

國立臺灣大學生物資源暨農學院園藝學系研究所

碩士論文

Graduate Institute of Horticulture

College of Bioresources and Agriculture

National Taiwan University

Master Thesis

利用頂空固相微萃取結合GC-MS

分析芥藍異硫氰酸酯成分

Isothiocyanate components of Chinese kale detected
by headspace SPME with GC-MS



蔡欣穎

Hsin-Ying Tsai

指導教授：曹幸之 博士、陳開憲 博士

Advisor: Shing-Jy Tsao, Ph.D. and Kaih-Sien Chen, Ph.D.

中華民國100年1月

January, 2011

誌謝

承蒙指導教授 曹幸之 博士在學業、研究及做人處事上的諄諄教誨，在試驗與課業上之指導與鼓勵。文稿初成時，承蒙 曹幸之 博士、陳開憲 博士及 宋妤 博士的細心審閱及斧正，並給予寶貴建議，使論文得以更加完善，謹致謝忱。學生資質駑鈍，研究生生涯雖然幾經波折，於老師、家人及朋友的支持鼓勵下，在蔬菜研究室這個環境中學習、研究及成長，使我獲益良多。試驗期間感謝繼中學長與香霖學姐細心管理 GC/MS，儀器操作異常時不辭辛勞幫忙排除及解決，於儀器使用上提出諸多的指導教學，並於數據分析上給予我諸多的建議。感謝食科所徐志杰學長於試驗初期，提供我許多寶貴的觀念與不同見解。感謝葦玲學姐借我 SPME 並提供許多寶貴的意見。感謝宜潔陪我晚上做實驗，一起討論試驗內容。感謝書妍學姐以及在共儀中心認識的品慧學姐、農化所蘇俊翰、食科所戴慧玲等人所提供的協助與討論，都使我受益良多。感謝菜農 高先生不求回報的提供台北縣三重市二重疏洪道附近的一塊農地讓我做試驗，謹致衷心感謝。感謝蔬菜室的同學瑜筑、奕成、亦中、佩潔，及學弟妹們佩真、婉君、唯昭、品如、雅純、亦薨、羽軒等人，不論是在課業、研究或生活上，都受到大家許多的照顧，我們在蔬菜室一起渡過一段開心的時光。感謝處理室的師長及同學子瑩、德駿、小波，在我碩一時給予的照顧與協助。還有許多朋友，雷夢、0A、小馬、婉綺、恆睿、JO、Irene、宗育和書宏等人，謝謝你們給予的幫助並陪我走過研究所生涯種種挫折和磨練。最後，感謝我的父母親，在我做試驗期間擔心我騎車危險，常常親自載我到試驗田間採樣，對我的付出和關心溢於言表，他們的愛使我能勇於面對挫折。父母親任勞任怨的養育之恩，一輩子也報答不完。

謹將此論文獻給我的父母親與去年因癌症過世的堂妹詠鈴。

蔡欣穎 2011.01

於台大園藝系蔬菜研究室

中文摘要

芥藍 (Chinese kale, *Brassica oleracea* L. var. *alboglabra*) 為十字花科 (Brassicaceae) 芸薹屬 (*Brassica*) 植物，是亞洲地區華人常食用之蔬菜，在中國廣東、廣西和福建等省栽培頗盛。台灣主要栽培品種係自大陸或東南亞傳入，各地均有栽培。芸薹屬植物普遍含有硫糖苷 (Glucosinolates, GLSs)，其降解產物具有抗癌特性。本試驗利用固相微萃取法結合 GC-MS 測量台灣地區芥藍異硫氰酸酯種類含量，發現供試的八品種芥藍與市售芥藍在各發育期間或不同採收時節，所得到的異硫氰酸酯成分主要有 Allyl ITC、3-Butenyl ITC、4-Methylpentyl ITC、n-Pentyl ITC 與 2-Phenylethyl ITC 等五種，各品種葉片所含的異硫氰酸酯皆以 3-Butenyl ITC 有最高的相對含量。Allyl ITC 為硫糖苷 sinigrin 之降解產物，在芥藍中 Allyl ITC 相對於其他種異硫氰酸酯其含量偏低。芥藍在不同生育階段，其異硫氰酸酯種類含量皆有所不同，試驗中‘翠寶’在 30 天偵測不到異硫氰酸酯，到 45 天植株開始抽苔時，葉片與花苔皆測出 Allyl ITC、3-Butenyl ITC、4-Methylpentyl ITC 等 3 種異硫氰酸酯。芥藍不同器官中異硫氰酸酯種類含量也不同，‘翠津’與‘翠寶’花苔內異硫氰酸酯相對含量比葉片高，‘翠津’根部的異硫氰酸酯種類比葉片與莖部多。被昆蟲啃食過的葉片，其異硫氰酸酯種類與相對含量明顯低於健康之葉片。芥藍不同發育階段植株內硫糖苷種類含量不斷變化，在抽花苔時期葉片內的硫糖苷含量降低，花苔內含有較高相對含量的異硫氰酸酯，其可能是趨避昆蟲攝食之主因。

關鍵詞：芥藍、頂空固相微萃取、GC/MS、硫糖苷與異硫氰酸酯

Abstract

Chinese Kale (*Brassica oleracea* L. var. *Alboglabra*) for the Cruciferae (Brassicaceae) Brassica plant in Asia Chinese vegetables commonly consumed in China, Guangdong, Guangxi and Fujian provinces cultivated quite . Department of Taiwan's main cultivars introduced from China or Southeast Asia, cultivation all over. Carex species generally contain glucosinolates, its degradation products with anti-cancer properties. In this experiment, combined with solid phase micro extraction GC-MS measurement of isothiocyanates in Taiwan's Chinese kale types of content, that the eight varieties Chinese kale and commercial kale development at all during the harvest season or different, and the resulting. The main ingredients isothiocyanate Allyl ITC ,3-Butenyl ITC ,4-Methylpentyl ITC, n-Pentyl ITC and 2-Phenylethyl ITC and other five, all varieties contain isothiocyanates leaves begin with 3 - Butenyl ITC has the highest relative content. Allyl ITC as the degradation products of sinigrin in Chinese kale, Allyl ITC compared to other types of isothiocyanates and its content is low. Chinese kale at different growth stages, the isothiocyanates that are different types of content, tests 'Chui Po' not detected at 30 days, isothiocyanates, and 45 days when the plants start bolting, leaves and Moss flowers were measured Allyl ITC ,3-Butenyl ITC ,4-Methylpentyl ITC and other isothiocyanates 3. Kale isothiocyanates in different organs of different types of content, 'Chui-chun,' and 'Chui Po' flower moss in the relative content of isothiocyanates higher than the leaves, 'Chui-chun,' root type isothiocyanate more than the leaves and stems. Insect chewing off leaves, isothiocyanates and relative species were significantly lower than healthy leaves.

Chinese kale at different developmental stages within the sulfur content of glycoside types are constantly changing, Moss spent time in the pumping sulfur glycoside content of leaves decreased, flowers moss contains a relatively high content of isothiocyanates, which may be the main cause feeding insects aversion.

Key words: Chinese kale, headspace SPME, GC / MS, glucosinolate and isothiocyanate.



目錄

口試委員會審定書	i
誌謝	ii
中文摘要	iii
Abstract	iv
第一章 前言	1
第二章 前人研究	3
一、十字花科作物之含硫化合物	4
二、芥藍之含硫化合物.....	8
三、硫醣苷對抗昆蟲與病原菌侵襲	9
四、異硫氰酸酯預防癌症.....	10
五、固相微萃取法	12
第三章 材料與方法	17
一、試驗材料	17
(一) 材料來源	17
(二) 材料園藝性狀	18
二、分析設備與試藥	18
三、試驗方法	19
I. 比較兩種固相微萃取纖維在 5%、35%、70%乙醇溶液與去離子水不同媒介中吸附能力	19
II. 不同季節之市售芥藍.....	20
III. 芥藍不同品種、不同發育階段之比較	20

IV. 芥藍不同部位之比較	21
V. 氣相層析質譜儀資料判讀與數據分析	21
第四章 結果	23
(一) 園藝性狀調查	23
(二) GC-MS 分析	24
I. 比較兩種固相微萃取纖維在 5%、35%、70% 乙醇溶液與去離子水不同媒介 中吸附能力	24
II. 調查市場不同日期採收之市售芥藍	25
III. 八品種不同發育階段比較	25
IV. 各器官比較	26
第五章 討論	27
參考文獻	31

圖目錄

圖 1. 使用 5% 乙醇溶液與 75 μm DVB/ PDMS SPME 吸附芥藍之總離子質譜層析圖.....	40
圖 2. 使用 5% 乙醇溶液與 50/30 μm DVB/CAR/ PDMS SPME 吸附芥藍之總離子質譜層析圖.....	40
圖 3. 使用 35% 乙醇溶液與 75 μm DVB/ PDMS SPME 吸附芥藍之總離子質譜層析圖.....	41
圖 4. 使用 70% 乙醇溶液與 75 μm DVB/ PDMS SPME 吸附芥藍之總離子質譜層析圖.....	41
圖 5. 使用純水與 75 μm DVB/ PDMS SPME 吸附芥藍之總離子質譜層析圖.	42
圖 6. 2010 年 7 月 12 日市售芥藍葉片之總離子質譜層析圖.....	43
圖 7. 2010 年 7 月 28 日市售芥藍葉片之總離子質譜層析圖.....	43
圖 8. 2010 年 9 月 7 日市售芥藍葉片之總離子質譜層析圖	44
圖 9. 2010 年 10 月 13 日市售芥藍葉片之總離子質譜層析圖.....	44
圖 10. 2010 年 11 月 12 日市售芥藍葉片之總離子質譜層析圖.....	45
圖 11. ‘白格林’ 30 天葉片之總離子質譜層析圖.....	46
圖 12. ‘白格林’ 45 天葉片之總離子質譜層析圖.....	46
圖 13. ‘白格林’ 60 天葉片之總離子質譜層析圖.....	47
圖 14. ‘翠津’ 30 天葉片之總離子質譜層析圖.....	48
圖 15. ‘翠津’ 45 天葉片之總離子質譜層析圖.....	48
圖 16. ‘翠津’ 60 天葉片之總離子質譜層析圖.....	49
圖 17. ‘黑芥藍’ 30 天葉片之總離子質譜層析圖.....	50
圖 18. ‘黑芥藍’ 45 天葉片之總離子質譜層析圖.....	50
圖 19. ‘黑芥藍’ 60 天葉片之總離子質譜層析圖.....	51
圖 20. ‘翠寶’ 30 天葉片之總離子質譜層析圖.....	52

圖 21. ‘翠寶’ 45 天葉片之總離子質譜層析圖.....	52
圖 22. ‘翠寶’ 60 天葉片之總離子質譜層析圖.....	53
圖 23. ‘平面長黑格藍’ 30 天葉片之總離子質譜層析圖.....	54
圖 24. ‘平面長黑格藍’ 45 天葉片之總離子質譜層析圖.....	54
圖 25. ‘平面長黑格藍’ 60 天葉片之總離子質譜層析圖.....	55
圖 26. ‘格林’ 30 天葉片之總離子質譜層析圖.....	56
圖 27. ‘格林’ 45 天葉片之總離子質譜層析圖.....	56
圖 28. ‘格林’ 60 天葉片之總離子質譜層析圖.....	57
圖 29. ‘白花尖葉大心芥藍’ 30 天葉片之總離子質譜層析圖.....	58
圖 30. ‘白花尖葉大心芥藍’ 45 天葉片之總離子質譜層析圖.....	58
圖 31. ‘白花尖葉大心芥藍’ 60 天葉片之總離子質譜層析圖.....	59
圖 32. ‘蕙津’ 30 天葉片之總離子質譜層析圖.....	60
圖 33. ‘蕙津’ 45 天葉片之總離子質譜層析圖.....	60
圖 34. ‘蕙津’ 60 天葉片之總離子質譜層析圖.....	61
圖 35. ‘翠津’ 葉片之總離子質譜層析圖.....	62
圖 36. ‘翠津’ 莖部之總離子質譜層析圖.....	62
圖 37. ‘翠津’ 花苔之總離子質譜層析圖.....	63
圖 38. 被昆蟲啃食過之‘翠津’葉片總離子質譜層析圖.....	63
圖 39. ‘白花尖葉大心芥藍’ 葉片之總離子質譜層析圖.....	64
圖 40. ‘白花尖葉大心芥藍’ 莖部之總離子質譜層析圖.....	64
圖 41. ‘白花尖葉大心芥藍’ 根部之總離子質譜層析圖.....	65
圖 42. ‘蕙津’ 葉片之總離子質譜層析圖.....	65
圖 43. ‘蕙津’ 莖部之總離子質譜層析圖.....	66
圖 44. ‘蕙津’ 根部之總離子質譜層析圖.....	66

表目錄

表 1、8 種芥藍播種 60 天品種特性調查.....	39
表 2、不同日期市售芥藍葉片所測得異硫氰酸酯種類簡表.....	45
表 3、八種芥藍不同發育階段所測得異硫氰酸酯種類.....	61
表 4、芥藍不同器官所測得異硫氰酸酯種類.....	67
表 5、內標準品及其對應定量之指標化合物.....	67
表 6、所有參試樣品之指標化合物相對校正量.....	68



附錄

附錄 1、硫醣苷的基本化學構造	71
附錄 2、硫醣苷的水解過程	71
附錄 3、固相微萃取操作流程圖	72
附錄 4、固相微萃取萃取方式	72
附錄 5、市售常見固相微萃取吸附材質之化學結構式	73
附錄 6、固相微萃取纖維塗覆種類及其適用性	74
附錄 7、含氘內標準品之結構式	75
附錄 8、標準品質譜資料	76
附錄 9、指標化合物之特性離子	79



第一章 前言

芥藍 (Chinese kale, *Brassica oleracea* L. var. *alboglabra*) 為十字花科 (Brassicaceae) 芸薹屬 (*Brassica*) 植物，是亞洲地區華人常食用之蔬菜，在中國廣東、廣西和福建等省栽培頗盛。台灣主要栽培品種係自大陸或東南亞傳入。主要栽培品種有黃金芥藍、圓葉白花芥藍、尖葉白花芥藍等。由於不斷的馴化及改良，目前葉用芥藍一年四季皆可栽培，冬季要求晚抽苔品種。苔用芥藍生產主要集中於北部秋冬季，其花、嫩莖、葉皆可食用。市面上有出售幼嫩株的，也有成株採莖葉或採主側枝新芽的，以幼嫩者為上品(台灣地區現有作物栽培品種名錄十字花科篇, 1994)。芥藍是營養豐富的蔬菜，還原糖和可溶性糖含量與官能品評的甜味呈顯著正相關，但與鮮味、維生素C、蛋白質和類胡蘿蔔素含量呈顯著負相關(張等人，2009)。

硫糖苷 (Glucosinolates, GLSs) 是普遍存在於十字花科芸薹屬植物的天然二級代謝物，這些化合物不僅是芸薹屬植物風味的主要來源，在植物防禦機制中占有重要作用。近期的研究顯示芸薹屬植物之硫糖苷具有抗癌特性，當芸薹屬植物經切、咀嚼等機械力破壞細胞之後，會釋放出硫糖苷、與細胞內其他部位之黑芥子酶酵素 (myrosinase) 作用，產生具有生物活性的不同降解產物，包括異硫氰酸酯、硫代氰酸酯和羥基等 (Fahey et al., 1997; Verhoeven et al., 1997; Das et al., 2000; Shapiro et al., 2001; Holst and Williamson, 2004)。世界癌症研究基金會 (The World Cancer Research Fund) 也指出多攝取十字花科蔬菜對人體健康有益，可能可以預防人類結腸癌、直腸癌、甲狀腺癌的發生 (Mithan et al., 2000)。對於青花菜、甘藍等常食用之芸薹屬蔬菜，已有許多有關其硫糖苷及異硫氰酸酯含量與種類之研究。近幾年才開始有針對芥藍之相關研究，並且都以高效層析法 (HPLC) 分析 (何等人, 2002; 陳等人, 2006; 臘等人, 2008; 司等人, 2009)。芥

藍含有脂肪族硫醣苷及吡啶族硫醣苷，而無芳香族硫醣苷，不同的研究顯示芥藍有 7~10 種硫醣苷，並且品種間有含量上與種類上的差異。本研究以較為簡單便利的 GC/MS 配合頂空固相微萃取層析方法，調查 8 個芥藍品種在不同發育階段或不同器官中的異硫氰酸酯種類與變化，期能對芥藍的硫醣苷種類與變化有更多了解。



