

提取方式对十字花科蔬菜中异硫氰酸酯的影响

张尧^{1,2}, Nyasha Makaza^{1,2}, 吕城枝^{1,2}, 孙娟^{1,2}, 宋新杰^{1,2}, Sabir Z Nishanbaev³, 吴元锋^{1,2*}, 毛建卫^{1,2}

(1. 浙江科技学院 生物与化学工程学院, 浙江 杭州 310023; 2. 浙江省农业生物资源生化制造协同创新中心(2011协同创新中心), 浙江 杭州 310023; 3. 乌兹别克斯坦科学院植物化学研究所, 乌兹别克斯坦 塔什干 100170)

摘要:通过环缩合法和气质联用法探究先酶解后提取(hydrolysis followed by extraction, HFE)和酶解-提取同时进行(simultaneous hydrolysis and extraction, SHE)两种提取方式对6种十字花科蔬菜(萝卜、芥菜、榨菜、甘蓝、花菜和西兰花)种子中异硫氰酸酯(isothiocyanate, ITC)种类和含量的影响,并分析B16细胞抑制活性和NAD(P)H:醌氧化还原酶1[NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1, NQO1]诱导活性受提取物影响的差异。环缩合法的结果表明,与HFE相比SHE可显著提高西兰花和萝卜种子ITC含量($P<0.05$)。气相色谱-质谱联用的结果表明,SHE比HFE显著提高了萝卜种子中菜菔素(3.26倍)、erucin、raphasatin、4-MI和B,4-I-1,西兰花种子中erucin(1.63倍)和芥菜、甘蓝、花菜和西兰花种子中iberberin的含量($P<0.05$)。与HFE相比,SHE增加了芥菜和西兰花种子中ITC的种类,分别为iberberin和octane(OCT),并减少了花菜种子中ITC的种类,cyclopropyl isothiocyanate(CP)。两种方法对alyssin、iberin等其他ITC种类和含量无显著影响($P>0.05$)。细胞活性试验表明,SHE组萝卜、甘蓝、花菜和西兰花种子提取液的细胞抑制率均显著高于HFE组($P<0.05$),并且SHE组西兰花种子的NQO1诱导活性显著高于HFE组($P<0.05$)。

关键词:提取方式;十字花科蔬菜;异硫氰酸酯(ITC);气相色谱-质谱;抗氧化活性

Effect of Different Extraction Methods on Isothiocyanate Contents Measured in Seeds of Cruciferous Vegetables

ZHANG Yao^{1,2}, Nyasha Makaza^{1,2}, LÜ Cheng-zhi^{1,2}, SUN Juan^{1,2}, SONG Xin-jie^{1,2}, Sabir Z Nishanbaev³,
WU Yuan-feng^{1,2*}, MAO Jian-wei^{1,2}

(1. School of Biological and Chemical Engineering, Zhejiang University of Science and Technology, Hangzhou 310023, Zhejiang, China; 2. Zhejiang Provincial Collaborative Innovation Center for Biochemical Manufacturing of Agricultural Biological Resources(2011 Collaborative Innovation Center), Hangzhou 310023, Zhejiang, China; 3. Institute of the Chemistry of Plant Substances, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent 100170, Uzbekistan)

Abstract: Seeds from six kinds of cruciferous vegetables—turnip, leaf mustard, tuber mustard, cabbage, cauliflower, and broccoli—were used to study the effects of hydrolysis followed by extraction(HFE) and simultaneous hydrolysis and extraction(SHE) on isothiocyanate(ITC) types and their contents measured through cyclization and gas chromatography-mass spectrometry(GC-MS). The effects of extracts obtained using different extraction methods on B16 cell activity and NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1(NQO1) activity in seeds were also analyzed. SHE resulted in significantly higher ITC contents measured in broccoli and turnip seeds than HFE ($P<0.05$). GC-MS measurements showed that SHE resulted in significantly higher contents of sulforaphane (3.26-fold), erucin, raphasatin, 4-MI, and B,4-I-1 in turnip seeds; of erucin(1.63-fold) in broccoli seeds; and of iberberin in leaf mustard, cabbage, cauliflower, and broccoli seeds than HFE ($P<0.05$). SHE also resulted in

基金项目:浙江省重点研发计划(2019C02064);浙江省自然科学基金(LY16C200005)

作者简介:张尧(1992—),男(汉),讲师,博士,研究方向:食品科学、天然活性产物分析。

* 通信作者:吴元锋(1976—),男(汉),教授,博士,研究方向:蔬菜天然产物生物活性评价。

higher contents of iberverin and octane measured in mustard and broccoli seeds, respectively, and lower contents of cyclopropyl isothiocyanate measured in cauliflower seeds than HFE. However, SHE had no significant effect on the contents of other ITC types such as alyssin and iberin ($P>0.05$). Furthermore, the rates of inhibition of B16 cell activity by turnip, cabbage, cauliflower, and broccoli seed extracts in the SHE group were significantly higher than those in the HFE group ($P<0.05$). The NQO1 activity of broccoli seeds in the SHE group was also significantly higher than that in the HFE group ($P<0.05$).

