

萝卜芥子油苷组分及含量的分析

李秋云¹, 戴绍军¹, 陈思学², 阎秀峰^{1*}

(¹ 东北林业大学生命科学学院, 东北林业大学林木遗传育种与生物技术教育部重点实验室, 哈尔滨 150040; ² 佛罗里达大学植物学系, 盖恩斯维尔 FL 32611, 美国)

摘要: 采用 HPLC-MS 联用分析法, 对‘心里美’萝卜 (*Raphanus sativus* L.) 芽、叶片以及肉质根中芥子油苷的组分与含量进行了鉴定和分析。结果表明, 萝卜芽、叶片和根的芥子油苷组分相同, 均检测出 8 种芥子油苷, 其中脂肪族芥子油苷 5 种 (4-甲基亚磺酰基-3-丁烯基芥子油苷、2-羟基-3-丁烯基芥子油苷、乙基芥子油苷、4-甲硫基-3-丁烯基芥子油苷和 6-庚烯基芥子油苷); 吲哚族芥子油苷 3 种 (1-甲氧吲哚基-3-甲基芥子油苷、吲哚基-3-甲基芥子油苷和 4-羟基吲哚基-3-甲基芥子油苷)。芥子油苷含量在萝卜芽、叶片和肉质根中差异很大, 肉质根中芥子油苷的总含量高于萝卜芽和叶片。在肉质根和芽中, 4-甲硫基-3-丁烯基芥子油苷是主要的芥子油苷, 分别占芥子油苷总含量的 75.5% 和 71.5%; 而在叶片中吲哚基-3-甲基芥子油苷是主要芥子油苷, 占芥子油苷总含量的 57.1%。

关键词: 萝卜; 芥子油苷; 组分; 含量; HPLC-MS

中图分类号: S 631.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2008) 08-1205-04

Analysis of Glucosinolate Composition and Content in Radish

LI Qiu-yun¹, DAI Shao-jun¹, CHEN Si-xue², and YAN Xiu-feng^{1*}

(¹ Key Laboratory of Forest Tree Genetic Improvement and Biotechnology, Ministry of Education; College of Life Sciences, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China; ² Department of Botany, University of Florida, Gainesville, FL 32611, USA)

Abstract: The composition and content of glucosinolates (GSs) in sprouts, leaves and edible roots of radish (*Raphanus sativus* L.) were analyzed by HPLC-MS. A total of eight GSs were identified in different tissues of radish, including five aliphatic GSs (4-methylsulfinyl-3-butenyl GS, 2-hydroxy-3-butenyl GS, ethyl GS, 4-methylthio-3-butenyl GS and 6-heptenyl GS) and three indole GSs (1-methoxyindol-3-ylmethyl GS, indol-3-ylmethyl GS, 4-hydroxyindol-3-ylmethyl GS). Remarkable differences in glucosinolate profiles in sprouts, leaves and edible roots of radish were observed. The contents of total GSs in the sprouts and edible roots were higher than that in the leaves. The major GS in edible roots and sprouts was 4-methylthio-3-butenyl GS, accounting for 75.5% and 71.5% of the total GSs, respectively. Indol-3-ylmethyl GS was the major GS in radish leaves, accounting for 57.1% of the total leaf GSs.

Key words: radish; *Raphanus sativus* L.; glucosinolate; composition; content; HPLC-MS

有关‘心里美’萝卜 (*Raphanus sativus* L.) 的生长动态、营养吸收 (续勇波 等, 2004)、萝卜红色素的提取 (宋常春, 2001; 范龚健 等, 2006) 和纯化 (徐忠和张亚丽, 2002) 等已有一些研究, 但对影响其风味和药用价值的次生代谢物质——芥子油苷, 仅见肉质根中总含量的初步报道 (孙秀波 等, 2007)。芥子油苷根据侧链氨基酸的来源通常分为脂肪族芥子油苷、芳香族芥子油苷和吲哚族芥子油苷 3 个类群 (Wittstock & Halkier, 2002)。其降解产物异硫氰酸酯的抗癌活性也早已引