第二章 前人研究

依中國古籍記載，芥藍起源于中國大陸南方。清朝以後在華南、以及湖南、福建、四川和台灣等南方地區廣泛栽培。並且引種到日本、東南亞，以及歐洲、美洲和澳洲等地。其英名Chinese kale、含義為‘中國的羽衣甘藍’(蔣，1985；張，2009)。甘藍類(*Brassica oleracea* L.)蔬菜如甘藍、羽衣甘藍、抱子甘藍、球莖甘藍、花椰菜和青花菜等均起源于地中海沿岸的野生甘藍。其中芥藍的起源與演變依中國古籍記載，則可能是散葉型甘藍由其原產地、早於南北朝時期(公元5、6世紀)、就經由中亞地區傳入中國。而在亞熱帶氣候下的廣東地區馴化、長期選育，最終形成以嫩葉和花薹供食的芥藍。芥藍起源時間在唐代初期(公元7世紀)前(張，2009)。

楊和楊 (2002) 在華南農業大學以‘中花芥藍’三片本葉期的幼苗為試驗材料，探討以四種溫度處理 12 日後定植田間，對芥藍的花芽分化、產量和品質形成的影響。證實低溫促進芥藍花芽分化，降低花芽分化時的節(葉)位，提早菜薹採收期。以平均日溫 18℃(午時最高溫為 22℃)/夜溫 12℃處理的芥藍、於播種後 47 日最早開始花芽分化，在第 10.9 葉位節花芽分化；平均日溫 36℃(午時最高溫為 40℃)/夜溫 30℃處理的最晚，播種後 56 日開始花芽分化，分化葉位節為第 12.8 節。低溫處理的菜薹採收期為播種後 62 日，處理溫度越高、採收期越晚；平均日溫 36℃/夜溫 30℃處理的菜薹採收期延遲至播種後 89 日。單株產量和菜薹蛋白質、維生素 C 含量隨著溫度升高而降低，並且處理之間差異顯著。高溫條件下有些品種菜薹表面呈現紫色，葉綠素、花青素及類黃酮在表皮細胞的比例決定菜薹表皮顏色，劉等人(2003)並推論可能是有機酸含量差異導致 pH 的變化。張等人 (2009) 在西北農林科技大學分析包括亞洲蔬菜研究發展中心提供的 12 種芥藍種源及一個大陸

流通品種‘四季芥藍王’之菜薹營養成分，得到蛋白質含量的變化範圍為 11.04 ~ 19.99 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ (FW); 類胡蘿蔔素含量的變化範圍較窄，為 0.0112 ~ 0.0166 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ (FW); 維生素 C 含量的變化範圍為 0.80 ~ 1.41 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ (FW); 還原糖含量變異系數較高，含量範圍介於 2.85 ~ 8.17 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ (DW)。可溶性糖含量的變化範圍為 12.38 ~ 23.80 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ (DW); 粗纖維含量範圍為 6.10 ~ 9.78 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ (DW)。

一、 十字花科作物之含硫化合物

A. 硫醣苷(Glucosinolates, GSLs)

植物體內硫元素主要以三類硫化合物貯存：硫酸鹽類、構成蛋白質的胱胺酸(cysteine)與蛋胺酸(methionine)、二級代謝物等。十字花科作物中含硫的二級代謝物為硫醣苷又名為硫代葡萄糖苷、葡萄糖異硫氰酸鹽、硫代配醣體和芥子油苷(mustard oil glycosides)(Wink, 1999)。十字花科中三千多種植物均含有硫醣苷 (Fahey et al., 2001) 目前發現的硫醣苷種類約有一百二十多種，主要貯存在細胞液泡中。這些硫醣苷的主要化學結構相同(附錄 1.)，均在 β -D-葡萄糖上以一個硫原子連接磺酸化醛肟配基(sulfonated aldoxime aglycone)，連接在支鏈結構(Fahey et al., 2001)。依側鏈結構不同 GSL 可分為脂肪類(aliphatic group)、芳香類(aromatic group)和吲哚類(indolyl group) GSL 三種(Fenwick et al., 1983)，芳香族為含有苯環的有機化合物，苯環由不飽和鍵、單電子、及空軌域組成的共扼環，間隔的單、雙鍵組成的六碳環狀結構，非常穩定；脂肪族則屬於非芳香族的有機化合物，分子排列呈直鏈狀；吲哚族為芳香族雜環的有機化合物，本身含有兩個環狀構造，具有一個苯環及一個含氮的五碳環結構。

常見的十字花科蔬菜如青花菜、花椰菜、甘藍、小白菜等本身硫醣

甘含量即有很大的差別(顏和危, 1992)。不同栽培種間總硫醣苷含量有顯著差異, Rosa 等人(2001)分析春、夏季歐洲南部栽種之 11 個青花菜栽培品種硫醣苷種類與含量, 發現相同的栽培環境以‘Shogun’總硫醣苷含量較高, 可以達到 $59.3 \text{ mmol} \cdot \text{kg}^{-1} \text{DW}$; ‘Durango’品種含量較低, 其總硫醣苷含量為 $15.5 \text{ mmol} \cdot \text{kg}^{-1} \text{DW}$ 。另外, Padilla 等人(2007)分析不同栽培種西洋油菜, 結果顯示總硫醣苷含量範圍在 $11.8\text{--}74.0 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \text{DW}$; 且以栽培種 MBG-BRS0132、MBG-BRS0082、MBG-BRS0173 及 MBG-BRS0184 含有較高硫醣苷含量, 可提高農業生產價值, 作為未來抗癌育種材料。Lewis 及 Fenwick 分析 19 種結球白菜及 3 種不結球白菜, 發現兩者的硫醣苷種類, 主要為 2-hydroxy-3-butenyl-GSL、3-butenyl-GSL、pent-4-enyl-GSL 及 5-methylsulphinyl-pentyl-GSL。同時, 他們還分析了 24 種青花菜與孢子甘藍中的硫醣苷種類, 發現 4-methylsulphinylbutyl-GSL、3-indolylmethyl-GSL 及 1-methoxy-3-indolylmethyl-GSL 為其主要硫醣苷, 而孢子甘藍的硫醣苷則為 2-propenyl-GSL、3-butenyl-GSL、2-hydroxy-3-butenyl-GSL 及 3-indolylmethyl-GSL。Sones 等人分析 27 種花椰菜, 指出 2-propenyl-GSL、3-methylsulphinylpropyl-GSL、3-indolylmethyl-GSL 及 1-methoxy-3-indolylmethyl-GSL 為其主要硫醣苷。

同一種十字花科植物在不同成熟階段之植株, 所含的硫醣苷種類與含量也不盡相同。例如不同發育階段的阿拉伯芥, 各器官中, 不同部位會有明顯不同的硫醣苷含量(Brown et al., 2003); 休眠及發芽中種子含量最高, 其次是花、長角果、葉, 根部的含量最少, 且在葉片衰老期間硫醣苷含量會激烈減少。在葉片發展期間, 硫醣苷含量也會穩定減少, 作者推測是葉片擴展所產生的稀釋效應導致, 而且較早生成的葉片每天累

積的硫糖苷含量較少。在青花菜也有類似的現象，一般生長環境下的青花菜，於莖頂花芽創始所生成的花序稱為主花序，位於葉腋之花序則稱為次生花序，次生花序一般較主花序花球小，生產量佔總生產量的 30%，在 11 種青花菜栽培種中花序位置以次生花序含量較高，推測是主花序有較大的生物量(biomass)造成稀釋作用，故總硫糖苷含量較少(Rosa et al., 2001)。甘藍各部位的硫糖苷含量顯著不同，葉柄形成層大約是髓腔的兩倍(Van Etten et al., 1980)。分析瑞典蕪菁及剝皮後的蕪菁，發現兩者 indole 及 2-phenylethyl-GSL 的含量特別豐富，且植株上的硫糖苷含量比地下根還多。此外，植物生長過程的變化，也會明顯影響硫糖苷含量(Freeman and Mossadeghi, 1979; Heaney and Fenwick, 1980)。

硫糖苷含量也隨栽培環境因素、季節之溫度變化而有差異。日夜溫 30 / 15 °C 栽培之青花菜幼苗具有最高硫糖苷含量。另外，相對較高或較低的常溫栽培(33.1 或 11.3 °C)既可以誘導高含量的硫糖苷，也可生產硫糖苷含量較一致的種苗(Pereira et al., 2002)。甘藍(*Brassica oleracea* var. *capitata*)幼苗在一天中兩種恆溫下(20 與 30 °C)生長，個別及總硫糖苷含量也有明顯變化(Rosa, 1997)。在成株方面，同一栽培種成株青花菜，生長於氣溫較低季節者，較生長於氣溫較高之青花菜有高總硫糖苷含量(Yen and Wei, 1993)。另外，熱乾或缺水的環境會造成胺基酸及醣類的生成增加，而這兩種物質為硫糖苷合成的前趨物，推測這是熱帶及溫帶國家氣候的不同，導致硫糖苷含量及分布不同之原因(Tripathi and Mishra, 2007)。

B. 異硫氰酸酯(Isothiocyanates, ITCs)

十字花科蔬菜中硫糖苷之水解產物-異硫氰酸酯生成量，依遺傳、環

境及處理過程而不同 (Jeffery et al., 2003)。異硫氰酸酯結構式為 $R-N=C=S$ ，和硫糖苷擁有相同的側鏈類型，依照支鏈結構的不同可分為一百二十多種(附錄 1)，不同品種間異硫氰酸酯的含量與種類也不同 (Verhoeven et al., 1997)。不同的甘藍品種中，sulforaphane 含量並無顯著差別，但青花菜的 sulforaphane 平均含量則是甘藍含量的 5 倍之多 (Ling et al., 2006)。完整的十字花科蔬菜內幾乎沒有異硫氰酸酯存在，而是以硫糖苷形式存在於細胞液胞內。硫糖苷的化學結構對其香氣也有影響，如 methylthioalkyl GSL 會產生具揮發性及刺激味道的異硫氰酸酯 (4-methylthiobutyl ITC)。芥菜及辣根 (horseradish) 的辣味主要是由 sinigrin 硫糖苷水解後產生的 allyl ITC 造成 (Mithen et al., 2000)。當人類攝取蔬菜，包括切割、烹飪等處理，及咀嚼等動作會破壞細胞完整性，使植物體內芥子酶水解硫糖苷生成異硫氰酸酯(附錄 3)；或是當食物進入消化道至小腸，存在於小腸的細菌含有的芥子酶也會水解硫糖苷產生異硫氰酸酯 (Shapiro et al., 2001)。

硫糖苷與水解酵素黑芥子酶 (myrosinase) 最早是從芥菜種子中發現，兩者分別存在植物細胞之不同部位，當細胞遭受破壞，黑芥子酶會水解硫糖苷並降解生成揮發性異硫氰酸酯又稱為芥子油(mustard oils)，其為十字花科作物特殊風味來源(Mithen et al., 2000)。但十字花科蔬菜中，如青花菜及部分甘藍類蔬菜以 nitriles 為硫糖苷主要水解產物；其他部分蔬菜，如白芥菜則以異硫氰酸酯為主要水解產物 (Petroski and tookey, 1982; Lambrix et al., 2001; Mithen et al., 2003)。在常溫下，青花菜中 glucoraphanin 水解產生的異硫氰酸酯 sulforaphane 產量其實很低，主要水解產物為一種非催化性類似物 sulforaphane nitrile，這種現象與一種熱敏感性蛋白 (epithiospecifier protein, ESP) 存在有關。ESP 在

50 °C 即不活化，但黑芥子酶在 50 °C 仍具有活性 (Yen and Wei, 1993)。ESP 的存在可能對黑芥子酶有變構抑制作用 (allosteric inhibition)，即 ESP 可能會與黑芥子酶的調節部位結合，使酶構像改變，進而改變酶的活性 (Petroski et al., 1985)。Rungapamenstry 等人 (2006) 利用微波 2 分鐘及蒸氣 7 分鐘兩種烹飪方法，及不同烹飪時間處理甘藍，其甘藍中主要硫糖苷 sinigrin 之水解產物包含三類 - allyl cyanide、1-cyano-2,3-epithiopropene (有 ESP 存在) 及 allyl isothiocyanate，實驗結果發現以健康取向來看 (生成 allyl isothiocyanate 較多)，相對的短時間烹飪處理可以讓 ESP 失活，且保有芥子酶活性是比較理想的處理。

二、 芥藍之含硫化合物

何等人(2002)發現芥藍含有7種硫糖苷成分，包括3種脂肪族和4種吲哚族，沒有芳香族硫糖苷。但陳(2006)由12種芥藍檢測出6種脂肪族和4種吲哚族硫糖苷。司等人(2006)同樣以HPLC(高效液相層析儀)分析、由43種華南農業大學保存的芥藍擴大檢測，測到5種脂肪族硫糖苷(2-hydroxybut-3-enyl GSL, 4-methylsulfinylbutyl GSL, 2-propenyl GLS, 3-butenyl GSL and 4-pentenyl GSL) 和4種吲哚族硫糖苷(4-hydroxy-indol-3-ylmethyl GSL, indol-3-ylmethyl GSL, 4-methoxy-indol-3-ylmethyl GSL and neoindol-3-ylmethyl GSL)。其中3-butenyl GSL為主要種類，占總量的20-50%，其變化範圍為 $0.5616 \sim 12.3395 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} (\text{DW})$ 。總GSL含量範圍為 $3.3695 \sim 21.3378 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} (\text{DW})$ ，總脂肪族GSL含量範圍為 $1.5397 \sim 17.2645 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} (\text{DW})$ ，總吲哚族GSL含量範圍為 $0.7976 \sim 9.5900 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} (\text{DW})$ 。芥藍以脂肪族GSL為主。脂肪族GSL中，2-hydroxybut-3-enyl GSL的變化範圍為 $0.1747 \sim 5.2591 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} (\text{DW})$ ；4-methylsulfinylbutyl GSL的含量範圍為

0.0872~1.1205 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ (DW) ; 2-propenyl GLS的含量介於0.1209~ 3.0270 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ (DW), 有7種芥藍未檢測出此; 4-pentenyl GSL的含量較低, 為0.0925~0.8720 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ (DW), 有10種芥藍未檢測出此GSL。選擇4-methylsulfinylbutyl GSL含量高、而2-hydroxybut-3-enyl GSL含量低的芥藍品種食用, 對人體健康有益。4-methylsulfinylbutyl GSL的降解產物蘿蔔硫素有抗癌的功效。2-propenyl GLS與2-hydroxybut-3-enyl GSL是芥藍特殊風味物質(司等人, 2006)。吲哚族GSL中, 4-hydroxy-indol-3-ylmethyl GSL的含量為0.0480~0.5277 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ (DW) ; indol-3-ylmethyl GSL含量範圍為0.3237~3.2074 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ (DW) ; 4-methoxy-indol-3-ylmethyl GSL含量範圍為0.0890~0.6488 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ (DW), 有一種芥藍未檢測出此GSL; neoindol-3-ylmethyl GSL含量為0.1426~5.5996 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ (DW)。

三、 硫糖苷對抗昆蟲與病原菌侵襲

植物組織受損時, 硫糖苷水解產物被認為與對抗食草動物攝食或病原菌入侵之防禦機制有關(Halkier and Gershenzon, 2006)。遭受昆蟲嚙食後植物會系統性增加其植株內生硫糖苷含量, 推測此反應與預防昆蟲攻擊之防禦機制有關(Agrawal et al., 2002)。Doughty 等人(1994)利用外施茉莉酸甲酯(methyl jasmonate; MeJA)於油菜(oilseed rape)葉片上, 發現吲哚硫族糖苷含量增加, 但不能累積脂肪族及芳香族之硫糖苷含量, 這種現象與西洋油菜葉受到人工創傷或葉柄受到甘藍莖甲蟲(*Psylliodes chrysocephala*)侵襲一樣, 均只增加吲哚硫糖苷含量。數種異硫氰酸酯對病原菌具有毒性, 特別是危害莖苔屬的病菌-*Leptosphaeria maculans* (引起甘藍黑腳病)及 *Alternaria sp* (引起十字花科蔬菜黑斑病菌)(Mithen et al., 2001)。含有硫糖苷的植物大多不是囊叢枝菌根菌的寄主植物, 但有兩種植物(*Tropaeolum majus* 及 *Carica papaya*)例外; 且大多數非囊叢枝菌

根菌寄主植物的主要硫糖苷均為2-phenylethyl glucosinolate，因此推測此種硫糖苷水解產生的異硫氰酸酯可能是一種抑制囊叢枝菌根菌生長的因子。多種十字花科蔬菜個別接種三種囊叢枝菌根菌（*Glomus mosseae*、*Glomus intraradices*和 *Gigaspora rosea*）所誘導產生的硫糖苷分布並不同，且根據硫糖苷含量變化結果顯示，在接種後（根部產生菌落前）即有誘導訊號的產生（Vierheilig et al., 2000）。也具有類似溴化甲烷土壤熏蒸劑的殺菌作用，例如硫糖苷 sinigrin 經 TGG1 和 TGG2 芥子酵素分解後，釋放之 allyl ITC 揮發性物質對六種土媒植物病原菌之抑制評估，結果發現 *R. solani* AG-4、*S. rolfsii* 和 *P. aphanidermatum* 等菌的生長，明顯受抑制；顯然利用微生物系統表現的芥子酵素，再配合硫糖苷可有效防治土媒植物病原菌(鍾，2002)。