Key words: extraction methods; cruciferous vegetables; isothiocyanate (ITC); gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS); antioxidant activity

引文格式:

张尧, Nyasha Makaza, 吕城枝, 等. 提取方式对十字花科蔬菜中异硫氰酸酯的影响[J]. 食品研究与开发, 2022, 43(8): 47-53.

ZHANG Yao, Nyasha Makaza, LÜ Chengzhi, et al. Effect of Different Extraction Methods on Isothiocyanate Contents Measured in Seeds of Cruciferous Vegetables[J]. Food Research and Development, 2022, 43(8): 47-53.

现代流行病学研究表明,经常食用西兰花、甘蓝、花菜、羽衣甘蓝、萝卜等十字花科蔬菜可有效降低癌症、心血管疾病、糖尿病、阿兹海默症等疾病的发生率。这是由于这些蔬菜含有丰富的抗坏血酸、膳食纤维、黄酮、类胡萝卜素、硫代葡萄糖苷等活性成分^[1-2]。硫代葡萄糖苷是一类含硫的次生代谢产物,基于衍生氨基

酸的差异可将其分为脂肪族、芳香族和吲哚族硫苷三类^[3]。当十字花科蔬菜被切割或啃食时,细胞中储存的内源性黑芥子酶将硫代葡萄糖苷水解为异硫氰酸酯(isothiocyanate, ITC)。但在 Fe^{2+} 或上皮硫特异蛋白(epithiospecifier protein, ESP)催化作用下,会转化为腈类物质^[4](图1)。