收稿日期: 2008-02-19; 修回日期: 2008-07-14

基金项目: 国家自然科学基金海外青年学者合作研究基金项目 (30528013); 国家自然科学基金项目 (30670325); 新世纪优秀人才支持计划 (NCET-05-0328)

* 通讯作者 Author for correspondence (E-mail: xfyan@mail.hl.cn)

起生物、医学等领域研究者的重视 (Shapiro et al., 1998; Conaway et al., 2002)。作者采用 HPLC-MS 分析方法, 对‘心里美’萝卜芽、叶片和肉质根的芥子油苷组分及含量进行鉴定和分析, 为萝卜的食用开发及育种研究提供参考数据。

1 材料与方法

于 2007 年 8 月 15 日—11 月 15 日在东北林业大学林木遗传育种学科试验基地种植‘心里美’萝卜。种子充分吸水后播种在直径为 30 cm、深 60 cm 的花盆中, 置于温室 (自然光照, 昼/夜温度为 25 ℃/20 ℃) 中正常培养。分别于培养 10、90 和 120 d 取萝卜芽、叶和肉质根 (5 次重复), 按钟海秀等 (2007) 的方法提取芥子油苷。

利用 Waters 高效液相色谱 (1525 梯度洗脱泵、717 自动进样器、2996 二极管阵列检测器) 检测脱硫芥子油苷, 以苯甲基芥子油苷 (德国 Phytoflan 公司) 为内标 (样品提取时加入), 以 229 nm 的相对峰面积计算各种芥子油苷含量。色谱柱为 Discovery C18 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm; Supelco 公司), 流动相 A (超纯水) 和流动相 B (甲醇, 色谱纯) 梯度洗脱 (0→2 min, 0B; 3 min→50 min, 0B→60% B; 51 min→53 min, 60% B→100% B; 54 min→56 min, 100% B; 57 min→60 min, 100% B→0B), 检测波长 190 ~ 370 nm, 流速 1 mL · min⁻¹。通过 UV 光谱比对鉴别各种芥子油苷, 利用 Applied Biosystems 4000 QTRAP 串联质谱的增强分辨扫描和中性离子丢失扫描 (葡萄糖基团质荷比 162.2) 模式通过分析母离子质量和相应片段峰谱完成各种芥子油苷的准确鉴定。

2 结果与分析

2.1 萝卜脂肪族芥子油苷的组成与含量

萝卜芽、叶和肉质根中均检测到 5 种相同的脂肪族芥子油苷 (图 1, 表 1)。其中肉质根中乙基芥子油苷、4-甲硫基-3-丁烯基芥子油苷和 6-庚烯基芥子油苷的含量均明显高于芽和叶, 分别是芽的 9.52、2.75 和 4.00 倍, 叶的 5.29、61.26 和 3.43 倍。肉质根中 4-甲基亚磺酰基-3-丁烯基芥子油苷和 2-羟基-3-丁烯基芥子油苷的含量与芽中的无明显差异, 但低于叶, 分别占叶的 50.6% 和 67.6%。4-甲硫基-3-丁烯基芥子油苷也是肉质根中含量最高的组分, 占总芥子油苷的 75.5%。

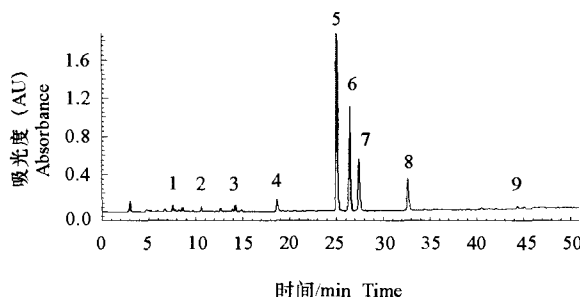


图 1 萝卜芽脱硫芥子油苷 HPLC 色谱图

- 1: 4-甲基亚磺酰基-3-丁烯基脱硫芥子油苷; 2: 2-羟基-3-丁烯基脱硫芥子油苷; 3: 乙基脱硫芥子油苷;
4: 4-羟基吲哚基-3-甲基脱硫芥子油苷; 5: 苯甲基脱硫芥子油苷 (内标); 6: 4-甲硫基-3-丁烯基脱硫芥子油苷;
7: 吲哚基-3-甲基脱硫芥子油苷; 8: 1-甲氧基吲哚基-3-甲基脱硫芥子油苷; 9: 6-庚烯基脱硫芥子油苷。