四、異硫氰酸酯預防癌症

當人體細胞接觸到外來的不當刺激（如物理、化學藥劑或輻射）會造成DNA傷害，誘發致癌基因的表現，依據Verhoeven 等人（1997）的綜合論述，致癌（carcinogenesis）的形成過程包括多個步驟，由細胞受到影響開始改變，到漸漸形成的變化，最終利用無性繁殖大量擴增。遺傳的改變是由於DNA和致癌物（或突變物）的交互作用，這些親電子的中間物會鍵結至DNA造成傷害，假如這些傷害沒有修補，則DNA的複製會造成遺傳性病害；當有腫瘤啟動子(tumor promotor)促進前瘤細胞(preneoplastic cells)的存在，瘤細胞就會轉移。在致癌過程的每一階段都有內部轉移的存在，而預防癌症生成的反應就是調節致癌物或突變物的代謝，防止親電子的中間物形成，這種代謝的調節包括前突變物或前致癌物的抑制及誘導解毒代謝。如果癌細胞形成並開始不正常的增殖就會發生癌症，但如果在細胞癌化之前就增加身體解毒或代謝功能即可預防癌症發生，異硫氰酸酯即扮演調節致癌物或突變物代謝的功能（Verhoeven et al., 1997）。

攝取莖葉屬蔬菜可降低罹患肺癌、胃癌、結腸癌與直腸癌的風險，此機制被認為與其中的硫醣苷水解產物有關(Fahey et al., 2001)；異硫氰酸酯，為普遍存在於十字花科蔬菜中的硫醣苷經芥子酶水解後之產物，具有預防癌症發生的功能(Bones and Rossiter, 1996)。特別是芳香族及吲哚族硫醣苷水解後產物可藉著抑制phase 1 酵素及誘導phase 2 酵素等方式預防癌症發生，部分的脂肪族硫醣苷產物也有類似的效果(Verhoeven et al., 1997)。

世界癌症研究基金會指出多吃十字花科蔬菜可能可以預防人類結腸癌、直腸癌、甲狀腺癌的發生(Mithan et al., 2000)。流行病學研究指出多攝食十字花科蔬菜降低癌症發生風險，但預防效果受個人代謝差異的影響(Higdon et al., 2007)。不同的異硫氰酸酯對於誘導動物代謝xenobiotics之酵素的的效果不同，在不同部位作用的效果也不同，需經由動物實驗來證實何種異硫氰酸酯在特定部位作用效果最佳。大鼠體內實驗:在飼料中個別添加AITC (allyl isothiocyanate) 及I3C (indol-3-yl carbinol)，可增加大鼠肝臟和小腸部位phase2酶-GST (glutathione S-transferases) 的活性，增加解毒代謝的功能；添加I3C可以提高肝臟及肺臟中QR (quinone reductase) 酶活性；PEITC (phenethyl isothiocyanate) 只能提高肝臟中QR 酶的活性，對肺臟之QR酶的活性卻無作用；ANITC (α -naphthyl isothiocyanate) 也可以提高肝臟中QR 酶活性(Verhoeven et al., 1997)。

總合目前的研究可知，最具預防癌症發生效果的異硫氰酸酯為青花菜中的sulforaphane (由glucoraphanin 水解衍生而來)、indole-3-carbinol (由glucobrassicin 水解衍生而來)(Jones et al., 2006) 和甘藍中的allyl isothiocyanate (由sinigrin 水解而來)(Rungapamestry et al., 2006)。sulforaphane為一種對壓力穩定及易受熱變動的物質，在50 °C及100 °C下1 小時即會降解 (Jin et al., 1999；Eylen et al., 2007)。

五、 固相微萃取法

固相微萃取法是近年來廣受重視且被廣泛運用於各種有機物樣品之前處理方法，由 Pawliszyn (1990) 所發展出的萃取技術，1993 年起始有正式商業化產品問世，利用一塗覆有吸附靜相的熔融矽纖維來萃取分析物，為一種免溶劑萃取法 (solvent-free extraction)。此法集採樣、萃取、濃縮於同一步驟，有裝置簡單、攜帶容易、使用方便、採樣時間短、靈敏度佳、不需使用有機溶劑及偵測極限佳等優點，近年來已被廣泛發展應用於食品、藥物、有機農藥、環境污染物、刑事鑑定等各領域上的分析。

固相微萃取之手動式裝置主要分為兩部份：(1) 固定器 (holder)：用來固定、支撐熔融矽纖維，控制纖維的長度。(2) 熔融矽纖維 (fused silica fiber) 塗覆有高分子吸附物質，可依分析物不同的特性來選擇塗覆的材料。由於纖維極為脆弱，在纖維外罩有一不銹鋼針管 (注射針頭)，以增加使用上的機械強度，避免在進行穿刺進入樣品瓶時對纖維造成損毀。裝置中的推桿 (plunger) 用來控制纖維的動作，當推桿向下推壓時，纖維即會露出於針頭外。當推桿持續向下時，推桿固定螺絲 (plunger retaining screw) 會接觸到 Z 型溝槽的轉角，此時順時針旋轉推桿即可固定纖維的位置。另外，可調式針頭導引/深度計量器 (adjustable needle guide/depth gauge)，則是用來調整注射針頭的露出長度，亦即纖維在樣品瓶中的相對高度位置。

固相微萃取操作步驟 (SUPELCO, 1998) 如附錄 3，先將裝置前端之注射針頭穿透樣品瓶口的墊片 (septum) 至樣品瓶中，推出塗覆有吸附靜相之纖維至適當位置，進行萃取分析物。經一段時間待分析物於纖維與樣品間達分配平衡後，

縮回纖維於不銹鋼針管內，取出裝置。將注射針頭插入分析層析儀注射口。壓出纖維，利用注射口高溫進行熱脫附，或是利用 HPLC，藉移動相溶劑脫附方式，將分析物帶入分析管柱中進行分離、鑑定。最後，將纖維縮回不銹鋼針管中，並將 SPME 裝置抽離注射口。

固相微萃取的萃取方式可分為三類：有直接浸入式 (Direct SPME)、頂空式 (Headspace SPME) 及薄膜保護式 (Membrane-protected SPME)，如附錄 4。

A. 直接浸入式固相微萃取法：

讓熔融矽纖維浸入樣品中直接進行萃取，對於樣品基質簡單之水樣，可利用此法；若為基質複雜之樣品，纖維浸在樣品中可能會損害其上塗覆的靜相，縮短纖維的使用時間。

B. 頂空式固相微萃取法：

適用於高揮發性的樣品，將纖維置於樣品頂空部份，藉由樣品在液相-氣相以及氣相-纖維間的平衡進行吸附的動作，雖然分析物的吸附量較少，但樣品基質干擾 (matrix effect) 更小。由於不直接接觸樣品，纖維所受到的破壞就越少，可以延長使用時間。

C. 薄膜保護式固相微萃取法：

雖然纖維直接浸入樣品中，但屬於非直接浸入式萃取 (Indirect SPME)，分析物與纖維接觸要先經過薄膜。薄膜的存在主要是保護纖維，避免受到傷害，類似於頂空式固相微萃取法，其適用時機和頂空式相同，但是它可以改善頂空式的缺點，可應用於不適用頂空萃取採樣的低揮發性的分析物。透過選擇適當材質的薄膜，對於某些化合物具有較高程度的選擇性。

固相微萃取基本原理：當萃取纖維上的塗覆層和樣品基質一接觸，基質中的分析物會迅速轉移至塗覆層上，當分析物的濃度達到樣品基質和塗覆層纖維的分配常數時即已完成 SPME 的萃取。實際上，當達到平衡時，在實驗的誤差範圍內萃取量已經不會再改變，也就是萃取量並不會再隨著萃取時間的增加而改變。其平衡條件也有一定的公式（Pawliszyn, 1997）：

$$n = \frac{C_o V_f V_s K_{fs}}{(K_{fs} V_f + V_s)}$$

其中，n：塗覆層的萃取量

K_{fs}：分析物在塗覆層和樣品基質的分配常數

V_f：纖維塗覆層體積

V_s：樣品體積

C_o：分析物在樣品的初始濃度

在 SPME 發展初期，纖維上並沒有塗覆上一層高分子化合物做為吸附物質，單純是以熔融矽纖維吸附分析物，因此早期固相微萃取法的吸附能力及線性範圍都無法達到令人滿意的程度，為了能利用 SPME 萃取各種不同的分析物，因此陸續發展出許多種類的纖維塗覆層，以增加不同待測物質的適用性。最初開發出的市售材質有非極性高分子的纖維塗覆層如聚二甲基矽氧烷(poly-dimethylsiloxane, PDMS) 以及極性較高的聚丙烯酸酯 (poly-acrylate, PA)兩種材質(附錄 5.)，分別適用於水中非極性分子與極性較高之物質的分析，以提升其萃取效率。近年來混合式塗覆材質亦隨著不同分析物的需求而逐漸發展，常見固相微萃取吸附材質之分子結構及目前商業化之 SPME 產品之纖維如分別列於附錄 5.和附錄 6.所示，分析

時可依照分析物性質選擇不同塗覆纖維進行實驗。SPME 纖維依吸附模式也可分為吸附型(adsorbent types)和吸收型(absorbent types)纖維，且各有其極性屬性。三種不同厚度的 PDMS 纖維及 PA 纖維為吸收型，其餘混合材質纖維皆為吸附型，其極性會影響分析物的萃取效率，但並非絕對因素。分析物大小、分子形狀、濃度高低及萃取平衡時間對萃取效果有較明顯的影響。





第三章 材料與方法

一、 試驗材料

(一) 材料來源

1. 台北市萬華區西昌街直興菜市場固定攤位所販售之芥藍 以”市售芥藍’代稱，於 2009 年 10 月至 2010 年 7 月間陸續購買市售芥藍作為分析條件測試用。另購買於 2010 年 7 月 12 日、7 月 28 日、9 月 7 日、10 月 13 日與 11 月 12 日等五批次材料做為季節間變化分析用。
2. 台北縣三重市二重疏洪道附近菜園種植之八品種芥藍，分別是(1.)‘白格林’、(2.)‘翠津’、(3.)‘黑芥’、(4.)‘翠寶’、(5.)‘平面長黑格藍’、(6.)‘格林’、(7.)‘白花尖葉大心芥藍’、(8.)‘蕙津’(以下編碼代稱各品種)。畦長 3.6 公尺、寬 1.8 公尺，整地後拌入有機肥(雞糞 10 公斤、台糖甘蔗渣 10 公斤與黃豆粉 2 公斤)並噴灑以生化菌處理過之廚餘液肥於土壤中，畫分成 8 等分播種插上標牌。平均兩天澆一次水，發芽後每星期噴灑一次以生化菌處理過之廚餘液肥，共 10 次。播種後 20 天開始陸續間拔使植株有適當發育空間，播種後 30、45、60 天分別採樣分析。
於 2010 年 10 月 18 日播種，期間因遇颱風大雨沖刷，發芽率偏低，(1.)、(6.)、(7.)、(8.)四種芥藍發芽率約 70%，(2.)、(3.)、(4.)、(5.)四種芥藍發芽率約 30%，所以在 2010 年 10 月 29 日重新部分整地，重播(2.)、(3.)、(4.)、(5.)四種芥藍，因此八種芥藍分兩梯次採收分析，以播種日開始計算採收天數。

(二) 材料園藝性狀

芥藍依採種方式以開放受粉 (OP) 品種為主，多為農民自行留種，品種名多以外型特徵表示，且多未經正式命名。本試驗之園藝性狀調查方法參考行政院農業委員會芥藍品種特性調查項目，以播種後 60 天達市場消費標準之芥藍植株做性狀調查。並於播種後 75 天採樣，以水煮 3 分鐘後品評八種芥藍不同部位風味之差異，將苦味分 4 級(0 為不苦，1 微苦，2 苦，3 為最苦)，甜味同理分 4 級。

二、分析設備與試藥

氣相層析質譜儀(GC/MS)：HP-Agilent 5890 II plus GC-5972 MSD (Agilent, USA) (可梯度升溫，具電子流量控制裝置)，分析管柱為 DB-5-MS，30 m × 0.25 mm ID，膜厚 1 μm (Agilent, USA)，載體氣體為氦氣。

氣體及流速：高純度氦氣 (99.9995 %)，每分鐘 1 mL。

分流比 (split ratio)：無分流 (splitless)。

離子化方式：電子撞擊法 (70 eV)。

1. 質譜掃描範圍：35 至 350 amu (atomic mass unit)。固相微萃取纖維(SPME fiber)：75 μm Carboxen/ PDMS (Supelco, USA)。
2. 固相微萃取纖維 (SPME fiber)：50/30 μm DVB/ CAR/PDMS (Supelco, USA)。(DVB, Divinylbenzene: 二乙烯基苯；CAR, Carboxen: 碳分子篩；PDMS, Polydimethylsiloxane: 聚二甲基矽氧烷)
3. 反應媒介：5% 酒精水溶液、去離子水。
4. 內標準品：US EPA method 8270 internal standards 4 mg/mL, AccuStandard, USA (含 1,4-dichlorobenzene-d4 100 %, naphthalene-d8 100.0 %, acenaphthene-d10 99.2 %, phenanthrene-d10 95.5 %, chrysene-d12 98.9 %及 perylene-d12 98.6 %)(附錄 7.與附錄 8.)。

5. 25 mL 頂空瓶 (headspace vial)：附矽膠墊片之螺旋蓋。
6. 乾浴槽：包覆瓶身受熱均勻 (Violet BioScience, Taiwan)。
7. 10 μ L 氣密針(gas tight syringe)：Hamilton (USA)。
8. 電子天平：M-220，Denver Instrument，U.S.A.

三、試驗方法

於 2009 年 10 月至 2010 年 7 月間陸續購買市售芥藍，測試 SPME 不同吸附時間、樣品不同加熱溫度與時間、GC-MS 的升溫速率等條件。找出較適宜分析芥藍異硫氰酸酯的條件後，再進行以下分析試驗。頂空式固相微萃取法進樣方式：固相微萃取纖維直接進樣，插入注射口熱脫附 10 秒後啟動氣相層析質譜儀。

I. 比較兩種固相微萃取纖維在 5%、35%、70% 乙醇溶液與去離子水不同媒介中吸附能力

樣品製備：市售芥藍隨機選取三株，各摘一健康無蟲害之葉片，切碎至 0.5 cm² 秤取 2 g 樣品分別置於 4 個 25 mL 頂空瓶，加入 5 ml 5% 乙醇、5 ml 35% 乙醇、5 ml 70% 乙醇或 5 ml 去離子水。以 50 °C 乾浴加熱 20 分鐘後，以固相微萃取纖維吸附 10 分鐘。因不同固相微萃取纖維所能耐受溫度不同，故氣相層析質譜儀操作條件在注入口分別調整成溫度：

a. SPME fiber— 50/30 μ m DVB/ CAR/PDMS

烘箱起始溫度：40 °C 維持 3 分鐘。烘箱升溫過程：每分鐘以 5 °C 升溫到 170 °C 維持 3 分鐘。注入口溫度：270 °C。偵測溫度：270 °C。

b. SPME fiber—75 μ m Carboxen/ PDMS

烘箱起始溫度：40 °C 維持 3 分鐘。烘箱升溫過程：每分鐘以 5 °C 升溫到 170 °C 維持 3 分鐘。注入口溫度：280 °C。偵測溫度：280 °C。

II. 比較不同季節之市售芥藍

在台北市萬華區西昌街直興菜市場相同店家購買之芥藍，依購買時間有 2010 年 7 月 12 日、7 月 28 日、9 月 7 日、10 月 13 日與 11 月 12 日等五批。每批逢機選取三片健康無病蟲害之葉片同時切碎處理，切碎至 0.5 cm^2 ，秤取 2 g 樣品置於 25 mL 頂空瓶，加入 5 ml 5 % 乙醇溶液。樣品以乾浴槽升溫至 $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 加熱 20 分鐘，以固相微萃取纖維 75 μm Carboxen/ PDMS 吸附 10 分鐘進行 GC/MS 脫附分析。

氣相層析質譜儀操作條件：烘箱起始溫度： $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 維持 3 分鐘。烘箱升溫過程：每分鐘以 $8\text{ }^{\circ}\text{C}$ 升溫到 $170\text{ }^{\circ}\text{C}$ ，再以每分鐘 $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 升溫至 $270\text{ }^{\circ}\text{C}$ 維持 3 分鐘。注入口溫度： $280\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。偵測溫度： $280\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

III. 芥藍不同品種、不同發育階段之比較

在三重有機菜園種植之八品種芥藍，分別在其播種後 30 天、45 天、60 天不同生育階段採樣，每個芥藍品種逢機選取三株，各取一片健康無病蟲害之葉片同時切碎處理，當作三重複之平均值。切碎至 0.5 cm^2 秤取 2 g 樣品置於 25 mL 頂空瓶，加入 5 ml 5 % 乙醇溶液與 1 μL 內標準品。樣品以乾浴槽升溫至 $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 加熱 20 分鐘，以固相微萃取纖維 75 μm Carboxen/ PDMS 吸附 10 分鐘進行 GC/MS 脫附分析。氣相層析質譜儀操作條件同(II.) 比較不同季節之市售芥藍。