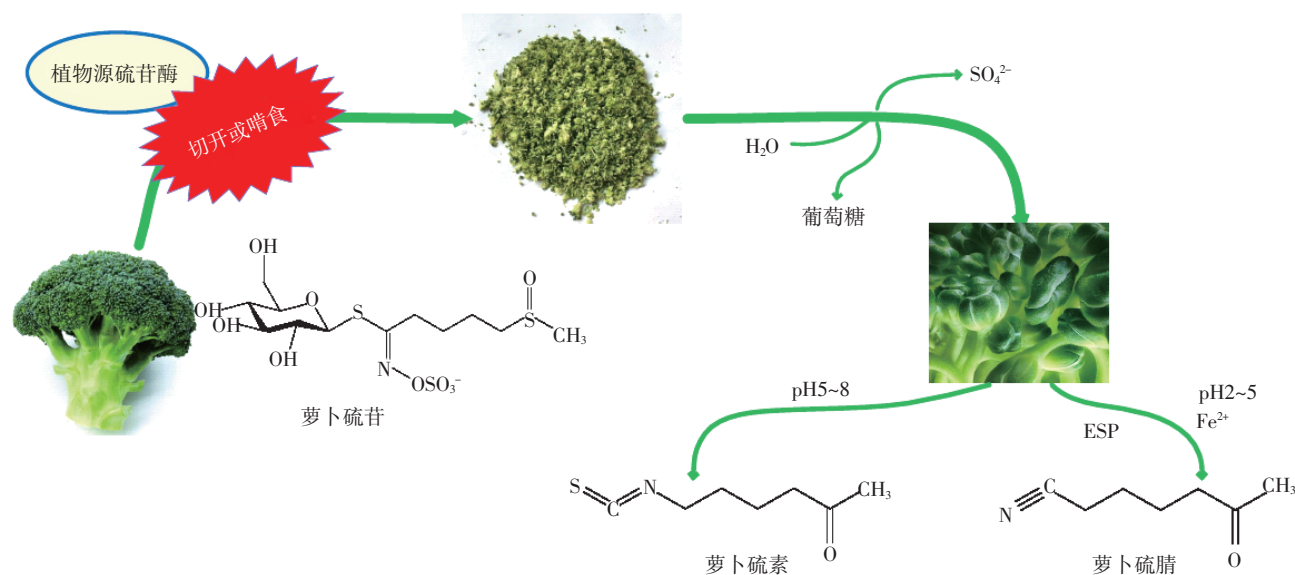


图1 黑芥子酶对硫代葡萄糖苷的水解作用

Fig.1 The hydrolysis effects of myrosinase on glucosinolate

研究表明,ITC具有抑制I型酶、激活II型酶、激活Keap1-Nrf2-ARE通路等多种活性,可显著降低肝癌、胃癌、肺癌、乳腺癌、宫颈癌等癌症的发生率。同时其还具有抗氧化、提高免疫力、抗氧化等多种功能^[1,5-6]。常见的脂肪族ITC包括萝卜硫素(又名莱菔硫烷, sulforaphane, SF)、莱菔素(sulforaphene, SFE)、芝麻菜素(erucin, ER)、庭荠素(alyssin)、3-甲基亚磺酰丙基异硫

氰酸酯(iberin)、3-(甲硫基)丙基异硫氰酸酯(iberiverin)等,芳香族ITC主要有异硫氰酸苯甲酯(phenyl benzyl isothiocyanate, BITC)、异硫氰酸苯乙酯(phenyl ethyl isothiocyanate, PEITC)等^[1,3,7]。在这些ITC中, SF活性最强^[8], SFE、ER、PEITC等也具有较弱的活性^[9-12]。

目前对ITC已有一定研究,主要集中于提取工艺的优化^[13-17]。程立等^[18]使用纯化并固定化后的黑芥子酶

生产 SFE,使底物转化率提高 2.7~8.0 倍。但关于提取剂添加方式的研究尚未见报道。提取 ITC 的传统方法是先酶解后提取 (hydrolysis followed by extraction, HFE),即先加入缓冲液,使硫代葡萄糖苷酶解为 ITC,再用有机溶剂提取^[19]。本文采用同时加入缓冲液和有机溶剂,即酶解和提取同时进行(simultaneous hydrolysis and extraction, SHE)的方式提取 ITC,缩短了提取工艺。进而比较不同提取方式(SHE 和 HFE)对 6 种常见的十字花科蔬菜(萝卜、芥菜、榨菜、甘蓝、花菜和西兰花)种子中 ITC 种类和含量的影响,以期从蔬菜中获得高含量和高活性的 ITC。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

石油醚、乙酸乙酯、甲醇、氯化钠、无水硫酸钠、磷酸二氢钾、磷酸氢二钾、磷酸钾、1,2-苯二硫醇乙二胺四乙酸(ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA)(均为分析纯):上海凌峰化学试剂有限公司;NAD(P)H:醌氧化还原酶 1[NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1, NQO1]酶活性检测试剂盒:美国 Sigma 公司;小鼠黑色素瘤细胞 B16、1640 培养液、胎牛血清:杭州诺扬生物有限公司;胰蛋白酶、青霉素-链霉素溶液:上海生工生物有限公司。

1.2 仪器与设备

RE-200 型旋转蒸发器:上海亚荣生化仪器厂;高速冷冻离心机:美国 Beckman 公司;SCIENTZ-II D 超声波细胞粉碎机:宁波新芝生物科技股份有限公司;Spectra Max 酶标仪:美国 Molecular Devices 公司;高效液相色谱仪、7890A 气质联用高效色谱仪:美国 Agilent Technologies 公司;WondaCract ODS-2 柱:日本岛津公司。

1.3 方法

1.3.1 ITC 提取方式

根据 Wu 等^[20]的方法,分别破碎并称取 100 g 萝卜、芥菜、榨菜、甘蓝、花菜、西兰花种子的粉末,加入 700 mL 石油醚,振荡摇匀 2 h,过滤除去石油醚,滤渣用相同体积的石油醚继续脱脂 2 次。滤渣置于通风干燥橱中过夜,得到脱脂种子。

先提取后酶解方式(HFE)^[19]:30 g 脱脂种子加入 15 mL 磷酸盐缓冲液(0.1 mol/L, pH7.0),振荡摇匀 2 h,再加入 35 mL 乙酸乙酯,振荡摇匀 4 h,随后继续加入 2 g 氯化钠,充分混匀 15 min 后过滤,滤渣用乙酸乙酯再洗涤 2 次。在乙酸乙酯相中加入 10.0 g 无水硫酸钠并过滤,通过旋转蒸发(45℃)将滤液浓缩并加入 5 mL 甲醇用于残留物的溶解定容,储存于-20℃冰箱中。

同时酶解和提取方式(SHE)^[19]:30 g 脱脂种子同时加入 15 mL 磷酸盐缓冲液(0.1 mol/L, pH7.0)和 35 mL 乙酸乙酯,振荡摇匀 4 h,后续步骤与 HFE 相同。

