菜(*Brassica pekinensis*): 山東白菜。
- (3)花椰菜(*Brassica oleracea* L. var *botrytis* L.)。
- (4)青花菜(*Brassica oleracea* L. var *italica* Plence)。

以上食品在79年10月至80年6月間,分別購自

臺中市各超級市場或零售市場,其來源包括台灣南部(台南、高雄)、中部(彰化、雲林)及梨山地區。

(二)化學藥品

標準品 o-nitrophenyl- β -galactopyranoside (ONPGal), glucobrassicin, neoglucobrassicin 由英國AFRC Institute of Food Research之Dr. Fenwick所贈送。Aryl sulphatase購自美國Sigma公司。DEAE-Sephadex A-25購自瑞典Pharmacia公司。UP級甲醇購自皓峰公司,LC級的氘甲烷等溶劑購自美國Mallinckrodt公司,其它試劑均購自德國E. Merck公司之GR級試劑。

二、實驗方法

(一)樣品前處理⁽¹⁰⁾

將蔬菜樣品置於-40°C下冷凍庫,凍藏過夜,於-20°C下用打碎機打碎,置於塑膠瓶中凍藏於-20°C。稱取10g樣品於預冷燒杯中,快速但少許加入100 ml的沸騰甲醇(65°C)萃取15分鐘,並隨時保持甲醇於沸騰狀態及體積在100 ml,經冷卻,過濾,收集濾液,濃縮至25 ml。置於-20°C下凍藏,備分析用。

在探討加熱調理對蔬菜吲哚硫糖苷含量之影響時,乃先將各種蔬菜在沸水中加熱10分鐘,爾後樣品之處理如上所述。

(二)吲哚硫糖苷(Indole glucosinolates)之分析方法⁽⁹⁾

1. 前處理

於玻璃滴管(10cm $\times$ 8 mm)之底部裝入少許玻璃棉,將DEAE-Sephadex A-25充填入滴管約1cm高度,加4ml 0.5M pyridine acetate流洗,再以8 ml水洗,為離子交換層析管柱(acetate form)。取2 ml萃取液於離心管,加1ml 0.5M lead acetate及0.5M barium acetate (1:1)沈澱蛋白質後,以2000x g離心3分鐘。取澄清液通入上述離子交換層析管柱(acetate form),以2 ml之0.02M pyridine acetate洗去雜質,再加3 ml之0.5M pyridine acetate去除non-indole glucosinolates,再以3 ml水洗後,加入1 ml之0.02% aryl sulphatase酵素液,靜置過夜以進行desulfation,以6 ml水洗,洗液予以濃縮,加200 μ l的 o-nitrophenyl- β -D-galactopyranoside (ONPGal)的內標準液(ID),定量至1 ml,再以HPLC分析。

2. 吲哚硫糖苷之HPLC分析條件

(1)配備

利用Hitachi液相層析儀(Hitachi, Ltd, Tokyo, Japan),配備包括Model L-6200幫浦,Rheo-

dyne Model 7125注射器,Model L-4200 UV-Vis偵測器設定在227.5 nm,及Model D-2000積分儀。所用之分析管柱為Zorbax ODS RP-18逆相分析管柱,填充物之粒徑為5 μ m,管柱大小為250 $\times$ 4.6 mm i.d.(美國杜邦公司出品)。

(2)HPLC分析條件

移動相為氘甲烷及水之梯度系統,其程式設定為:開始時以100%的水由0到10分鐘內以線性轉變,將移動相變成氘甲烷:水(88:12, v/v),再以氘甲烷:水(88:12, v/v)維持20分鐘,最後以10分鐘內回復到水100%,其間流速維持1 ml/min。

(3)吲哚硫糖苷的定性及定量

吲哚硫糖苷之鑑定,利用由AFRC Institute of Food Research (England)所提供純化之吲哚硫糖苷比對滯留時間,並依McGregor⁽¹¹⁾定出ONPGal對吲哚硫糖苷的response factor (RF)計算含量。