IV. 芥藍不同部位之比較

選取種植 60 天之(2.)‘翠津’、(7.)‘白花尖葉大心芥藍’、(8.)‘蕙津’芥藍，分成葉片、莖部、花苔以及根部進行分析。另取(2.)、(8.)芥藍被蟲攝食過的葉片分析。樣品製備方法與氣相層析質譜儀操作條件同(III.)芥藍不同品種、不同發育階段之比較。

V. 氣相層析質譜儀資料判讀與數據分析

GC/MS 分析結果所得各品種成分圖譜資料，以 Wiley275 (Wiley, USA) 與 NIST05 (National Institute of Standards and Technology, USA) 資料庫為標準質譜比對依據，進行成分鑑別。所有樣品分析結果中，指標化合物 (characteristic indicator compound) 之校正量 (calibrated abundance) 以下列公式計算之後，以指標化合物之校正量進行數值分析，並用內標準品之積分面積進行相對校正。若於此條件下無法獲得積分值時，則該品種中此含硫揮發性化合物積分面積數值記錄為未檢出 (not detected, ND)。將所得的數值輸入 Microsoft Excel XP 中進行下一步的分析。

公式：

$$\text{Calibrated abundance} = A \times \frac{A_{\text{IS'翠津芥藍'}}}{A_{\text{IS}}} \times \frac{S_{\text{IS'翠津芥藍'}}}{S}$$

Calibrated abundance：指標化合物之校正量。

A：參試樣品中指標化合物之總離子質譜層析圖 (total ion chromatogram) 之波峰積分面積。

A_{IS} ：參試樣品之內標準品之波峰積分面積。

A_{IS} ‘翠津芥藍’：‘翠津芥藍’樣品內標準品之波峰積分面積。

S ：參試樣品於頂空瓶之進樣量。

S_{IS} ‘翠津芥藍’：‘翠津芥藍’樣品於頂空瓶之進樣量。



第四章 結果

(一) 園藝性狀調查 (表 1.):

‘白格林’株型矮約 30 cm，全株為主要食用部份，葉片呈卵圓形，葉面平滑波狀全緣，葉柄細，有葉耳，無臘粉，葉色黃綠節間短，莖綠色略細；‘翠津’株高約 50 cm，主要食用部份為花苔、莖與嫩葉，葉片呈卵形，葉面平滑波狀全緣，葉柄粗，葉色濃綠有臘粉，抽苔後新長的葉片為長橢圓形，越靠近花苔之葉片越狹長，節間長，莖綠色略粗；‘黑芥藍’株型中約 40 cm，全株為主要食用部份，葉片呈圓形，葉面微皺波狀全緣，葉柄細，有臘粉，葉色濃綠節間中等，莖綠色略粗；‘翠寶’株高約 50 cm，主要食用部份為花苔、莖與嫩葉，葉片呈卵形，葉面平滑波狀全緣，葉柄粗，葉色濃綠有臘粉，抽苔後新長的葉片為長橢圓形，越靠近花苔之葉片越狹長，節間長，莖綠色略粗；‘平面長黑格藍’株型中約 40 cm，葉片為主要食用部份，葉片呈卵圓形，葉面平滑波狀全緣，葉柄細，有葉耳，有臘粉，葉色深綠節間長，莖綠色略粗；‘格林’株高約 50 cm，全株為主要食用部份，葉面平滑波狀全緣，葉柄細，有葉耳，無臘粉，葉色深綠節間長，莖綠色略細；‘白花尖葉大心芥藍’株高約 50 cm，主要食用部份為花苔、莖與嫩葉，葉片呈卵形，葉面微皺，波狀全緣至鋸齒緣，葉柄細，有葉耳，有臘粉葉色深綠節間短，莖綠色略粗；‘蕙津’株高約 50 cm，主要食用部份為花苔、莖與嫩葉，葉片呈卵形，葉面平滑波狀全緣，葉柄細有臘粉葉色深綠節間長，莖綠色略粗。

風味品評:‘白格林’葉片苦味 1 級、甜味 0 級。‘翠津’葉片苦味 3 級、甜味 1 級，花苔苦味 1 級、甜味 1 級。‘黑芥藍’葉片苦味 2 級、甜味 0 級。‘翠寶’葉片苦味 1 級、甜味 1 級，花苔苦味 0 級、甜味 1 級，莖苦味 0 級、

甜味 3 級。‘平面長黑格藍’ 葉片苦味 1 級、甜味 0 級，花苔苦味 2 級、甜味 1 級，莖部苦味 0 級，甜味 3 級。‘格林’葉片苦味 1 級、甜味 0 級，花苔苦味 1 級、甜味 2 級。‘白花尖葉大心芥藍’葉片苦味 3 級、甜味 0 級。‘蕙津’ 葉片苦味 3 級、甜味 0 級，花苔苦味 3 級、甜味 0 級，莖部苦味 1 級、甜味 3 級。(苦味和種類有沒有關?)

(二) GC-MS 分析

I. 比較兩種固相微萃取纖維在 5%、35%、70% 乙醇溶液與去離子水不同媒介中吸附能力

相同樣品製備方法及 GC/MS 條件下，使用 5% 乙醇溶液當反應媒介，分別以 75 μm DVB/ PDMS SPME 與 50/30 μm DVB/CAR/ PDMS SPME 兩種纖維吸附芥藍(圖 1、圖 2.)，皆可吸附到 Allyl ITC、3-Butenyl ITC、4-Methylpentyl ITC 三種異硫氰酸酯，但以 75 μm DVB/ PDMS SPME 纖維所吸附到的 ITC 相對含量高於 50/30 μm DVB/CAR/ PDMS SPME 纖維。以 75 μm DVB/ PDMS SPME 纖維在相同 GC/MS 條件下，使用不同乙醇濃度(5%、35%、70%)或純水當反應媒介(圖 2、圖 3、圖 4、圖 5.)，結果發現使用 35% 與 70% 乙醇會使 SPME 纖維大量吸附到乙醇，產生競爭性吸附導致纖維吸附 ITC 能力降低，而以純水當反應媒介吸附到 Allyl ITC、3-Butenyl ITC 兩種，且訊號強度低於使用 5% 乙醇溶液當反應媒介。

II. 調查市場不同日期採收之市售芥藍

測量 2010 年 7 月 12 日、2010 年 7 月 28 日、2010 年 9 月 7 日、2010 年 10 月 13 日、2010 年 11 月 12 日在台北市直興菜市場購買之相同來源芥藍，結果發現 7 月 12 日 7 月 28 日皆測到 Allyl ITC、3-Butenyl ITC、4-Methylpentyl ITC 與 n-Pentyl ITC 等 4 種；9 月 7 日、10 月 13 日、11 月 12 日測到 Allyl ITC、3-Butenyl ITC 與 4-Methylpentyl ITC 等 3 種。(圖 6.~圖 10.；表 2.)

III. 八品種不同發育階段比較

(1.)‘白格林’在 3 個生育階段均測到 Allyl ITC、3-Butenyl ITC、4-Methylpentyl ITC 等 3 種異硫氰酸酯。(2.)‘翠津’種植 30 天與 45 天皆測到 Allyl ITC、3-Butenyl ITC、4-Methylpentyl ITC 等 3 種，60 天則測到 Allyl ITC、3-Butenyl ITC、4-Methylpentyl ITC 與 n-Pentyl ITC 等 4 種。(3.)‘黑芥藍’種植 30 天與 60 天測到 3-Butenyl ITC 與 4-Methylpentyl ITC 等 2 種，45 天則測到 Allyl ITC、3-Butenyl ITC、4-Methylpentyl ITC 等 3 種。(4.)‘翠寶’種植 30 天無偵測到任何種異硫氰酸酯，45 天與 60 天皆測到 Allyl ITC、3-Butenyl ITC、4-Methylpentyl ITC 等 3 種。(5.)‘平面長黑格藍’種植 30 天、45 天與 60 天皆測到 3-Butenyl ITC 與 4-Methylpentyl ITC 等 2 種。(6.)‘格林’種植 30 天、45 天與 60 天皆測到 Allyl ITC、3-Butenyl ITC 與 4-Methylpentyl ITC 等 3 種。(7.)‘白花尖葉大心芥藍’種植 30 天與 60 天皆測到 Allyl ITC、3-Butenyl ITC 與 4-Methylpentyl ITC 等 3 種，45 天測到 3-Butenyl ITC 與 4-Methylpentyl ITC 等 2 種。(8.)‘蕙津’種植 30 天測到 Allyl ITC 與 3-Butenyl ITC 等 2 種，45 天後測得 Allyl ITC、3-Butenyl ITC、4-Methylpentyl ITC 與 n-Pentyl ITC 等 4 種，60 天測得 Allyl ITC、3-Butenyl ITC、4-Methylpentyl ITC、n-Pentyl ITC 與 2-Phenylethyl ITC 等 5 種。(圖 11.~圖 34.；表 3.；附錄 9.)

IV. 各器官比較

選取種植 60 天之(2.)‘翠津’、(7.)‘白花尖葉大心芥藍’、(8.)‘蕙津’，分別測量葉片、莖、花苔以及根部，另取(2.)‘翠津’、(8.)‘蕙津’被蟲攝食過的葉片做測量。(2.)‘翠津’葉片測得 Allyl ITC、3-Butenyl ITC、4-Methylpentyl ITC 與 n-Pentyl ITC 等 4 種(圖 35.)；莖與花苔測得 Allyl ITC、3-Butenyl ITC、4-Methylpentyl ITC、n-Pentyl ITC 與多一種 2-Phenylethyl ITC 等 5 種(圖 36.、圖 37.)。(7.)‘白花尖葉大心芥藍’葉片測得 Allyl ITC、3-Butenyl ITC 與 4-Methylpentyl ITC 等 3 種(圖 39.)；莖部測得 Allyl ITC、3-Butenyl ITC 等 2 種(圖 40.)；根部測得 Allyl ITC、3-Butenyl ITC、4-Methylpentyl ITC、n-Pentyl ITC 與 2-Phenylethyl ITC 等 5 種(圖 41.)；其中葉部的 3-Butenyl ITC 有最高的相對含量；根部則是 2-Phenylethyl ITC 有最高的相對含量，3-Butenyl ITC 次之。(8.)‘蕙津’在葉與根部都測得 Allyl ITC、3-Butenyl ITC、4-Methylpentyl ITC、n-Pentyl ITC 與 2-Phenylethyl ITC 等 5 種(圖 42.、圖 44.)；莖部測得 Allyl ITC、3-Butenyl ITC、n-Pentyl ITC 與 2-Phenylethyl ITC 等 4 種(圖 43.)；其中葉與莖部的 3-Butenyl ITC 皆有最高的相對含量。被昆蟲啃食過的‘白花尖葉大心芥藍’葉片，測得 Allyl ITC 與 3-Butenyl ITC 等兩種；被昆蟲啃食過的‘蕙津’葉片(圖 38.)，只測得 2-Phenylethyl ITC。(表 4.)

第五章 討論

近十多年來固相微萃取 (Solid phase microextraction, SPME) 的萃取技術，被廣泛地應用在揮發性成分之分析，逐漸受到重視。自 1990 年代早期 Pawliszyn 等人發展出此技術後，現在廣泛應用在食品、香味、環境、毒物、藥物、天然物及法醫鑑識等相關領域，這種方法可解決許多分析上樣品前處理之問題。它主要優點為操作簡單、快速，因此可避免樣品漏失的現象，再配合氣相層析質譜儀 (Gas chromatography-mass spectroscopy, GC-MS) 的分析，可快速獲得結果。

根據試驗(I.)得知以 75 μm DVB/ PDMS SPME 纖維搭配 5 % 乙醇溶液當反應媒介，可吸附芥藍異硫氰酸酯種類較多且訊號強度較強，35 % 乙醇溶液與 70 % 乙醇溶液當反應媒介則會使 SPME 纖維吸附過多乙醇，產生競爭性導致 SPME 纖維沒有足夠空隙吸附待測物質。目前找到最適宜測量新鮮芥藍異硫氰酸酯條件為：葉片切碎放入頂空瓶加入 5 mL 5 % 乙醇溶液，可提升 SPME 對揮發性的異硫氰酸酯吸附效果。據前人研究表示異硫氰酸酯在超過 50 $^{\circ}\text{C}$ 的高溫環境下容易降解變性，故試驗加熱溫度設定在 50 $^{\circ}\text{C}$ 30 分鐘，使用 75 μm DVB/ PDMS SPME 吸附 10 分鐘，避免吸附時間過長導致競爭性吸附效應；脫附溫度 280 $^{\circ}\text{C}$ 、時間 20 分鐘使其完全脫附避免殘留。

試驗(II.)調查市場不同日期採收之市售芥藍結果發現，不同月份所測得之異硫氰酸酯皆以 3-Butenyl ITC 有最高之相對含量，Allyl ITC 次之。在 7 月 14 日與 7 月 28 日樣品比 9 月 7 日、10 月 13 日、11 月 12 日樣品多測得 n-Pentyl ITC，可見在不同季節溫度栽培相同品種芥藍會影響植物體內異硫氰酸酯的生成。

八個品種芥藍在不同生育階段，其異硫氰酸酯種類含量皆有所不同，‘翠寶’在 30 天偵測不到異硫氰酸酯，到 45 天植株開始抽苔時則測出 Allyl ITC、3-Butenyl ITC、4-Methylpentyl ITC 等 3 種異硫氰酸酯。‘翠津’與‘翠寶’皆在種植後 45

天開始抽苔，在此時期葉片內異硫氰酸酯相對含量比花苔內異硫氰酸酯低，推測芥藍抽苔後硫糖苷在植體內分布改變，導致葉片內硫糖苷降解後異硫氰酸酯相對含量較花苔內低，且種類不同。‘翠津’根部的異硫氰酸酯種類比葉片與莖部多，可見在相同植株內不同器官所含有的異硫氰酸酯也不盡相同。被昆蟲啃食過的葉片，其異硫氰酸酯種類與相對含量明顯低於健康之葉片，推測在被昆蟲啃食的同時，植株細胞遭到破壞使體內硫糖苷與芥子酶產生作用，同時釋放出揮發性的異硫氰酸酯，被攝食過剩下的葉片組織內異硫氰酸酯種類與相對含量降低。

由於異硫氰酸酯為揮發性含硫化合物，且植物體內天然形成的異硫氰酸酯大多無法以化學合成的方式製作，無法利用製作檢量線等方法切確計算其絕對含量，只能藉由內標準法得知其相對含量(表 6.)。實驗結果發現八品種芥藍與市售芥藍在各發育期間或不同採收時節，經由切碎處理後測量，所得到的異硫氰酸酯成分主要有 Allyl ITC、3-Butenyl ITC、4-Methylpentyl ITC、n-Pentyl ITC 與 2-Phenylethyl ITC 等五種，各品種間葉片所含的異硫氰酸酯皆以 3-Butenyl ITC 有最高的相對含量。Allyl ITC，此為硫糖苷 sinigrin 之降解產物，前人研究發現此成分在青花菜中含量很高，為十字花科植物抗癌之主成分、但在本試驗所測得的芥藍植株內 Allyl ITC 相對於其他種異硫氰酸酯含量相對偏低，甚至在黑芥藍種植 30、60 天；‘平面長黑格藍’30、45、60 天；‘白花尖葉大芥藍’45 天皆偵測不到其含量。

在試驗田間觀察，芥藍發芽初期幾乎無病蟲害，到播種後 20 天左右葉片被昆蟲攝食的面積提高，八品種中以‘翠津’芥藍蟲害情形最嚴重；此時期過後，蟲害情形趨緩，直到開始抽苔後，葉片遭昆蟲攝食情形又再度提高，但是花苔部分則沒有昆蟲攝食。由實驗結果可發現，芥藍不同發育階段植株內硫糖苷種類含量不斷變化，在抽花苔時期葉片內的硫糖苷含量降低，轉往花苔處集中。發現花苔內含有較高相對含量的異硫氰酸酯，其可能是趨避昆蟲啃食之主因。芥藍風味品

評，苦味主要來源是異硫氰酸酯，結果發現苦味相對較低的品種，其蟲害情形較嚴重，如‘翠寶’、‘平面長黑格藍’與‘格林’。植物的防衛及昆蟲的攻擊，二者的交互作用非常複雜。1964 年 Ehrlich 與 Raven 有系統地評估蝶類昆蟲的攝食情形，發現粉蝶類昆蟲大都取食白菜花科、十字花科及其他相關科的植物，這些植物共同特徵是都含有二級代謝產物-硫糖苷。硫糖苷對大多數昆蟲產生毒性或忌避作用，而粉蝶類昆蟲卻可利用此成分以抗拒天敵。共同演化的結果，植物之二次代謝產物決定昆蟲是否要利用這些植物，兩者產生相互影響及彼此適應的現象。不同品種芥藍也許含有不同種類含量的硫糖苷，但還是會吸引特定昆蟲前來攝食。