1.3.2 ITC 含量测定

根据 Liu 等^[21]的方法,运用环缩合法测定 ITC 含量。将 200 μ L 样品与 300 μ L 磷酸钾缓冲液(50 mmol/L, pH8.5)和 400 μ L 1,2-苯二硫醇(10 mmol/L)混匀,于 65℃ 孵育 2 h,随后冷却至 25℃。将反应液于 12 000 $\times$ g 离心 10 min,取上清液过 0.22 μ m 微滤膜并检测 ITC 含量。液相检测条件为流动相:甲醇和水分别为 80%和 20%;流速:1.0 mL/min;进样量:10 μ L;检测波长:365 nm。色谱柱为 4.6 mm $\times$ 250 mm, 5 μ m WondaCract ODS-2 柱。

1.3.3 气相色谱-质谱联用(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)分析

各种子中 ITC 种类和含量按照吴元锋等^[22]的方法测定,通过 GC-MS 进行检测。色谱柱为 HP-5MS 的 UI 毛细管柱(0.25 μ m, 30 m $\times$ 0.25 mm)。1 μ L 的上样量,300℃的气化室温度。柱升温程序为 50℃(2 min),升温至 190℃(10℃/min),再升温至 300℃(20℃/min),保持 5 min。超高纯氮气作为载气(分流比为 10:1)。质谱的接口温度为 220℃,电离方式为电子离子化(electronic ionization, EI),电离能量为 70 eV,质量范围为 35 amu~500 amu^[19]。内标物为环己酮。

1.3.4 提取液对 B16 细胞的抑制作用

提取液对小鼠 B16 细胞的抑制作用根据 Chiang 等^[23]的方法,采用噻唑蓝(methyl thiazolyl tetrazolium, MTT)比色法检测。取对数生长期的 B16 细胞,用含 EDTA 的胰蛋白酶溶液进行消化,制备成单细胞悬液,接种于 96 孔板中,每孔 100 μ L, 2×10^4 个细胞/孔,置于 37℃和 5% CO₂ 的培养箱中培养。待细胞贴壁,加入含有纯 SF 或提取液的培养液,使纯 SF 和 HFE 组提取液最终浓度为 30 μ mol/L,每个浓度设置 5 个复孔;SHE 组提取液与 HFE 组稀释倍数相同,仅含有培养液的作为空白组。随后将细胞置于培养箱中,培养 24 h,条件为 37℃并含有 5% CO₂。分别加入 20 μ L 无菌 MTT 溶液(5 mg/mL),反应 4 h。除去培养液,分别加入 150 μ L 二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)。反应 10 min 后在 570 nm 条件下检测其 OD 值,计算 24 h 后 B16 细胞的存活率。

1.3.5 提取液对 B16 细胞 NQO1 的影响

在 24 孔板中,分别加入 1 mL(含有约 2×10^5 个 B16 细胞)细胞悬液并传代培养至细胞稳定后加入含有纯 SF 或提取液的培养液(浓度为 5 μ mol/L),培养

[illegible]

续表 2 两种提取方式对不同种子中 ITC 的种类和含量

Continue table 2 Effects of two extraction methods on the kinds and content of ITC in different seeds

种类	萝卜/(mg/100 g)		芥菜/(mg/100 g)		榨菜/(mg/100 g)		甘蓝/(mg/100 g)		花菜/(mg/100 g)		西兰花/(mg/100 g)	
	HFE	SHE	HFE	SHE	HFE	SHE	HFE	SHE	HFE	SHE	HFE	SHE
PEITC	-	-	14.0±0.9 ^a	14.0±0.2 ^a	13.0±0.3 ^a	13.0±0.2 ^a	15.0±1.0 ^a	15.0±0.7 ^a	14.0±0.2 ^a	14.0±0.1 ^a	14.0±0.3 ^a	14.0±0.3 ^a
iberin	-	-	-	-	-	-	75.0±29.0 ^a	60.0±10.0 ^a	67.0±6.7 ^a	49.0±1.6 ^b	27.0±4.4 ^a	25.0±3.2 ^a
SFE	78.0±42.0 ^a	332.0±111.0 ^b	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SF	-	-	-	-	-	-	15.0±1.2 ^a	15.0±0.3 ^a	14.0±0.1 ^a	13.0±0.0 ^a	130.0±35.0 ^a	134.0±35.0 ^a
alyssin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	13.0±0.1 ^a	13.0±0.4 ^a
iberiverin	-	-	-	-	-	-	14.0±0.5 ^a	14.0±0.2 ^a	19.0±0.8 ^a	-	-	-
nitrile	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ERN	-	-	-	-	-	-	-	-	13.0±0.0 ^a	0.1±0.0 ^a	16.0±1.0 ^a	16.0±1.7 ^a
SFN	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	15.0±0.5 ^a	13.0±0.1 ^a