結果與討論

一、十字花科蔬菜中吲哚硫糖苷之含量

由表一的結果可知,在所測定的兩種吲哚硫糖苷中,高麗菜以3-indolylmethyl-GS的平均含量較高為109.1 μ mole/100 g(鮮重);山東白菜以1-methoxy-3-indolylmethyl-GS的含量較多為17.0 μ mole/100 g;而花椰菜則以3-indolylmethyl-GS含量(18.9 μ mole/100 g)高於1-methoxy-3-indolylmethyl-GS(9.21 μ mole/100 g)。青花菜亦以3-indolylmethyl-GS含量(128.44 μ mole/100 g)高於1-methoxy-3-indolylmethyl-GS(113.94 μ mole/100 g)。由以上結果可知,所選取四種蔬菜中有三種蔬菜,高麗菜、花椰菜及青花菜都以3-indolylmethyl-GS的含量較高。本研究中吲哚硫糖苷之含量與顏及危⁽⁹⁾之報告中有些差異,此乃可能由於樣品之成熟度、產期及產地不同所致。McDanell⁽⁴⁾等曾整理出各種十字花科蔬菜之吲哚硫糖苷的含量,其所含類型除3-indolylmethyl-GS及1-methoxy-3-indolylmethyl-GS外,另有4-methoxy-3-indolylmethyl-GS。由其報告指出高麗菜、花椰菜及青花菜之3-indolylmethyl-GS的含量分別為10-30, 10-160及20-70 μ mole/100 g,而1-methoxy-3-indolylmethyl-GS的含量分別是0-10,10-30及20-100 μ mole/100 g,且這三種蔬菜之4-methoxy-3-indolylmethyl-GS的含量都相當低,與本實驗結果頗相近。

Table 1. Content of indole glucosinolates in various cruciferous vegetables

Samples	No. of Samples	Indole glucosinolate (μ mole/100g fresh weight)	
		I ^a	II ^b
Cabbage (高麗菜)	5	55.54 – 161.92 (109.10 $\pm$ 21.73) ^c	5.66 – 29.64 (13.42 $\pm$ 4.78)
Cauliflower (花椰菜)	6	8.07 – 34.86 (18.91 $\pm$ 9.72)	5.96 – 11.86 (9.21 $\pm$ 2.19)
Chinese cabbage (山東白菜)	6	2.34 – 13.35 (6.93 $\pm$ 1.37)	3.42 – 23.67 (17.00 $\pm$ 2.62)
Broccoli (青花菜)	7	14.96 – 295.10 (128.44 $\pm$ 47.09)	4.72 – 23.06 (13.74 $\pm$ 3.12)

^a 3-indolylmethyl-GS.
^b 1-methoxy-3-indolylmethyl-GS.
^c Range, mean $\pm$ S.D., respectively.

Table 2. Content of indole glucosinolates of cabbage, cauliflower and Chinese cabbage from different areas

Samples	No. of Samples	Indole glucosinolate (μ mole/100g fresh weight)	
		I ^a	II ^b
Cabbage (高麗菜)			
南 部	5	74.85 – 147.3 (106.95 $\pm$ 9.71) ^c	4.41 – 12.51 (9.36 $\pm$ 1.4)
中 部	5	51.66 – 91.20 (65.31 $\pm$ 5.97)	9.54 – 11.58 (10.50 $\pm$ 0.33)
梨 山	5	27.51 – 52.32 (36.24 $\pm$ 3.27)	6.12 – 12.36 (8.79 $\pm$ 0.95)
Cauliflower (花椰菜)			
南 部	5	61.44 – 161.56 (104.92 $\pm$ 9.93)	10.56 – 20.36 (15.60 $\pm$ 1.08)
中 部	5	46.92 – 172.6 (104.96 $\pm$ 11.74)	7.68 – 14.08 (11.44 $\pm$ 0.62)
梨 山	4	12.46 – 35.38 (19.08 $\pm$ 2.68)	2.00 – 3.76 (2.84 $\pm$ 0.19)
Chinese cabbage (山東白菜)			
南 部	3	22.00 – 33.33 (29.04 $\pm$ 0.56)	102.96 – 137.28 (125.29 $\pm$ 1.76)
中 部	5	3.85 – 19.47 (10.23 $\pm$ 0.57)	8.03 – 67.87 (44.44 $\pm$ 2.08)
梨 山	5	47.19 – 78.54 (60.17 $\pm$ 1.05)	122.21 – 200.20 (149.05 $\pm$ 3.25)

^a 3-indolylmethyl-GS.
^b 1-methoxy-3-indolylmethyl-GS.
^c Range, mean $\pm$ S.D., respectively.

二、不同地區蔬菜其吲哚硫糖苷的差異

吾人曾探討不同品種,不同栽培方式,不同成熟度,不同部位其硫糖苷的類型及含量,結果發現品種、栽培方式、成熟度及部位的不同都會影響硫糖苷的含量⁽¹²⁾。另外,由於國人日常蔬菜來源大都來自南部、中部及梨山等地區,這三大地區蔬菜之吲哚硫糖苷的含量是否有差異?