根據臘等人(2008)利用 HPLC 測量大陸地區芥藍硫糖苷種類，檢測出 11 種硫糖苷，本研究預期台灣地區芥藍硫糖苷經由芥子酶水解後有相對多種的異硫氰酸酯種類，結果顯示最多只測量到五種異硫氰酸酯。本試驗種植的八種芥藍皆為台灣地區品種，又在相同氣候、土壤環境栽種，仍有異硫氰酸酯種類、含量之差異。除了是地方品種不同、栽培環境與氣候因子會影響植物體硫糖苷的種類與生成量；另一推測是芥藍有些硫糖苷種類無法利用相同處理測出。



參考文獻

- 台灣地區現有作物栽培品種名錄(十字花科篇)。1994。台灣省農業試驗所特刊 43 號。台灣省農業試驗所編印。
- 臘貴曉、方萍、李亞娟、王月。2008。液相色譜質譜連用分離、鑑定芥藍中脫硫芥子油苷。浙江大學學報。34 (5) : 557-563.
- 劉厚誠、黃琴、陳日遠、劉晴。2003。高溫條件下芥藍菜薹色澤的形成。中國蔬菜。6:12-14。
- 何洪巨、陳杭、W. H. Schnitzler。2002。薺苔屬蔬菜中硫代葡萄糖苷鑑定與含量分析。中國農業科學。35: 192-197。
- 蔣先明。1985。各種蔬菜。農業出版社。北京。
- 行政院農業委員會。2005。台灣農家要覽-農作篇(二)-五.葉菜類-(三)芥藍。豐年社。臺北市。p. 371-376.
- 行政院農業委員會農糧署農情報告資源網 - 農情調查資訊查詢 - 各項作物規模別排序查詢。2010 年 12 月。 http://agr.afa.gov.tw/afa/afa_frame.jsp.
- 行政院衛生署食品藥物管理局台灣地區食品營養成份資料庫。 2010 年 11 月。 <http://www.doh.gov.tw/FoodAnalysis/ingredients.htm>.
- 鍾文全。2002。十字花科硫配醣體之揮發性分解物防治蔬菜苗土媒病害。國立中興大學植物病理學系研究所碩士論文。
- 張平真。2009。關於芥藍起源的研究。中國蔬菜。14: 62- 65。
- 張玳瑜。2008。30 種大蒜的園藝性狀及含硫化合物質量分析。國立台灣大學園藝學研究所碩士論文。
- 張靜、張魯剛、張玉。2009。芥藍種質資源營養成分及商品性評價。中國蔬菜。16: 41- 44。

陳新娟、朱祝軍、楊靜、劉永華。2006。芥藍葉和薹的硫代葡萄糖苷組分及含量。園藝學報。33: 741-744.

司雨、陳國菊、雷建軍、曹必好、馮恩友。2009。不同品種芥藍硫代葡萄糖苷組分與含量分析。第三屆海峽兩岸園藝學術研討會論文集。中華人民共和國廣東省汕頭市。p.192-198.

顏國卿、危貴金。1992。十字花科蔬菜中硫糖苷含量之測定。中國農化學會誌。30 (1) : 129-137.

楊暹、楊運英。2002。溫度對芥藍生長發育與菜薹形成的影響。中國蔬菜。4: 33-34。

Agrawal, A. A., J. K. Conner, M. T. J. Johnson, and R. Wallsgrave. 2002.

Ecological genetics of an induced plant defense against herbivores: additive genetic variance and costs of phenotypic plasticity. *Evolution*. 56:2206-2213.

Bones, A. M., and J. Rossiter. 1996. The myrosinase-glucosinolate system, its organization and biochemistry. *Physiol. Plant*. 97: 194-208.

Brown, P. D., J. G. Tokuhisa, M. Reichelt, and J. Gershenzon. 2003. Variation of glucosinolate accumulation among different organs and development stages of *Arabidopsis thaliana*. *Phytochemistry* 62: 471-181.

Das, S., A. K. Tyagi, and H. Kaur. 2000. Cancer modulation by glucosinolates: a review. *Curr. Sci*. 79: 1665-1671.

Doughty, K. J., G. A. Kiddle, B. J. Pye, R. M. Wallsgrave, and J. A. Pickett. 1994. Selective of glucosinolates in oilseed rape leaves by methyl jasmonate. *Phytochemistry*. 38(2): 347-350.

Eylen, D. V., I. Oey, M. Hendrickx, and A. V. Loey. 2007. Kinetics of stability of broccoli (*Brassica oleracea* cv. *Italica*) myrosinase and isothiocyanates in broccoli juice during pressure/temperature treatments. *J. Agric. Food Chem*.

55:2163-2170.

Ehrlich, P.R. and Raven, P.H. 1964. Butterflies and plants: a study in coevolution.

Evolution. 18: 586-608.

Fahey, J. W., Y. Zhang, and P. Talalay. 1997. Broccoli sprouts : an exceptionally rich source of inducers of enzymes that protect against chemical carcinogens.

Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 94: 10367-10372.

Fahey, J. W., A. T. Zalcmann, and P. Talalay. 2001. The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants.

Phytochemistry. 56: 5-51.

Fenwick, G. R., Heaney, R. K. and W. J. Mullin. 1983. Glucosinolates and their breakdown products in food and food plants. Crit. Rev. Food Sci. Nutr.

18:123-201.

Fernandes, F., G. P. de Pinho, P. Valentão, J. A. Pereira, and P. B. Andrade. 2009.

Volatile constituents throughout *Brassica oleracea* L. var. *acephala*

Germination. J. Agric. Food Chem. 57: 6795-6802.

Freeman, G. G., and N. Mossadeghi. 1979. Studies on relationship between water regime and flavour strength in watercress (*Rorippa nasturtium-aquaticum*

(L.) Hayek) cabbage(*Brassica oleracea* L. var. *capitata*) and onion(*Allium cepa*) . J. Hortic. Sci. 48 : 365-378.

Halkier, B. A., and J. Gershenzon. 2006. Biology and biochemistry of glucosinolates.

Annu. Rev. Plant Biol. 57: 303-333.

Heaney, R. K., and G. R. Fenwick. 1980. Glucosinolates in Brassica vegetables.

Analysis of twenty-two varieties of Brussels sprout (*Brassica oleracea* L. var.

gemmifera) . J. Sci. Food Agric. 31 : 785–793.

Higdon, J. V., B. Delage, D. E. Williams, and R. H. Dashwood. 2007. Cruciferous vegetables and human cancer risk: epidemiologic evidence and mechanistic basis. *Pharmacol. Res.* 55: 224-236.

Holst, B. and G. Williamson. 2004. A critical review of the bioavailability of glucosinolates and related compounds. *Nat. Prod. Rep.* 21: 425-447.

Jeffery, E. H., A. F. Brown, A. C. Kurilich, A. S. Keck, N. Matusheski, B. P. Klein, and J. A. Juvik. 2003. Variation in content of bioactive components in broccoli. *J. Food Compos. Anal.* 16: 323-330.

Lambrix, V., M. Reichelt, T. Mitchell-Olds, D. J. Kliebenstein, and J. Gershenon. 2001. The *Arabidopsis* epithiospecifier protein promotes the hydrolysis of glucosinolates to nitrile and influences *Trichoplusia* in herbivory. *Plant cell.* 13: 2793-2807.

Jin, Y., M. Wang, R. T. Rosen, and Chi-Tang Ho. 1999. Thermal degradation of sulforaphane in aqueous solution. *J. Agric. Food Chem.* 47: 3121-3123.

Jones, R. B., J. D. Faragher, and S. Winkler. 2006. A review of influence of postharvest treatments on quality and glucosinolates content in broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) heads. *Postharvest Biol. Technol.* 41: 1-8.

Lewis, J., and G. R. Fenwick. 1988. Glucosinolates content of Brassica vegetables—Chinese cabbage Pe-tsai (*Brassica pekinensis*) and Pak-choi (*Brassica chinenese*) . J. Sci. Food Agric. 45 : 379-384.

Ling, H., Q. P. Yuan, H. R. Dong, and Y. M. Liu. 2006. Determination of sulforaphane in broccoli and cabbage by high-performance liquid chromatography. *J. Food Compos. Anal.* 19: 473-476.

Mithen, R. 2001. Glucosinolates--biochemistry, genetics and biological activity.

Plant Growth Regul. 34: 91-103.

Mithen, R. F., M. Dekker, R. Verkerk, and S. Rabot. 2000. The nutritional significance, biosynthesis and bioavailability of glucosinolates in human foods. J. Sci. Food Agric. 80: 967-984.

Mithen, R., K. Faulkner, R. Magrath, P. Rose, G. Williamson, and J. Marquez. 2003. Development of isothiocyanate enriched broccoli and its enriched ability to induce phase 2 detoxification enzymes in mammalian cells. Theor. Appl. Genet. 106: 727-734.

Padilla, G., M. E. Cartea, P. Velasco, A. de Haro, and A. Ordas. 2007. Variation of glucosinolates in vegetable crops of *brassica rapa*. Phytochemistry. 68:536-545.

Pawliszyn, J. 1990. Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fiber. Anal. Chem. 62: 2145-2148.

Pawliszyn, J. 1997. Basic principles of solid phase microextraction. p.15-23. In: In solid phase microextraction: theory and practice. Wiley- VCH, Inc. New York, USA.

Pereira, F. M. V. , E. Rosa, J. W. Fahey, K. K. Sterphenson, R. Carvalho, and A. Aires. 2002. Influence of temperature and ontogeny on the levels of glucosinolates in broccoli (*Brassica oleracea var. italica*) sprouts and their effect on the induction of mammalian phase 2 enzymes. J. Agric. Food Chem. 50: 6239-6244.

Petroski, R. J., and H. L. Tookey. 1982. Interactions of thioglucoside glucohydrolase and epithiospecifier protein of cruciferous plants to form 1-cyanoepithioalknes. Phytochemistry. 21: 1903-1905.

Petroski, R. J., and W. F. Kwolek. 1985. Interactions of a fungal thioglucoside

glucohydrolase and cruciferous plant epithiospeccifier protein to form
1-Cyanoepithioalkanes-implications of an allosteric mechanism.

Phytochemistry. 24: 213-216.

Rosa, E. A. S., and A. S. Rodrigues. 2001. Total and individual glucosinolates
content in 11 broccoli cultivars grown in early and late seasons. HortScience.
36: 56-59.

Rungapamestry, V., A. J. Duncan, Z. Fuller, and B. Ratcliffe. 2006. Changes
in glucosinolate concentrations, myrosinase activity, and production of
metabolites of glucosinolates in cabbage (*Brassica oleracea* var.
capitata) cooked for different durations. J. Agric. Food Chem. 54:
7628-7634.

Shapiro, T. A., J. W. Fahey, K. L. Wade, K. K. Stephenson, and P. Talalay. 2001.
Chemopreventive glucosinolates and isothiocyanates of broccoli sprouts :
metabolism and excretion in humans. Cancer Epidemiol. Biomark. Prevent.
10: 501-108.

Sones, K., R. K. Heaney, and G. R. Fenwick. 1984. Glucosinolates in Brassica
vegetables. Analysis of twenty seven cauliflower cultivars (*Brassica oleracea*
L. var. *botryis*) . J. Sci. Food Agric. 35 : 762-766.

Storsberg, J., H. Schulz, M. Keusgen, F. Tannous, K. J. Dehmer, and E. R. J.
Keller. 2004. Chemical characterization of interspecific hybrids between
Allium cepa L. and *Allium kermesinum* Rchb. J. Agric. Food Chem. 52:
5499-5505.

Taveira, M., F. Fernandes, G. P. de Pinho, P. B. Andrade, J. A. Pereira, and P.
Valentão. 2009. Evolution of *Brassica rapa* var. *rapa* L. volatile composition

by HS-SPME and GC/IT-MS. *Microchem. J.* 93: 140-146

Tripathi, M. K., and A. S. Mishra. 2007. Glucosinolates in animal nutrition: A review. *Anim. Feed Sci. Technol.* 132:1-27.

Van Etten, C. H., M. E. Daxenbichler, W. F. Kwolek, and P. H. Williams. 1980. Distribution of glucosinolates in the pith cambial–cortex and leaves of the head in cabbage, *Brassica oleracea* L. *J. Agric. Food Chem.* 47: 648-650.

Verhoeven, D. T. H., H. Verhagen, R. A. Goldbohm, P. Brand, and G. Poppel. 1997. A review of mechanisms underlying anticarcinogenicity by brassica vegetables. *Chem. Biol. Interact.* 103: 79-129.

Vierheilig, H., R. Bennett, G. Kiddle, M. Kaldorf, and J. Ludwig-Muller. 2000. Differences in glucosinolate patterns and arbuscular mycorrhizal status of glucosinolate-containing plant species. *New phytol.* 146: 343-352.

Wink, M. 1999. Biochemistry of plant secondary metabolism. *Annual plant reviews.* Academic Press, Sheffield, UK.

Yen, G. C. and Q. K. Wei. 1993. Myrosinase activity and total glucosinolate content of cruciferous vegetables, and some properties of cabbage myrosinase in Taiwan. *J. Sci. Food Agr.* 61: 471-475.

Zhao, D., J. Tang, and X. Ding. 2007. Analysis of volatile components during potherb mustard (*Brassica juncea* (L.) Czernj. & Coss.) pickle fermentation using SPME–GC-MS. *LWT.* 40: 439-447.



表 1、8 種芥藍播種 60 天品種特性調查。

Table 1. The investigation of 8 types Chinese kale cultivars after planting 60 days.

品種	1.白格林	2.翠津	3.黑芥藍	4.翠寶	5.平面長黑格藍	6.格林	7.白花尖葉大心芥藍	8.蕙津
種子來源	農業試驗所	農友種苗公司	年豐種子店	武藏野種苗園	鳳山熱帶園藝試驗分所	明豐種子行	台灣農產	農友種苗公司
株型	矮(約30cm)	高(約50cm)	中(約40cm)	高(約50cm)	中(約40cm)	高(約50cm)	高(約50cm)	高(約50cm)
主要食用部份	全株	花苔、莖與嫩葉	全株	花苔、莖與嫩葉	葉片	全株	花苔、莖與嫩葉	花苔、莖與嫩葉
葉形	卵圓形	卵形，抽苔後新長的葉片為長橢圓形，越靠近花苔之葉片越狹長。	圓形	卵形，抽苔後新長的葉片為長橢圓形，越靠近花苔之葉片越狹長。	卵圓形	卵圓形	卵形	卵形
葉面	平滑	平滑	微皺	微皺	平滑	平滑	微皺	平滑
葉柄	細，有葉耳	粗	粗	細	細，有葉耳	細，有葉耳	細，有葉耳	細
葉緣缺刻	波狀全緣	波狀全緣	波狀	波狀	波狀	波狀	波狀，近全緣至鋸齒緣	波狀
葉面臘粉	無	有	有	有	有	無	有	有
葉色	黃綠	濃綠	濃綠	濃綠	深綠	深綠	深綠	深綠
節間	短	長	中	長	長	長	短	長
莖粗細	細	略粗	粗	略粗	略粗	細	粗	粗

抽苔性	晚	早(45天)	晚	早(40天)	晚	晚	晚	晚
花色	(未開花)	白花	(未開花)	白花	(未開花)	(未開花)	(未開花)	(未開花)
莖色	綠色	綠色	綠色	綠色	綠色	綠色	綠色	綠色

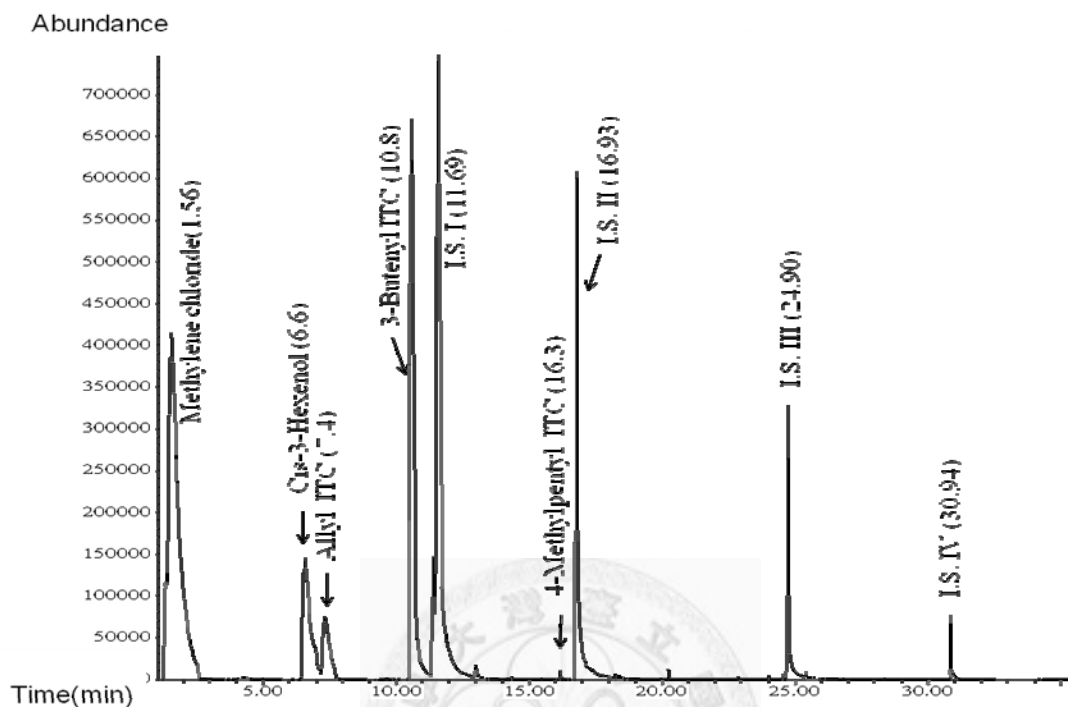


圖 1. 使用 5% 乙醇溶液與 75 μ m DVB/ PDMS SPME 吸附芥藍之總離子質譜層析圖。

Fig. 1. GC/MS total ion chromatogram of Chinese kale leaves by 5% alcohol and 75 μ m DVB/ PDMS SPME.