注:相同种子同行不同字母代表有显著性差异($P<0.05$);-表示未检出;BITC 为 4-丁烯基异硫氰酸酯;BT 为异硫氰酸异戊酯(butane);4-MI 为 4-氧代戊酸戊酯(4-methylpentyl isothiocyanate);3-MI 为 3-乙酸异硫氰酸酯(3-methylhexyl isothiocyanate);iberin nitrile 为 3-甲基亚磺酰丙基异硫氰酸酯(cyano-3-methylsulfinylpropane);B,4-I-1 为 4-甲基硫代苯基异硫氰酸酯[1-butene, 4-isothiocyanato-1-(methylthio)-];raphasatin 为 4-甲硫基-3-丁烯基异硫氰酸酯;iberiverin nitrile 为 3-(甲硫基)丙基异硫代硫氰酸酯;ERN 为芝麻菜素(nirile);SFN 为萝卜硫素腈(sulforaphane nitrile)。

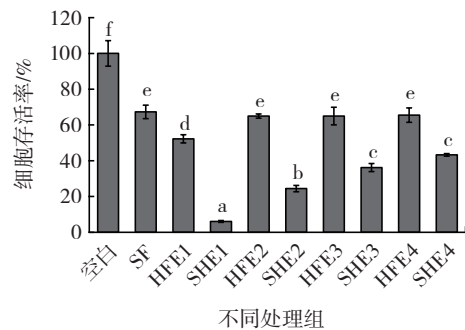
在不同种子中,西兰花种子中 ITC 的种类最丰富,共 13 种。其次为花菜、甘蓝、萝卜、芥菜和榨菜种子。作为一种抗癌活性较高的活性物,SF 的含量和提取方式一直受到人们的关注。SF 在西兰花种子中的含量最高,采用 SHE 时可达(134±35) mg/100 g。花菜和甘蓝种子中也含有 SF,但西兰花种子中 SF 的含量显著高于这些种子。从表 2 可看出,alyssin 和 raphasatin 分别只存在于西兰花和萝卜种子中。ER、iberiverin 和 iberin 在甘蓝、花菜和西兰花种子中均存在,但这 3 种 ITC 在不同蔬菜种子中含量有差异。甘蓝和花菜种子中 iberiverin 和 iberin 的含量均高于西兰花,其中采用 SHE 时,甘蓝和花菜种子中 iberiverin 的含量分别是西兰花种子的 1.47 倍和 1.76 倍。除萝卜种子外,PEITC 存在于其他各种所测蔬菜种子中,但是含量均不高。

与 HFE 相比,SHE 使萝卜种子中 SFE 含量提高了 3.26 倍并使西兰花种子中 ER 含量增加了 1.63 倍。采用 SHE 时,萝卜种子中的 ER、raphasatin、B,4-I-1 和 SFE,以及芥菜、甘蓝、花菜和西兰花种子中的 iberiverin 含量有显著提高($P<0.05$)。但 SHE 对 BITC、BT、3-MI、iberin nitrile、PEITC、alyssin 和 ERN 的影响较小。在西兰花种子中,ER 可以在双氧水作用下转化为其结构类似物 SF^[24],SF 也可以被肠道微生物或酶类代谢为 ER^[25-26]。但有机溶剂对黑芥子酶的影响尚未研究,也没有关于 SF 被有机溶剂催化为 ER 的报道。试验表明西兰花中 SF 含量不受 SHE 和 HFE 影响。因此,采用 SHE 可以提高 ER 含量的原因还需进一步探究。除 ITC 外,研究分析了各种腈类物质,如 iberin nitrile、iberiverin nitrile、ERN、SFN 等,但含量均较低。与

ITC 不同,腈类物质没有生物学活性^[27]。腈类物质含量不受 SHE 和 HFE 影响($P>0.05$),这说明 ESP 活性不受有机溶剂影响。

2.3 不同种子提取液对 B16 细胞活性的影响

萝卜、甘蓝、花菜和西兰花种子提取液对 B16 细胞活性的影响如图 2 所示,通过 SHE 和 HFE 获得的种子提取液稀释至其 ITC 浓度等于 SF 标准品浓度。由于芥菜和榨菜种子提取液中 ITC 含量较低,未进行分析比较。