由表二之結果可知,不同地區高麗菜之吲哚硫糖苷都以3-indolylmethyl-GS的含量較1-methoxy-3-indolylmethyl-GS的含量高,其高低順序依次為南部>中部>梨山。不同地區花椰菜之吲哚硫糖苷含量與高麗菜有相同趨勢。至於山東白菜則與前兩種蔬菜之情形不同,其以1-methoxy-3-indolylmethyl-GS的含量較3-indolylmethyl-GS的含量高。另外,不同地區山東白菜之吲哚硫糖苷含量的高低趨勢則以梨山地區最高,其次為南部地區,而以中部地區為最低。

由以上結果可知,不同產區十字花科蔬菜其吲哚硫糖苷之類型及含量均有所不同。

三、加熱調理對蔬菜中吲哚硫糖苷的影響

Srisangram等⁽¹³⁾曾指出吲哚硫糖苷對熱敏感,因其熱裂解的產物類似自然水解產物。表三即為各種蔬菜經加熱調理其吲哚硫糖苷含量變化的情形。由表中的結果可知,將新鮮高麗菜經水煮10

分鐘後 3-indolylmethyl-GS 及 1-methoxy-3-indolylmethyl-GS分別損失77%及80%;花椰菜損失27%及42%;山東白菜損失37%及67%,並都以3-indolylmethyl-GS 的 損 失 較 1-methoxy-3-indolylmethyl-GS的低。1-Methoxy-3-indolylmethyl-GS經加熱可能裂解成1-methoxy-3-acetonitrile,但其是否具有生理效應尚未清楚;而3-indolylmethyl-GS經加熱裂解形成indole-3-acetonitrile卻廣為學者所探討及研究,且被報導具有抑制腫瘤及增加去毒酵素之活性^(7,13)。

Slominski及Campbell⁽¹⁴⁾曾討論Brassica於自然水解,蒸煮及水煮過程中吲哚硫糖苷的裂解產物,發現indole glucosinolates經加熱裂解,分別產生50%及30%之thiocyanate ion及indoleacetonitrile,而自然水解幾乎不產生indoleacetonitrile。

由此可知國人於一般飲食當中,由上述蔬菜可能攝取完整的吲哚硫糖苷及其水解產物,其中各種化合物攝取之多寡,則有待進一步評估。

四、結論

十字花科蔬菜中,吲哚硫糖苷所佔的量相當多,且由於吲哚硫糖苷之酵素水解產物及熱裂解產物(indole-3-carbinol 及 indole-3-acetonitrile)都具有活化去毒酵素系統,及抑制腫瘤發生的效應,故有許多學者廣泛研究其含量及生理效應。由以上實

Table 3. Content of indole glucosinolates in various cruciferous vegetables after cooking

Samples	Indole glucosinolate (μ mole/100g fresh weight)	
	I ^a	II ^b
Cabbage (高麗菜)		
raw	98.5 $\pm$ 10.0 ^c	28.5 $\pm$ 3.1
cooked ^d	23.4 $\pm$ 6.4	5.7 $\pm$ 0.8
Cauliflower (花椰菜)		
raw	54.4 $\pm$ 6.2	15.2 $\pm$ 9.7
cooked	40.0 $\pm$ 4.8	8.9 $\pm$ 5.0
Chinese cabbage (山東白菜)		
raw	12.6 $\pm$ 2.3	50.6 $\pm$ 5.1
cooked	8.1 $\pm$ 0.7	16.9 $\pm$ 4.1

^a 3-indolylmethyl-GS.
^b 1-methoxy-3-indolylmethyl-GS.
^c Data are mean $\pm$ S.D. of three samples.
^d Cooked in boiling water for 10 min.

驗結果可知,高麗菜、花椰菜及青花菜含有豐富的3-indolylmethyl-GS,只有山東白菜含多量之1-methoxy-3-indolylmethyl-GS。而一般傳統飲食中蔬菜經切碎,烹煮的過程,此時3-indolylmethyl-GS很容易產生indole-3-carbinol及indole-3-acetonitrile等產物。完整的吲哚硫糖苷與經酵素水解產物是否具有相同的生理效應,則有待進一步探討。另外,由實驗結果亦可知蔬菜中吲哚硫糖苷隨產區、品種及部位之不同,含量有些差異;經加工調理後其吲哚硫糖苷雖有所損失,但其分解產物經攝取後可能具某些生理效應。