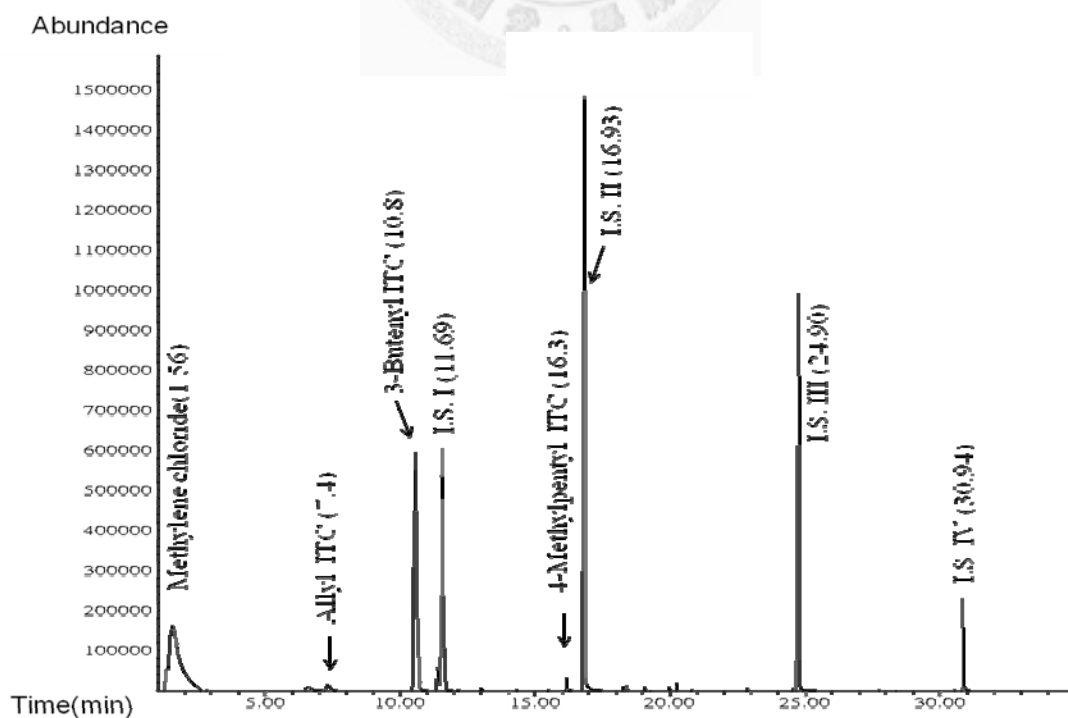


圖 2. 使用 5%乙醇溶液與 50/30 μm DVB/CAR/ PDMS SPME 吸附芥藍之總離子質譜層析圖。

Fig. 2. GC/MS total ion chromatogram of Chinese kale leaves by 5% alcohol and 50/30 μm DVB/CAR/ PDMS SPME.

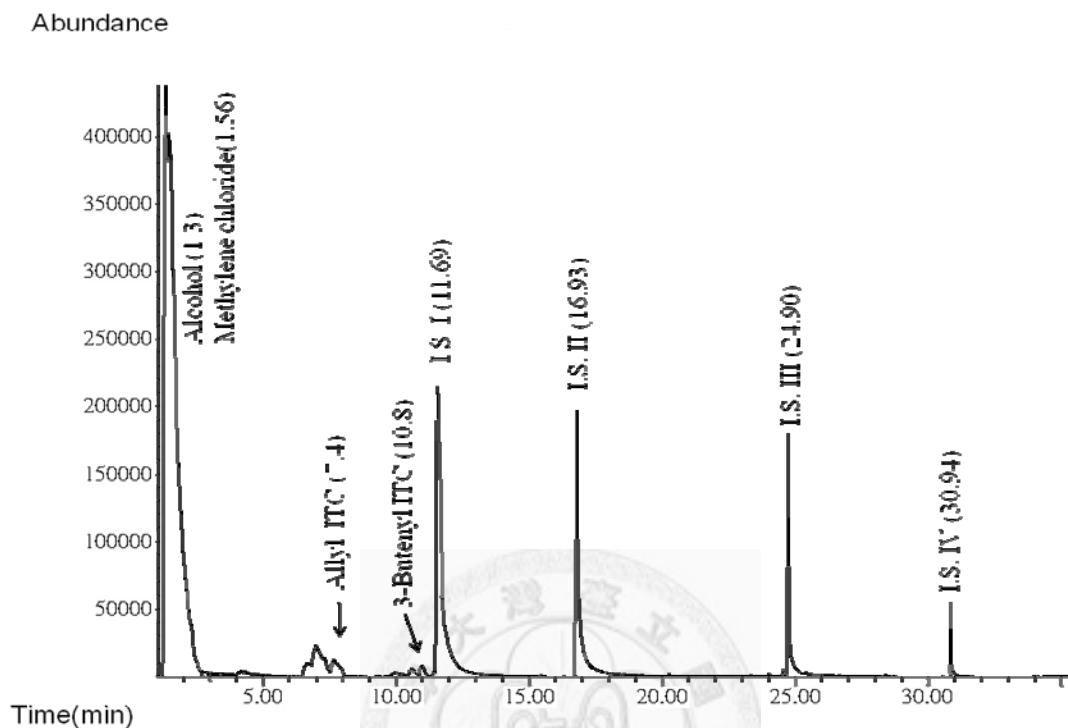


圖 3. 使用 35%乙醇溶液與 75 μm DVB/ PDMS SPME 吸附芥藍之總離子質譜層析圖。

Fig. 3. GC/MS total ion chromatogram of Chinese kale leaves by 35% alcohol and 75 μm DVB/ PDMS SPME.

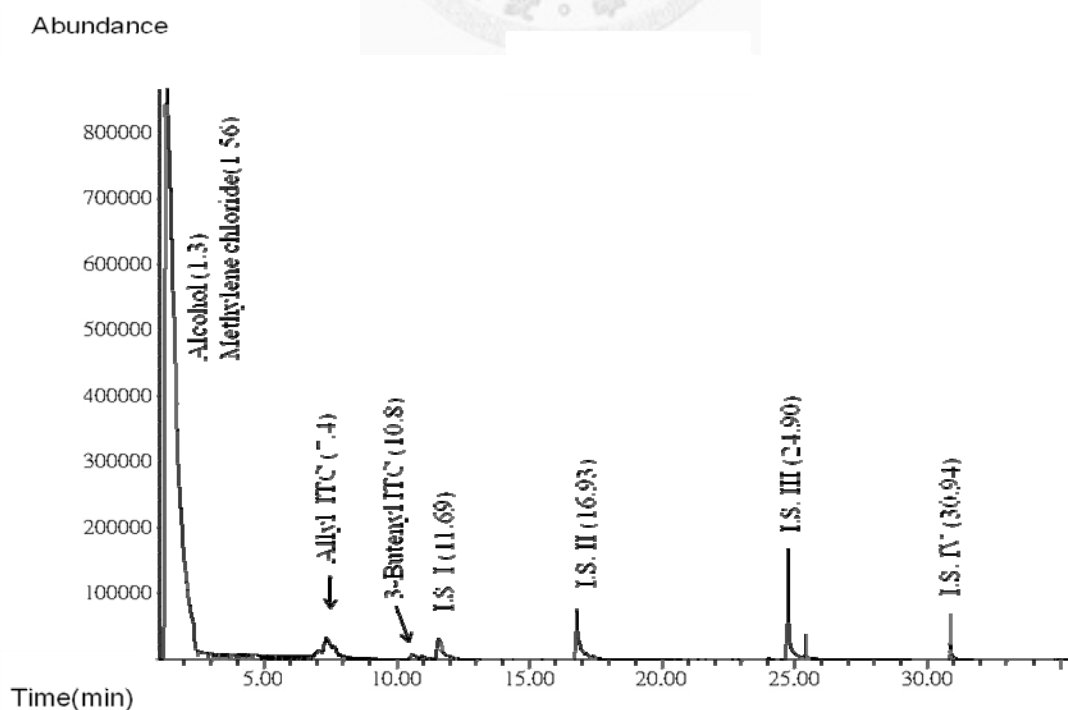


圖 4. 使用 70%乙醇溶液與 75 μm DVB/ PDMS SPME 吸附芥藍之總離子質譜層析圖。

Fig. 4. GC/MS total ion chromatogram of Chinese kale leaves by 70% alcohol and 75 μ m DVB/ PDMS SPME.

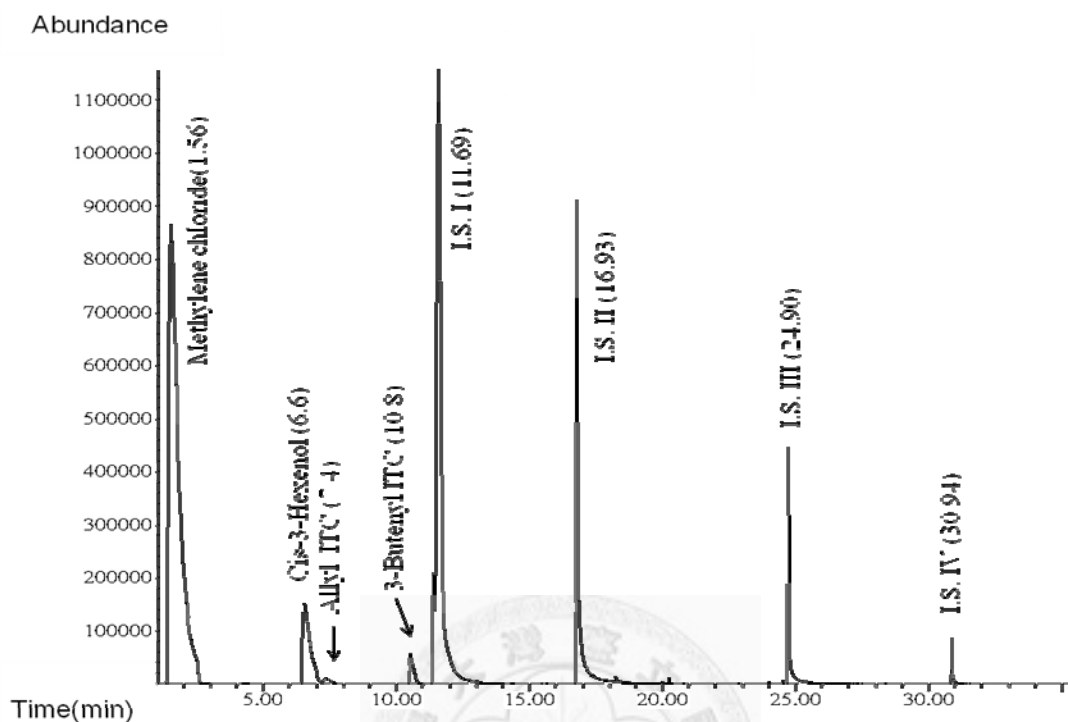


圖 5. 使用純水與 75 μ m DVB/ PDMS SPME 吸附芥藍之總離子質譜層析圖。

Fig. 5. GC/MS total ion chromatogram of Chinese kale leaves by dH₂O and 75 μ m DVB/ PDMS SPME.

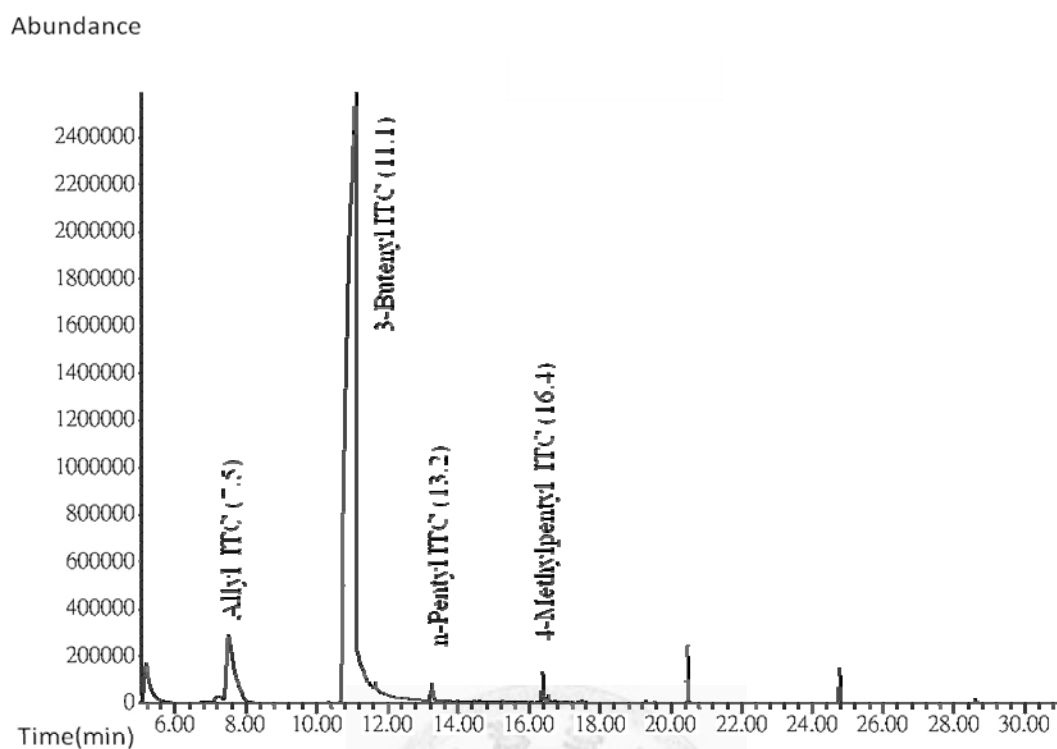


圖 6. 2010 年 7 月 12 日市售芥藍葉片之總離子質譜層析圖。

Fig. 6. GC/MS total ion chromatogram of commercial Chinese kale leaves in the July 12, 2010.

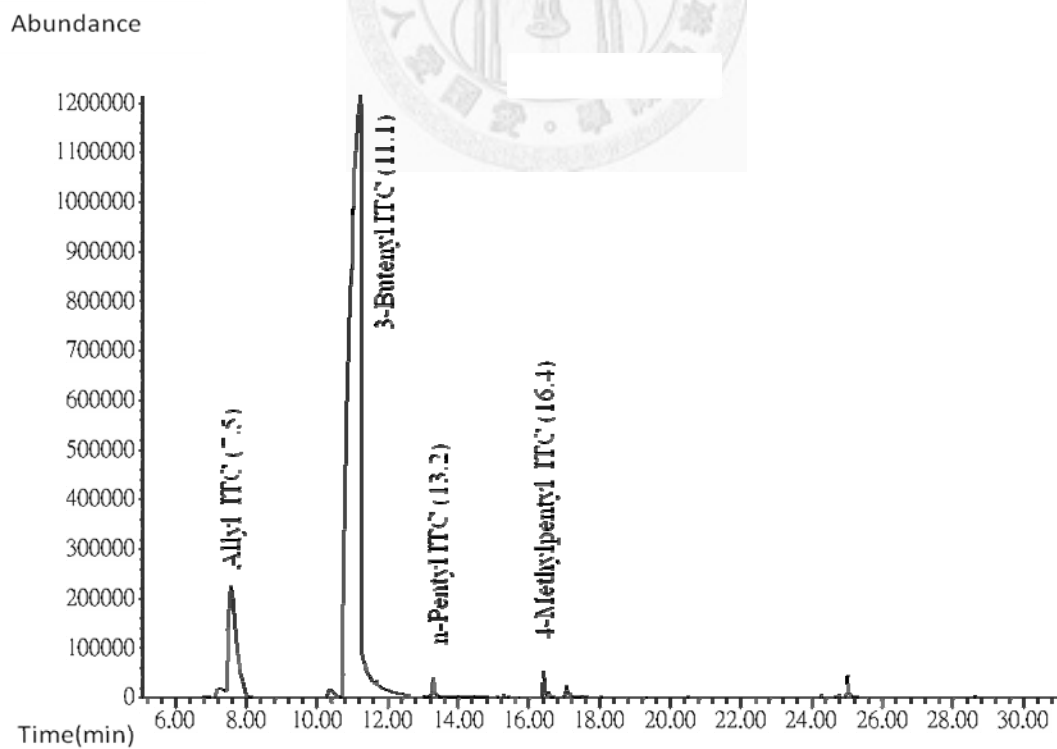


圖 7. 2010 年 7 月 28 日市售芥藍葉片之總離子質譜層析圖。

Fig. 7. GC/MS total ion chromatogram of commercial Chinese kale leaves in the July 28, 2010.