HFE1、SHE1 为萝卜种子;HFE2、SHE2 为甘蓝种子提取液;HFE3、SHE3 为花菜种子提取液;HFE4、SHE4 为西兰花种子提取液;小写字母不同表示有显著性差异($P<0.05$)。

图 2 不同提取方式和种子提取液对 B16 细胞存活率的影响

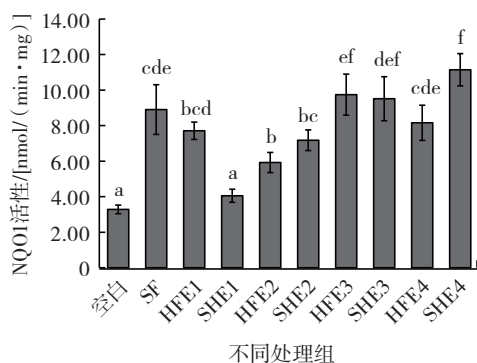
Fig.2 Effects of different extraction methods and seed extracts on the survival rate of B16 cells

由图 2 可以看出,SHE 组种子提取液细胞抑制率均显著高于 HFE 组($P<0.05$),特别是萝卜种子,这与表 1 中 SHE 组 ITC 含量较高的结果一致。作为阳性对照,30 $\mu\text{mol/L}$ 的 SF 标准品可以使 B16 细胞的存活率降低至 67%,说明 SF 对 B16 细胞有很强的抑制作用,

与文献[28]研究结果一致。采用 HFE 获得的萝卜种子提取液对 B16 细胞的抑制作用不同于阳性对照 ($P < 0.05$), 而其他种子提取液对 B16 细胞的影响与阳性对照相似 ($P > 0.05$)。

2.4 不同种子提取液对 B16 细胞 NQO1 活性影响

NQO1 是一种黄素蛋白酶, 它以 NADP(H) 为受体, 催化醌类及其衍生物失去两个电子, 从而保护细胞免受醌类物质代谢过程中产生的活性氧及亲电物质的损伤^[29]。因此, 检测 NQO1 活性, 是评价提取液抗氧化活性的重要手段。不同提取方式和种子提取液对 B16 细胞 NQO1 活性的影响见图 3。



HFE1、SHE1 为萝卜种子; HFE2、SHE2 为甘蓝种子提取液; HFE3、SHE3 为花菜种子提取液; HFE4、SHE4 为西兰花种子提取液; 小写字母不同表示有显著性差异 ($P < 0.05$)。

图 3 不同提取方式和种子提取液对 B16 细胞 NQO1 活性的影响

Fig.3 Effects of different extraction methods and seed extracts on the NQO1 activity of B16 cells

由图 3 可知, 各种种子提取液对 B16 细胞的 NQO1 活性有不同的影响。HFE 组的西兰花种子提取液对 NQO1 诱导活性与纯 SF 无显著差异 ($P > 0.05$), 而 SHE 组则显著高于 SF ($P < 0.05$), 这是由于 SHE 组产生了更多的 ER, 从而提高了总 ITC 的含量。两组花菜种子提取液对 NQO1 的诱导活性均高于纯 SF, 而甘蓝种子提取液诱导活性则低于纯 SF。SHE 组甘蓝种子提取液对 NQO1 活性诱导作用高于 HFE 组提取液, 但是无显著差异 ($P > 0.05$)。HFE 组萝卜种子提取液诱导作用低于纯 SF, 但是无显著差异 ($P > 0.05$), 但是 SHE 组萝卜种子提取液的诱导作用则显著低于 HFE 组 ($P < 0.05$), 这有可能是因为 SHE 组中 ITC 的含量过高导致细胞大量死亡, 从而导致酶活性反而下降。

3 结论

不同提取方式对十字花科蔬菜中 ITC 种类和含量有不同的影响。SHE 提取的 ITC 含量要高于 HFE, 特别是萝卜和西兰花种子, 分别提高了 2.98 倍和 0.40 倍。

与 HFE 相比, SHE 使萝卜种子中 SFE 含量提高了 3.26 倍并使西兰花种子中 ER 含量增加了 1.63 倍。对于萝卜、甘蓝、花菜和西兰花种子, SHE 提取液对 B16 细胞的抑制率高于 HFE 提取液。SHE 组西兰花种子提取液的 NQO1 诱导活性高于 HFE 组, 但萝卜种子的诱导活性却相反。

本研究为从蔬菜中获得高含量和高活性的 ITC 奠定基础, 也为蔬菜中天然活性成分的分析提供依据。

参考文献:

- [1] 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, 2015, 42(2): 1-12.
LIANG Hao, LI Ruimin, YUAN Qipeng. Recent progress in the study of natural active isothiocyanates[J]. Journal of Beijing University of Chemical Technology, 2015, 42(2): 1-12.
- [2] FAVELA-GONZÁLEZ K M, HERNÁNDEZ-ALMANZA A Y, DE LA FUENTE-SALCIDO N M. The value of bioactive compounds of cruciferous vegetables (*Brassica*) as antimicrobials and antioxidants: A review[J]. Journal of Food Biochemistry, 2020, 44(10): e13414.
- [3] 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.
TIAN Yan, DENG Fangming, QING Zhixing, et al. Advances in understanding the structure and function of glucosinolates in Brassicaceae[J]. Food Science, 2020, 41(1): 292-303.
- [4] WU Y F, LV chengzhi, ZOU L G, et al. Approaches for enhancing the stability and formation of sulforaphane[J]. Food Chemistry, 2021, 345: 128771.
- [5] 林海鸣, 郑晓鹤, 周军, 等. 硫代葡萄糖苷及异硫氰酸酯的抗癌和抗氧化作用进展[J]. 中国现代应用药学, 2015, 32(4): 513-520.
LIN Haiming, ZHENG Xiaohu, ZHOU Jun, et al. Anticancer and antioxidant effects of glucosinolates and isothiocyanates progress[J]. Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy, 2015, 32(4): 513-520.
- [6] ABBAOUI B, LUCAS C R, RIEDL K M, et al. Cruciferous vegetables, isothiocyanates, and bladder cancer prevention[J]. Molecular Nutrition and Food Research, 2018, 62(18): e1800079.
- [7] LIANG H, YUAN Q P. Natural sulforaphane as a functional chemopreventive agent: Including a review of isolation, purification and analysis methods[J]. Critical Reviews in Biotechnology, 2012, 32(3): 218-234.
- [8] 孔凡华, 杨春雪, 方从容, 等. 高效液相色谱法测定十字花科蔬菜中萝卜硫素的含量[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(8): 218-223.
KONG Fanhua, YANG Chunxue, FANG Congrong, et al. Determination of sulforaphane in cruciferous vegetables by HPLC[J]. Food and Fermentation Industries, 2021, 47(8): 218-223.
- [9] 李楠楠, 韩立娟, 张维农, 等. 萝卜籽油中莱菔素的检测及加工工艺对莱菔素含量的影响[J]. 食品科学, 2020, 41(20): 198-204.
LI Nannan, HAN Lijuan, ZHANG Weinong, et al. Detection of sulforaphane content in radish seed oil and influence of processing conditions on sulforaphane content[J]. Food Science, 2020, 41(20):

