反相高效液相色谱法测定甘蓝叶球中的抗癌活性成分吲哚－3－甲醇

李占省[1]，刘玉梅[1,*]，方智远[1]，杨丽梅[1]，庄 木[1]，张扬勇[1]，赵 文[2]，孙培田[1]

（[1]中国农业科学院蔬菜花卉研究所，北京 100081；[2]农业部蔬菜品质监测检验中心，北京 100081）

从甘蓝叶球中提取抗癌活性成分吲哚－3－甲醇（I3C），并确立 I3C 的高效液相色谱检测体系，为选育优质甘蓝新品种和 I3C 的制取提供材料和依据。

试验材料为中国农业科学院蔬菜花卉研究所甘蓝青花菜课题组选育的 15 份甘蓝（*Brassica oleracea* L. var. *capitata*）品系。于 2009 年秋定植于试验基地，采用随机区组设计，3 次重复，每重复种植 25 株。待甘蓝成熟时统一取样，各重复取样 5 株，去除最外层保护叶只保留商品性的叶球部分，然后采用对角线取样法取样，将所取样品切成均匀长条（3 cm × 1 cm）后混匀并称取 100 g 进行真空冷冻干燥处理。最后，将干燥后的样品机械粉碎后低温（4 ℃）密封储存，以备后用。

称取粉碎后的干样 0.55 g 加入不同 pH 梯度的磷酸二氢钠—柠檬酸缓冲液（0.1 mol · L^{-1}）15.0 mL，常温下磁力搅拌酶解 1.5 h 后加入 30 mL 乙酸乙酯萃取，6 000 r · min^{-1} 离心 10.0 min 后取上清。重复萃取 2 次，将萃取液合并，于 35 ℃下蒸干，10.0 mL 甲醇定容，过 0.22 μm 滤膜后待测（－20 ℃保存）。I3C 标样购于 Sigma-Aldrich 公司（纯度 ≥95%）。采用反相高效液相色谱法（RP-HPLC）检测样品中 I3C 的含量。色谱体系为：SHIMADZU LC-20A 系列高效液相色谱仪，SPD-20A UV/VIS 检测器，Waters PAH 反相 C_{18}（250 × 4.6 mm，5.0 μm），流速 0.800 mL · min^{-1}，柱温 30 ℃，进样量 10 μL。采用 Waters 2998 二极管阵列检测器在波长 200～400 nm 进行扫描，同时对洗脱程序进行研究。

在 200～400 nm 波长范围扫描过程中发现 217.6 和 278 nm 两个吸收峰。实际分析中发现近似浓度样品溶液在 279 nm 处信号响应值最大且杂质干扰较少。甘蓝和 I3C 标准样品在初始浓度为 40 : 60（乙腈 : 水）的线性洗脱程序下杂质干扰较少，灵敏度较高，出峰时间较早（4.88 min）。I3C 在 2.04～65.00 μg · mL^{-1} 范围内的线性回归方程为 Y = 4.305E-005X－0.552，R^2 = 0.9994，精密度良好（RSD = 2.504E-9%，n = 6），稳定性良好（RSD = 0.36%，n = 6），测得平均加样回收率为 99.25%（n = 6，RSD = 1.00%）。pH 8.0 时 I3C 的生成量最大，是 pH 5.5 酸性条件下的 5 倍多。15 份甘蓝材料中 I3C 含量为 6.62～87.88 mg · kg^{-1}DW。各材料间 I3C 含量差异达到了极显著水平（P < 0.01），平均含量为 28.85 mg · kg^{-1}DW。C238 和 C459 两份甘蓝自交系材料可作为 I3C 含量较高的育种材料。

关键词：结球甘蓝；吲哚－3－甲醇；检测体系

中图分类号：S 635.1 **文献标识码：**A **文章编号：**0513-353X（2011）S-2549-01

收稿日期：2011－09－14

基金项目：国家大宗蔬菜产业技术体系项目（CARS-25-A）；农业部蔬菜遗传与生理重点开放实验室项目；国家‘十一五’科技支撑计划项目（2006BAD13B06）；农业部‘948’项目（2006-G-13A）

* 通信作者（E-mail：liuym@mail.caas.net.cn；Tel：010-82108756）