Fig. 1 HPLC chromatogram of desulpho-GSs (ds-GSs) in radish sprout

- 1: 4-methylsulfinyl-3-butenyl ds-GS; 2: 2-hydroxy-3-butenyl ds-GS; 3: ethyl ds-GS; 4: 4-hydroxyindol-3-ylmethyl ds-GS;
5: benzyl ds-GS (internal standard); 6: 4-methylthio-3-butenyl ds-GS; 7: Indol-3-ylmethyl ds-GS;
8: 1-methoxyindol-3-ylmethyl ds-GS; 9: 6-heptenyl ds-GS.

表 1 萝卜芥子油苷的组成和含量及其占总芥子油苷百分比
Table 1 The composition and content of GSs in radish and its percent of total GS

芥子油苷 GS	芽 Sprout		叶 Leaf		肉质根 Root	
	含量 /($\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ FM) Content	%	含量 /($\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ FM) Content	%	含量 /($\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ FM) Content	%
脂肪族芥子油苷 Aliphatic GSs						
4-甲基亚磺酰基-3-丁烯基芥子油苷 4-methylsulfinyl-3-butenyl GS	0.043 \pm 0.005	3.5 \pm 0.7	0.083 \pm 0.040	12.6 \pm 0.9	0.042 \pm 0.019	1.4 \pm 0.7
2-羟基-3-丁烯基芥子油苷 2-hydroxy-3-butenyl GS	0.023 \pm 0.007	1.8 \pm 0.4	0.034 \pm 0.007	5.4 \pm 2.2	0.023 \pm 0.010	0.7 \pm 0.1
乙基芥子油苷 Ethyl GS	0.025 \pm 0.009	2.1 \pm 0.6	0.045 \pm 0.002	7.0 \pm 3.7	0.238 \pm 0.115	8.4 \pm 4.7
4-甲硫基-3-丁烯基芥子油苷 4-methylthio-3-butenyl GS	0.869 \pm 0.120	71.5 \pm 3.0	0.039 \pm 0.021	6.3 \pm 4.0	2.389 \pm 0.952	75.5 \pm 7.4
6-庚烯基芥子油苷 6-heptenyl GS	0.012 \pm 0.003	0.9 \pm 0.2	0.014 \pm 0.002	2.2 \pm 0.7	0.048 \pm 0.008	1.6 \pm 0.7
总脂肪族芥子油苷 Total aliphatic GSs	0.971 \pm 0.134	79.8 \pm 3.4	0.229 \pm 0.089	33.5 \pm 9.8	2.736 \pm 0.947	87.6 \pm 2.0
吲哚族芥子油苷 Indole GSs						
1-甲氧吲哚基-3-甲基芥子油苷 1-methoxyindol-3-ylmethyl GS	0.095 \pm 0.023	7.9 \pm 1.9	0.052 \pm 0.020	8.7 \pm 3.6	0.104 \pm 0.027	3.4 \pm 0.5
吲哚基-3-甲基芥子油苷 Indol-3-ylmethyl GS	0.124 \pm 0.032	10.1 \pm 1.6	0.441 \pm 0.007	57.1 \pm 12.5	0.178 \pm 0.033	6.1 \pm 1.6
4-羟基吲哚基-3-甲基芥子油苷 4-hydroxyindol-3-ylmethyl GS	0.027 \pm 0.006	2.2 \pm 0.4	0.005 \pm 0.002	0.7 \pm 0.1	0.088 \pm 0.053	2.9 \pm 1.7
总吲哚族芥子油苷 Total indole GSs	0.246 \pm 0.054	20.2 \pm 3.4	0.498 \pm 0.034	66.5 \pm 9.7	0.370 \pm 0.070	12.4 \pm 2.0
总芥子油苷 Total GSs	1.163 \pm 0.168	100	0.727 \pm 0.070	100	3.106 \pm 1.013	100