- 198–204.
- [10] HAN S C, WANG Z, LIU J N, et al. Identifying the p65-dependent effect of sulforaphane on esophageal squamous cell carcinoma progression via bioinformatics analysis[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 22(1): 60.
- [11] MORRONI F, SITA G, DJEMIL A, et al. Comparison of adaptive neuroprotective mechanisms of sulforaphane and its interconversion product erucin in *in vitro* and *in vivo* models of Parkinson's disease[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2018, 66(4): 856–865.
- [12] GWON M H, IM Y S, SEO A R, et al. Phenethyl isothiocyanate protects against high fat/cholesterol diet-induced obesity and atherosclerosis in C57BL/6 mice[J]. *Nutrients*, 2020, 12(12): 3657.
- [13] 杨杜, 弓小星, 王雅杰, 等. 响应面法优化西兰花种子中异硫氰酸酯的酶解制备工艺[J]. *食品工业科技*, 2021, 42(10): 146–152.
- YANG Du, GONG Xiaoxing, WANG Yajie, et al. Optimization of enzymatic hydrolysis conditions for preparation isothiocyanate from broccoli seeds by response surface methodology[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2021, 42(10): 146–152.
- [14] 丁轲, 刘佳, 陈湘宁, 等. 响应面优化辣根中总异硫氰酸酯及异硫氰酸烯丙酯水解制备工艺[J]. *中国食品学报*, 2015, 15(10): 124–133.
- DING Ke, LIU Jia, CHEN Xiangning, et al. Optimization of the hydrolysis preparation process for total isothiocyanates and allyl isothiocyanates from horseradish using response surface[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2015, 15(10): 124–133.
- [15] 丁艳, 李丽倩, 曹蓉, 等. 油菜籽饼粕中硫苷的酶解条件优化及降解产物分析[J]. *中国农业科学*, 2014, 47(2): 383–393.
- DING Yan, LI Liqian, CAO Rong, et al. Effect of enzymolysis conditions on glucosinolates in rapeseed meal and identification of their degradation products[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2014, 47(2): 383–393.
- [16] 王芳, 李学文, 廖亮, 等. 响应面法优化油菜籽粕中硫苷酶解工艺及其降解产物抑菌作用的初步研究[J]. *食品工业科技*, 2017, 38(5): 264–268, 273.
- WANG Fang, LI Xuewen, LIAO Liang, et al. Optimization of enzymatic hydrolysis condition of glucosinolates from rapeseed meal by response surface methodology and the preliminary research of its bacteriostasis[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2017, 38(5): 264–268, 273.
- [17] 张静, 马永强, 冯进, 等. 响应面法优化纤维素酶辅助提取西蓝花萝卜硫素工艺研究[J]. *食品科技*, 2020, 45(12): 188–195.
- ZHANG Jing, MA Yongqiang, FENG Jin, et al. Optimization of the cellulose-assisted extraction technique of sulforaphane from broccoli by response surface method[J]. *Food Science and Technology*, 2020, 45(12): 188–195.
- [18] 程立, 李思彤, 袁其朋. 黑芥子酶固定化在制备莱菔素中的应用[J]. *中国科学:化学*, 2018, 48(6): 676–682.
- CHENG Li, LI Sitong, YUAN Qipeng. The application of myrosinase immobilized in the production of sulforaphane[J]. *Scientia Sinica (Chimica)*, 2018, 48(6): 676–682.
- [19] 吕城枝. 萝卜硫素提取及其对 B16 细胞氧化损伤的保护作用研究[D]. 杭州: 浙江科技学院, 2021: 1–15.
- LV Chengzhi. Study on extraction of sulforaphane and its protective effect on oxidative damage in B16 cells[D]. Hangzhou: Zhejiang University of Science and Technology, 2021: 1–15.
- [20] WU Y F, SHEN Y K, WU X P, et al. Hydrolysis before stir-frying increases the isothiocyanate content of broccoli[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2018, 66(6): 1509–1515.
- [21] LIU X J, WANG Y L, HOEFLINGER J, et al. Dietary broccoli alters rat cecal microbiota to improve glucoraphanin hydrolysis to bioactive isothiocyanates[J]. *Nutrients*, 2017, 9(3): 262.
- [22] 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, 27(9): 53–56.
- WU Yuanfeng, MAO Jianwei, YUAN Haina, et al. Analysis of isothiocyanates contents in hydrolysis of the seed meal of *Brassica* by gas chromatography-mass spectrometry[J]. *Chinese Journal of Analysis Laboratory*, 2008, 27(9): 53–56.
- [23] CHIANG C C, HUANG T N, LIN Y W, et al. Enhancement of 4-acetylantraquinone B production by supplementation of its precursor during submerged fermentation of *Antrodia cinnamomea*[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2013, 61(38): 9160–9165.
- [24] VO D V, TRUONG V D, TRAN T D, et al. A new and effective approach to the synthesis of sulforaphane[J]. *Letters in Organic Chemistry*, 2016, 13(1): 7–10.
- [25] BRICKER G V, RIEDL K M, RALSTON R A, et al. Isothiocyanate metabolism, distribution, and interconversion in mice following consumption of thermally processed broccoli sprouts or purified sulforaphane[J]. *Molecular Nutrition and Food Research*, 2014, 58(10): 1991–2000.
- [26] SAHA S, HOLLANDS W, TEUCHER B, et al. Isothiocyanate concentrations and interconversion of sulforaphane to erucin in human subjects after consumption of commercial frozen broccoli compared to fresh broccoli[J]. *Molecular Nutrition and Food Research*, 2012, 56(12): 1906–1916.
- [27] MATUSHESKI N V, JEFFERY E H. Comparison of the bioactivity of two glucoraphanin hydrolysis products found in broccoli, sulforaphane and sulforaphane nitrile[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2001, 49(12): 5743–5749.
- [28] ZHANG C J, ZHANG J X, WU Q, et al. Sulforaphane induces apoptosis and inhibits the invasion of esophageal cancer cells through MSK/CREB/Bcl-2 and cadherin pathway *in vivo* and *in vitro*[J]. *Cancer Cell International*, 2019, 19(1): 1–10.
- [29] CUENDET M, OTEHAM C P, MOON R C, et al. Quinone reductase induction as a biomarker for cancer chemoprevention[J]. *Journal of Natural Products*, 2006, 69(3): 460–463.

加工编辑: 张立娟

收稿日期: 2021-03-24