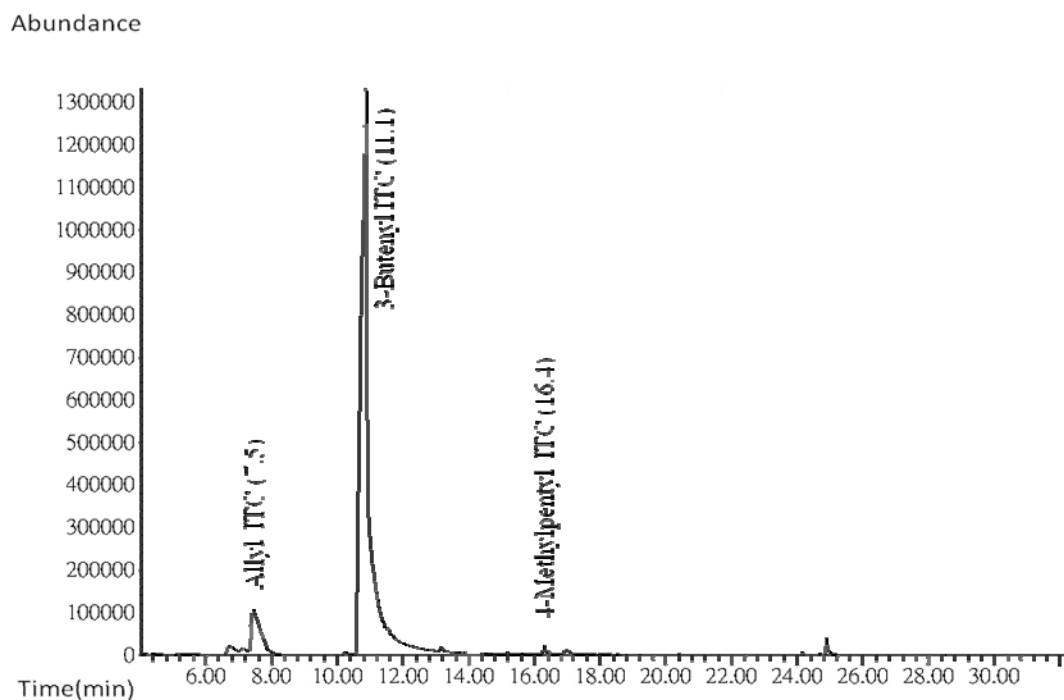


圖 8. 2010 年 9 月 7 日市售芥藍葉片之總離子質譜層析圖。

Fig. 8. GC/MS total ion chromatogram of commercial Chinese kale leaves in the September 28, 2010.

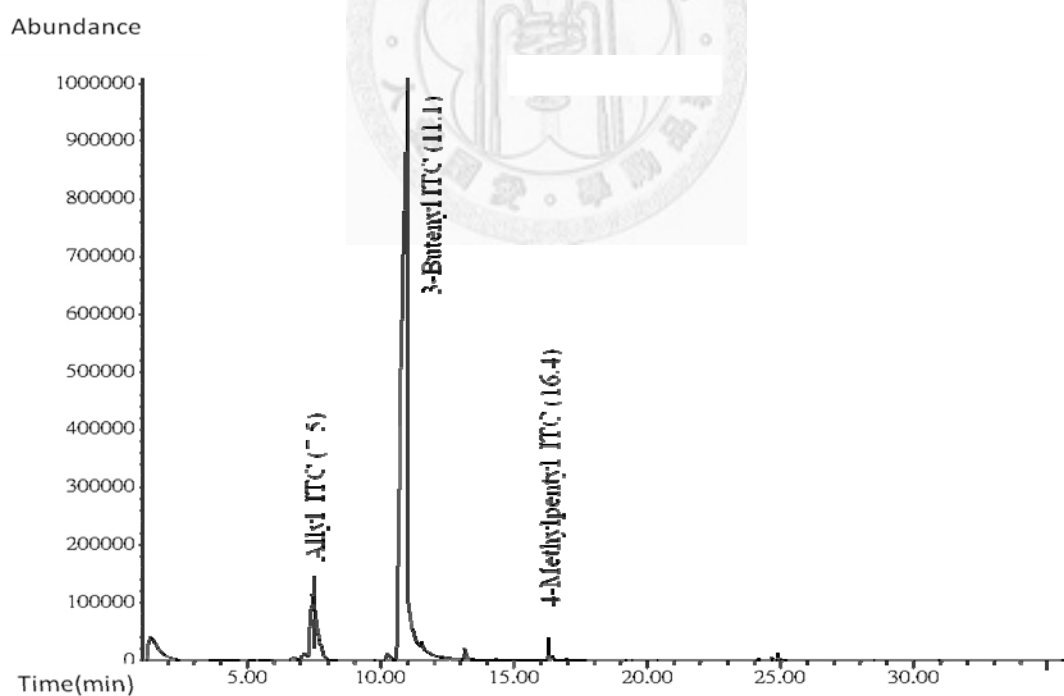


圖 9. 2010 年 10 月 13 日市售芥藍葉片之總離子質譜層析圖。

Fig. 9. GC/MS total ion chromatogram of commercial Chinese kale leaves in the October 13, 2010.

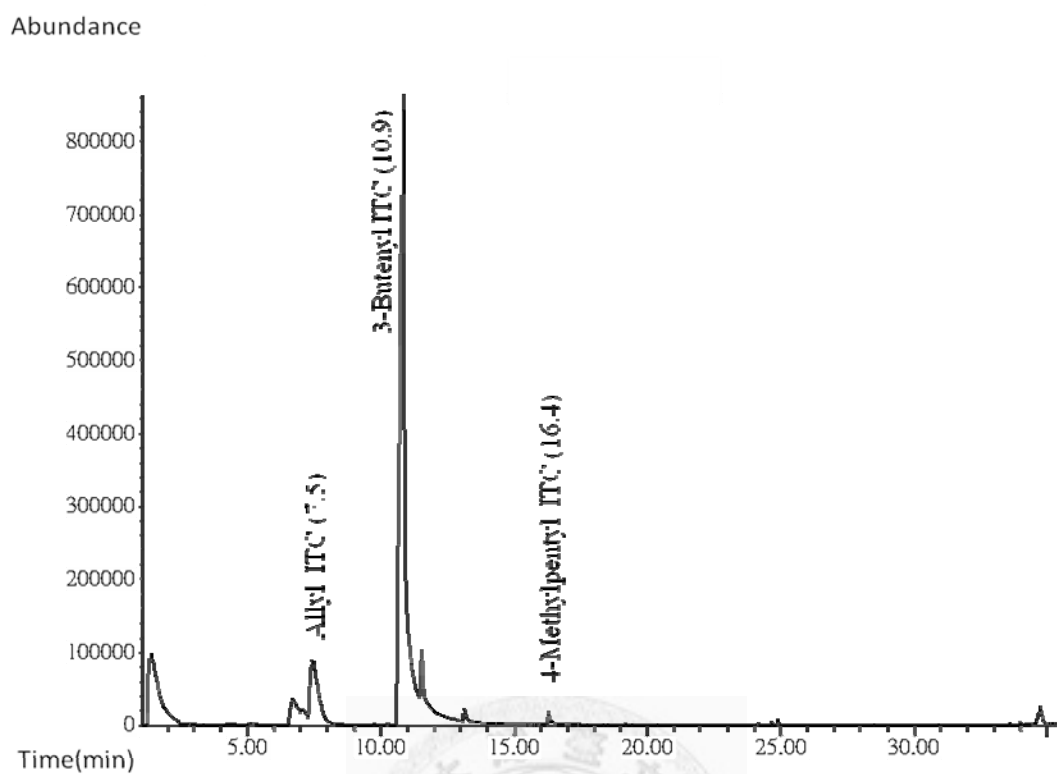


圖 10. 2010 年 11 月 12 日市售芥藍葉片之總離子質譜層析圖。

Fig. 10. GC/MS total ion chromatogram of commercial Chinese kale leaves in the November 12, 2010.

表 2、不同日期市售芥藍葉片所測得異硫氰酸酯種類簡表。

Table 2. Summary table measured by commercial Chinese kale leaf types of isothiocyanates.

(a: Allyl ITC ; b: 3-Butenyl ITC ; c: 4-Methylpentyl ITC ; d: n-Pentyl ITC)

7 月 12 日	7 月 28 日	9 月 7 日	10 月 13 日	11 月 12 日
abcd	abcd	abc	abc	abc

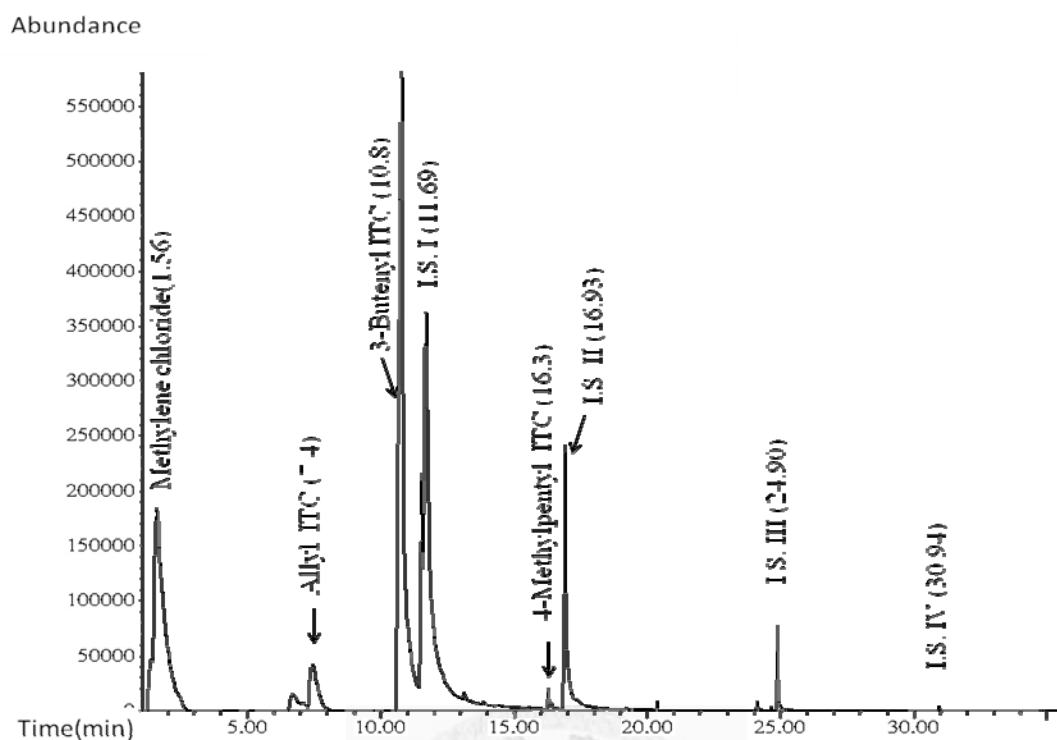


圖 11. ‘白格林’ 30 天葉片之總離子質譜層析圖。

Fig. 11. GC/MS total ion chromatogram of “Bai Gelin” Chinese kale leaves after planting 30 days.

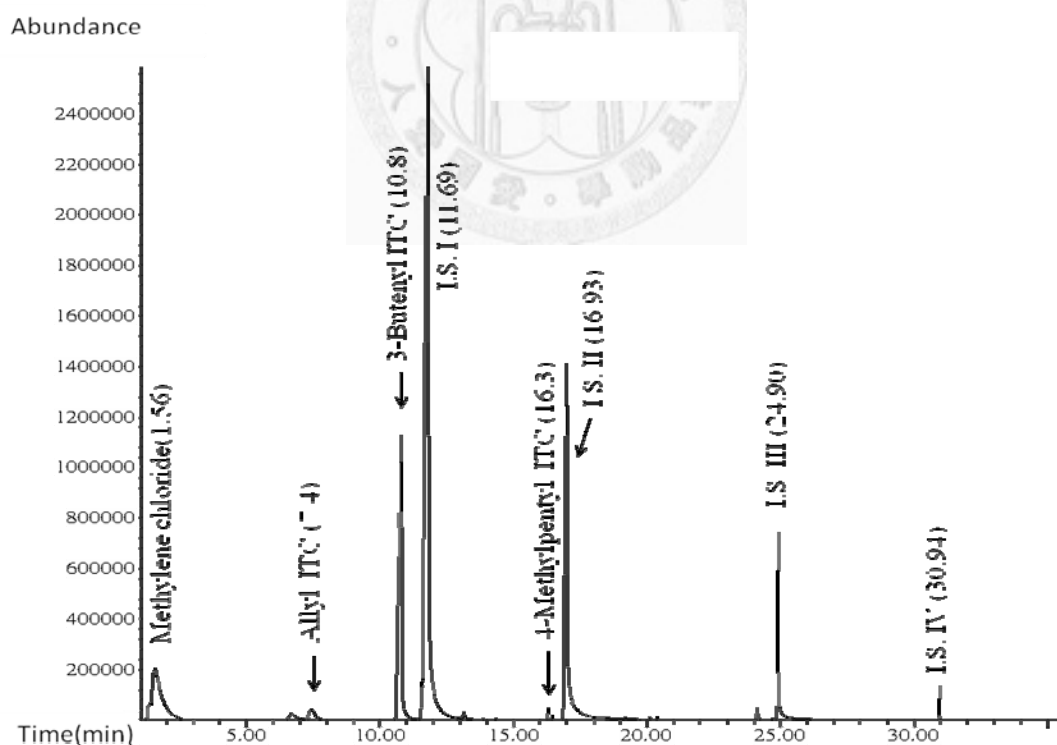


圖 12. ‘白格林’ 45 天葉片之總離子質譜層析圖。

Fig. 12. GC/MS total ion chromatogram of “Bai Gelin” Chinese kale leaves after planting 45 days.

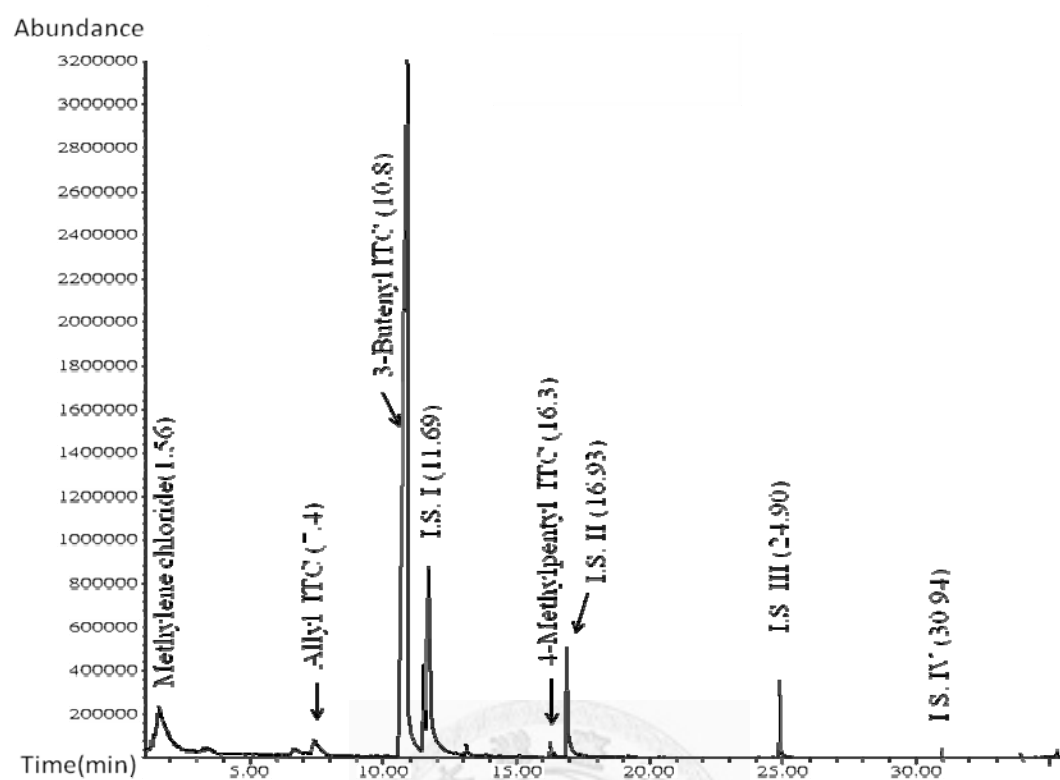


圖 13. ‘白格林’ 60 天葉片之總離子質譜層析圖。

Fig. 13. GC/MS total ion chromatogram of “Bai Gelin” Chinese kale leaves after planting 60 days.