2.2 萝卜吲哚族芥子油苷的组成与含量

萝卜芽、叶和肉质根中检测到 3 种吲哚族芥子油苷 (图 1, 表 1)。其中肉质根中 4-羟基吲哚基-3-甲基芥子油苷和 1-甲氧吲哚基-3-甲基芥子油苷的含量明显高于芽 (3.26 倍和 1.09 倍) 和叶 (17.6 倍和 2.00 倍)。吲哚基-3-甲基芥子油苷则是叶中含量最高的组分, 占总芥子油苷的 57.1%, 分别是肉质根和萝卜芽的 2.48 倍和 3.56 倍。

2.3 萝卜总芥子油苷含量

肉质根中总脂肪族芥子油苷含量高于萝卜芽的和叶的, 总吲哚族芥子油苷含量高于萝卜芽的但低于叶的。从总芥子油苷含量看, 肉质根中最高, 是萝卜芽和叶的 2.67 倍和 4.27 倍。从相对含量 (总芥子油苷的百分比) 看, 在萝卜芽和肉质根中脂肪族芥子油苷所占比重较大, 分别达到 87.6% 和 79.8%, 而叶中则是吲哚族芥子油苷所占比重最大, 达到 66.5% (表 1)。

3 讨论

与红皮萝卜、白皮萝卜 (Ciska et al., 2000)、芥蓝 (陈新娟等, 2006) 和拟南芥 (钟海秀等, 2007) 类似, 在‘心里美’萝卜的芽、叶和肉质根中也只检测到脂肪族和吲哚族两类芥子油苷, 而没有检测到芳香族芥子油苷。Ciska 等 (2000) 在红皮萝卜和白皮萝卜的肉质根中检测到 9 种芥子油苷, 其中 4-甲氧吲哚基-3-甲基芥子油苷、4-甲基亚磺酰丁基和 Glucericin 在‘心里美’萝卜中没有检测到, 而乙基芥子油苷和 6-庚烯基芥子油苷则是在‘心里美’萝卜中新检测到的。相同的是, 4-甲硫基-3-丁烯基芥子油苷在红皮萝卜、白皮萝卜和‘心里美’萝卜中均是含量最高的组分, 占总芥子油苷的 70% 以上。

另外, 孙秀波等 (2007) 采用硫酸钡沉淀法测得‘心里美’萝卜成熟肉质根总芥子油苷含量高达 $19.16 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ FM, 而本试验幼嫩肉质根中的含量只有 $3.106 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ FM, 这既与所测定肉质根的生长时期有关, 也与所采用的测定方法有关。同样采用 HPLC 法测定的红皮萝卜和白皮萝卜肉质

根中总芥子油苷含量 (Ciska et al., 2000) 则与本试验结果较为接近。

阚炜等 (2001) 认为 4-甲基-3-丁烯基芥子油苷的降解产物异硫氰酸酯是萝卜叶中所含对桃蚜具有很强引诱活性的挥发物组分之一, 而其在肉质根中的生物学意义尚不明确。有研究表明, 吡啶基-3-甲基芥子油苷能够直接释放到环境中而抑制其它植物的生长 (Kutáček, 1964), 其降解产物吡啶-3-甲醇、吡啶-3-酰胺等都具有防癌和抗癌作用 (Talalay et al., 1995), 所以萝卜是具有很大利用价值的蔬菜。