誌 謝

本研究承蒙行政院衛生署經費支助(DOH81-TD-089),謹致謝忱。

參考文獻

1. Fenwick, G.R., Heaney, R.K. and Mullin, W. J. 1983. Glucosinolates and their breakdown products in food and food plants. *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 18 : 123-201.
2. Elfving, S. 1980. Studies on the naturally occurring goitrogen 5-vinyl-2-thioxazolidine, an antithyroid compound from yellow turnip and from *Brassica* seeds. *J. Biol Chem.* 181 : 121-130.
3. Nishie, K. and Daxenbichler, M.E. 1980. Toxicity of glucosinolates related compound nitriles, R-goitrin and isothiocyanates and vitamin K found in cruciferae. *Food Cosmet. Toxicol.* 18 : 159-172.
4. McDanell, R., McLean, A.E.M., Hanley, A. B., Heney, R.R. and Fenwick, G.R. 1988. Chemical and biology properties of indole glucosinolates (glucobrassicins)-A Review. *Food Chem. Toxicol.* 26 : 59-70.
5. Sparnins, V.L., Venegas, P.L. and Wattenberg, L.W. 1982. Glutathione-S-transferase activity: enhancement by compounds inhibiting chemical carcinogenesis and by dietary constituents. *J. Natn. Cancer Inst.* 68 : 493-496.
6. Cha, Y.N., Thompson, D.C., Heine, H.S. and Chung, J.H. 1985. Differential effects of indole-3-carbinol and benzofuran on several microsomal and cytosolic enzyme activities in mouse liver. *Korean J. Pharmac.* 21 : 1-6.
7. Wattenberg, L.W., Hanley, A.B., Barany, G., Sparnins, V.L., Lam, L.K.T. and Fenwick, G.R. 1986. Inhibition of carcinogenesis by some minor dietary compounds. In *Diet, Nutrition and Cancer*, edited by Hayashi, Y., P. B. VNU Science, Tokyo.
8. Bailey, G.S., Hendricks, J.D., Shelton, D.W., Nixon, J.E. and Pawlowshi, N.E. 1987. Enhancement of carcinogenesis by the natural anticarcinogen indole-3-carbinol. *J. Natn. Cancer Inst.* 78 : 793.
9. 顏國欽, 危貴金. 1992. 十字花科蔬菜中硫糖苷含量之研究. *中國農業化學會誌*. 30 (1) : 129-137.
10. Heaney, P.K. and Fenwick, G.R. 1980. The analysis of glucosinolates in *Brassica* species using gas chromatography: Direct determination of the thiocyanate ion precursors glucobrassicin and neoglucobrassicin. *J. Sci. Food Agric.* 31 : 593-599.
11. McGregor, D.I. 1985. Determination of glucosinolates in brassica seed cruciferae. *Cruciferae Newsletter*. 10 : 132-136.
12. 危貴金. 1991. 十字花科蔬菜中硫糖苷之研究. 國立中興大學食品科學研究所碩士論文.
13. Srisangram, C., Salunke, D.K., Reddy, N.R. and Dull, G.G. 1980. Quality of cabbage. II. Physical, chemical and biochemical modification in processing treatments to improve flavour of blanched cabbage (*Brassica oleracea* L.). *J Food Qual.* 3 : 233-250.
14. Slominski, B.A. and Campbell, L.D. 1989. Formation of indole glucosinolate breakdown products in autolyzed steamed, and cooked *Brassica* vegetable. *J. Agric. Food Chem.* 37 : 1297-1302.

Determination of Indole Glucosinolate Content in Some Cruciferous Vegetables

GOW-CHIN YEN AND *QUE-KING WEI

*Department of Food Science, National Chung Hsing University,
Taichung, Taiwan, R.O.C.*

**Department of Food Nutrition, China Junior College of Medical
Technology, Tainan, Taiwan, R.O.C.*

ABSTRACT

Content of indole glucosinolate in cabbage, Chinese cabbage, cauliflower and broccoli were determined. The results indicated that the major indole glucosinolate (GS) in these four cruciferous vegetables were 3-indol-ylmethyl-GS and 1-methoxy-3-indolylmethyl-GS. Cabbage, broccoli and cauliflower contained higher level of 3-indolylmethyl-GS, while Chinese cabbage contained a higher level of 1-methoxy-3-indolylmethyl-GS. The indole glucosinolate in cabbage, cauliflower and Chinese cabbage from different cultivation areas, including southern Taiwan, central Taiwan and Li-San area of Taiwan,

were determined. The cabbage and cauliflower from these areas contained a higher amount of 3-indolyl-methyl-GS. The contents of indole glucosinolate in cabbage and Chinese cabbage had greater differences between the southern and central Taiwan, but not for cauliflower. In general, the indole glucosinolate content of cabbage and cauliflower from Li-San area was lower than those from the other two areas. The thermal degradation of 1-methoxy-3-indolylmethyl-GS in cabbage, cauliflower and Chinese cabbage was greater than that of 3-indolylmethyl-GS.

Key Words : Indole glucosinolate, Cruciferous vegetable.