References

- Chen Xin-juan, Zhu Zhu-jun, Yang Jing, Liu Yong-hua. 2006. Composition and content of glucosinolates in leaves and bolting stems of Chinese Kale quantified by HPLC. *Acta Horticulturae Sinica*, 33 (4): 741–744. (in Chinese)
- 陈新娟, 朱祝军, 杨 静, 刘永华. 2006. 芥蓝叶和薹的硫代葡萄糖苷组分及含量. *园艺学报*, 33 (4): 741–744.
- Ciska E, Martyniak-Przybyszewska B, Kozłowska H. 2000. Content of glucosinolates in cruciferous vegetables grown at the same site for two years under different climatic conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48 (7): 2862–2867.
- Conaway C C, Yang Y M, Chung F L. 2002. Isothiocyanates as cancer chemopreventive agents: Their biological activities and metabolism in rodents and humans. *Current Drug Metabolism*, 3: 233–255.
- Fan Gong-jian, Han Yong-bin, Gu Zhen-xin, Zhu Hong-mei, Liu Xiao-jun, Wang Zheng-kang. 2006. Extraction technology and stability of red radish pigments from *Raphanus sativus*. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*, 22 (2): 159–163. (in Chinese)
- 范龚健, 韩永斌, 顾振新, 朱洪梅, 刘晓骏, 王正康. 2006. 萝卜红色素的提取工艺及其稳定性. *江苏农业学报*, 22 (2): 159–163.
- Kan Wei, Zhang Feng, Zhang Zhong-ning. 2001. A kind of plant volatiles that impacts the behavior of aphides. *Chinese Science Bulletin*, 46 (20): 1699–1702. (in Chinese)
- 阚 炜, 张 峰, 张钟宁. 2001. 一种影响蚜虫行为的植物挥发性次生化合物. *科学通报*, 46 (20): 1699–1702.
- Kutáček M. 1964. Glucobrassicin, a potential inhibitor of unusual type affecting the germination and growth of plants: Mechanism of its action. *Biologia Plantarum (Praha)*, 6: 88–98.
- Shapiro T A, Fahey J W, Wade K L, Stephenson K K, Talalay P. 1998. Human metabolism and excretion of cancer chemoprotective glucosinolates and isothiocyanates of cruciferous vegetables. *Cancer Epidemiol Biomarkers and Prevention*, 7: 1091–1100.
- Song Chang-chun. 2001. Study on properties and extraction of natural edible radish red. *Food and Fermentation Industries*, 27 (8): 31–33. (in Chinese)
- 宋常春. 2001. 萝卜红天然食用色素的提取及理化性质的研究. *食品与发酵工业*, 27 (8): 31–33.
- Sun Xiu-bo, Mu Mei-cai, Li Mei-gui, Yu Yan, Lian Xu-hai, Cheng Jie-shan. 2007. Comparison of the glucosinolate content in crucifer. *Anhui Agricultural Science Bulletin*, 13 (19): 64–65. (in Chinese)
- 孙秀波, 慕美财, 李玫瑰, 于 岩, 连序海, 程杰山. 2007. 十字花科蔬菜硫代葡萄糖苷含量比较. *安徽农学通报*, 13 (19): 64–65.
- Talalay P, Fahey J W, Holtzclaw W D, Prestera T, Zhang Y S. 1995. Chemoprotection against cancer by phase 2 enzyme induction. *Toxicology Letters*, 82 (2): 173–179.
- Wittstock U, Halkier B A. 2002. Glucosinolate research in the *Arabidopsis* era. *Trends in Plant Science*, 7 (6): 263–270.
- Xu Yong-bo, Zheng Yi, Liu Hong-bin, Zhang Wei-li. 2004. The growth trend and nutrient absorption of N P K in radish cv. Xinlimei. *Journal of Yunnan Agricultural University*, 19 (5): 575–580. (in Chinese)
- 续勇波, 郑 毅, 刘宏斌, 张维理. 2004. 心里美萝卜生长动态和氮磷钾营养吸收特性. *云南农业大学学报*, 19 (5): 575–580.
- Xu Zhong, Zhang Ya-li. 2002. Adsorption study on *Raphanus* pigment extract by DA101 macroporous resin. *Food Science*, 23 (1): 59–60. (in Chinese)
- 徐 忠, 张亚丽. 2002. DA101 大孔树脂对萝卜红色素的吸附特性研究. *食品科学*, 23 (1): 59–60.
- Zhong Hai-xiu, Dai Shao-jun, Yan Xiu-feng. 2007. Primary analyses on composition and content of glucosinolates in *Arabidopsis thaliana* under hydroponic cultivation. *Journal of Natural Science of Heilongjiang University*, 24 (3): 321–324. (in Chinese)
- 钟海秀, 戴绍军, 阎秀峰. 2007. 水培拟南芥中芥子油苷组成与含量的初步分析. *黑龙江大学自然科学学报*, 24 (3): 321–324.