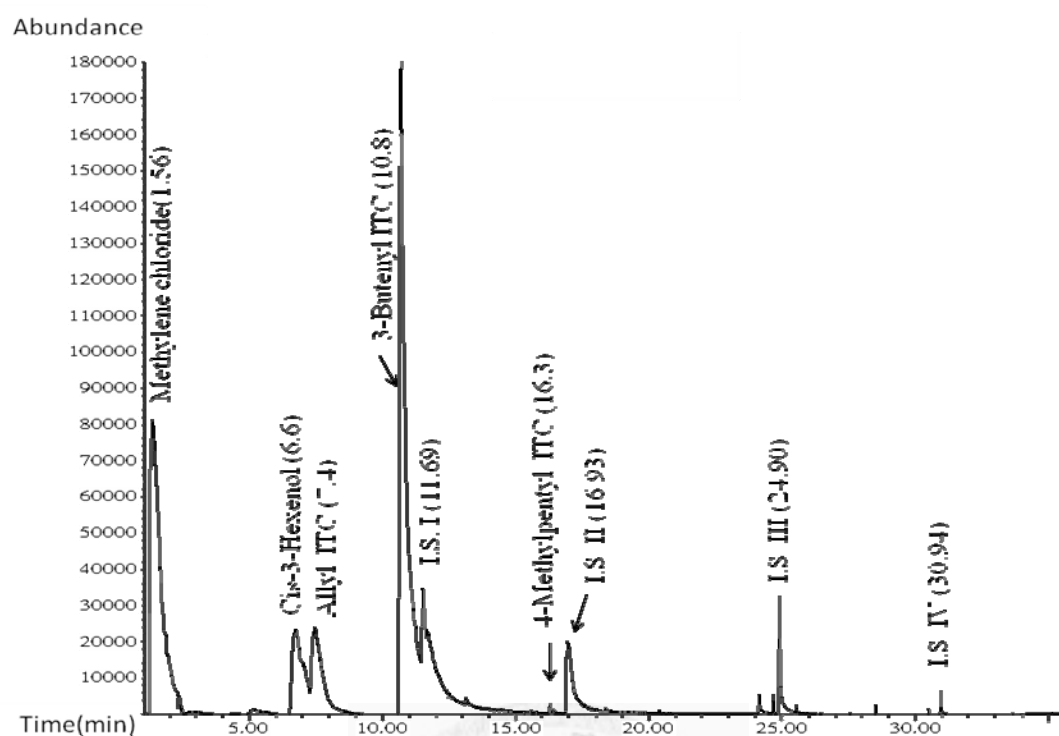


圖 14. ‘翠津’ 30 天葉片之總離子質譜層析圖。

Fig. 14. GC/MS total ion chromatogram of “Chui-chun” Chinese kale leaves after planting 30 days.

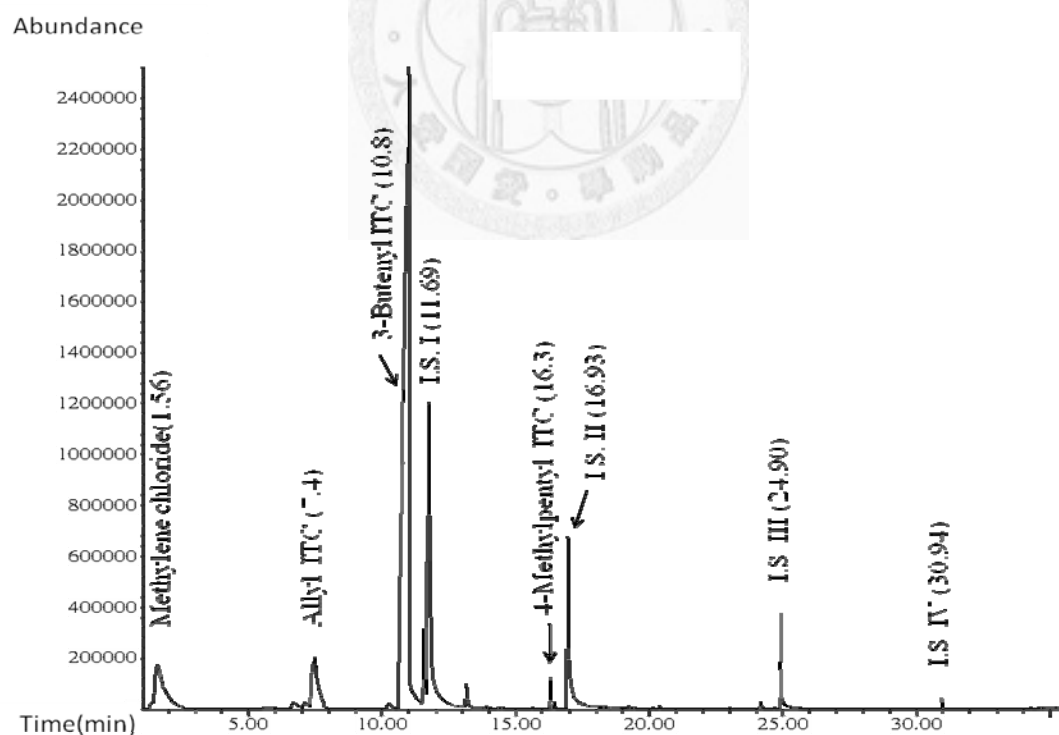


圖 15. ‘翠津’ 45 天葉片之總離子質譜層析圖。

Fig. 15. GC/MS total ion chromatogram of “Chui-chun” Chinese kale leaves after planting 45 days.

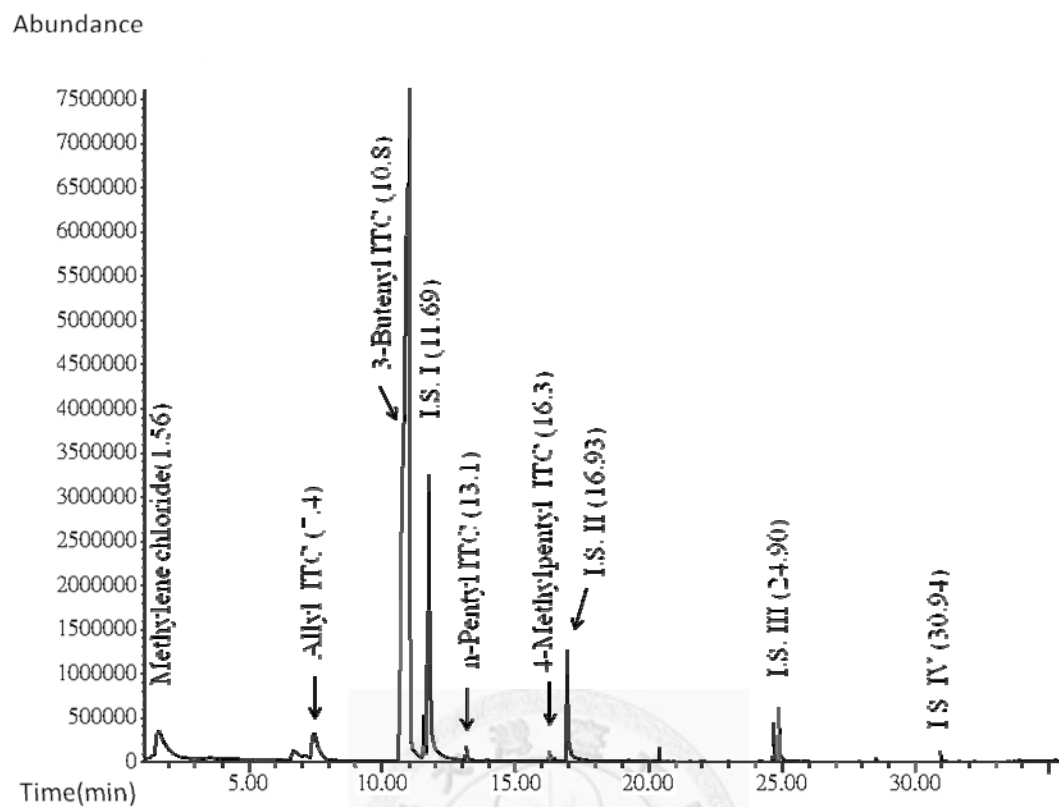


圖 16. ‘翠津’ 60 天葉片之總離子質譜層析圖。

Fig. 16. GC/MS total ion chromatogram of “Chui-chun” Chinese kale leaves after planting 60 days.

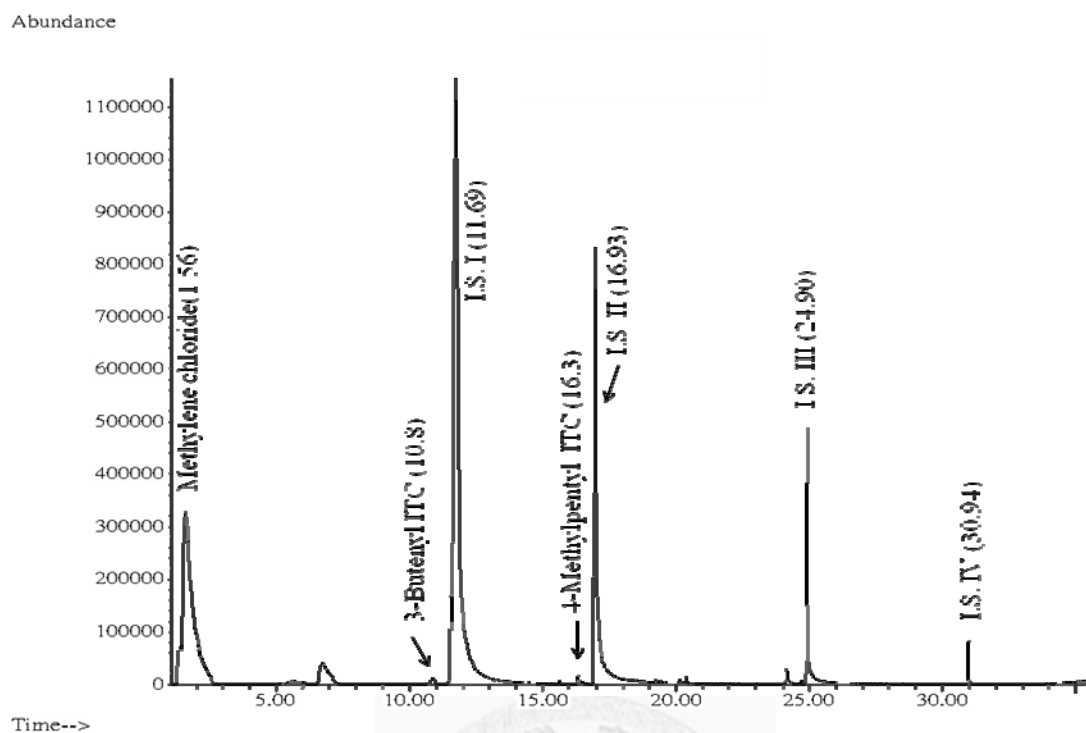


圖 17. ‘黑芥藍’ 30 天葉片之總離子質譜層析圖。

Fig. 17. GC/MS total ion chromatogram of “black Jie-lan” Chinese kale leaves after planting 30 days.

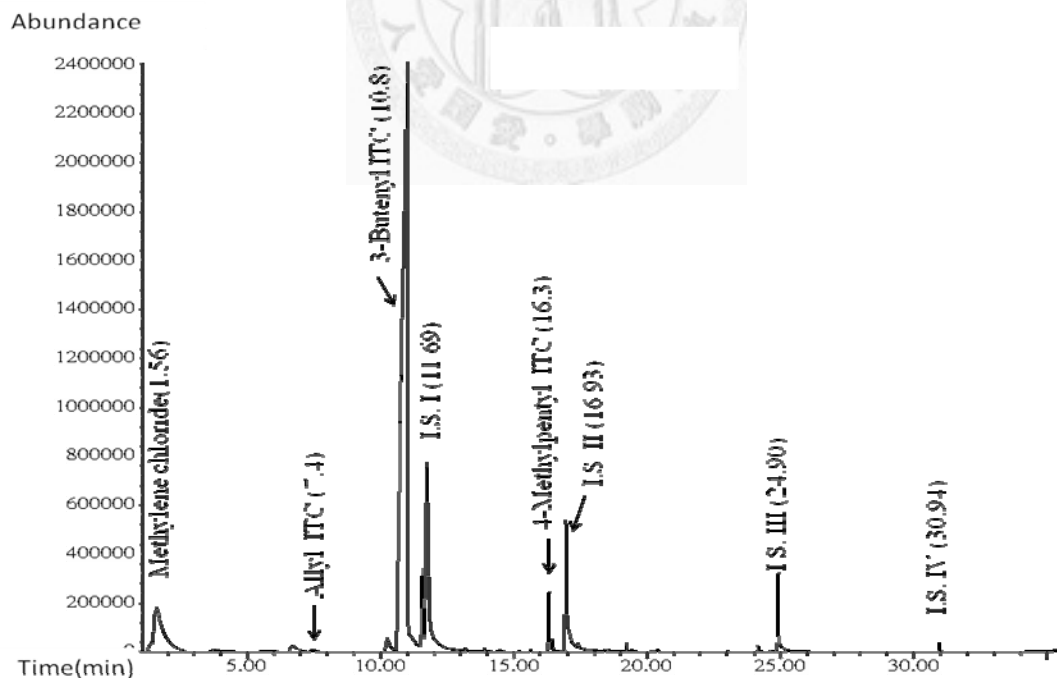


圖 18. ‘黑芥藍’ 45 天葉片之總離子質譜層析圖。

Fig. 18. GC/MS total ion chromatogram of “black Jie-lan” Chinese kale leaves after planting 45 days.

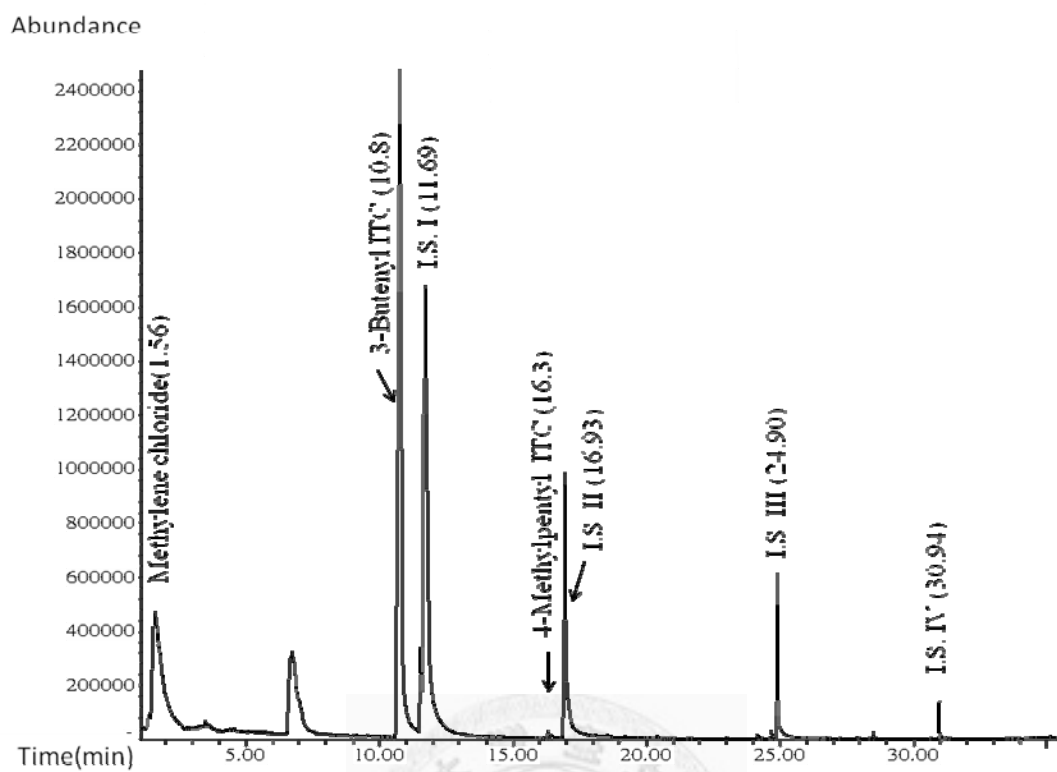


圖 19. ‘黑芥藍’ 60 天葉片之總離子質譜層析圖。

Fig. 19. GC/MS total ion chromatogram of “black Jie-lan” Chinese kale leaves after planting 60 days.

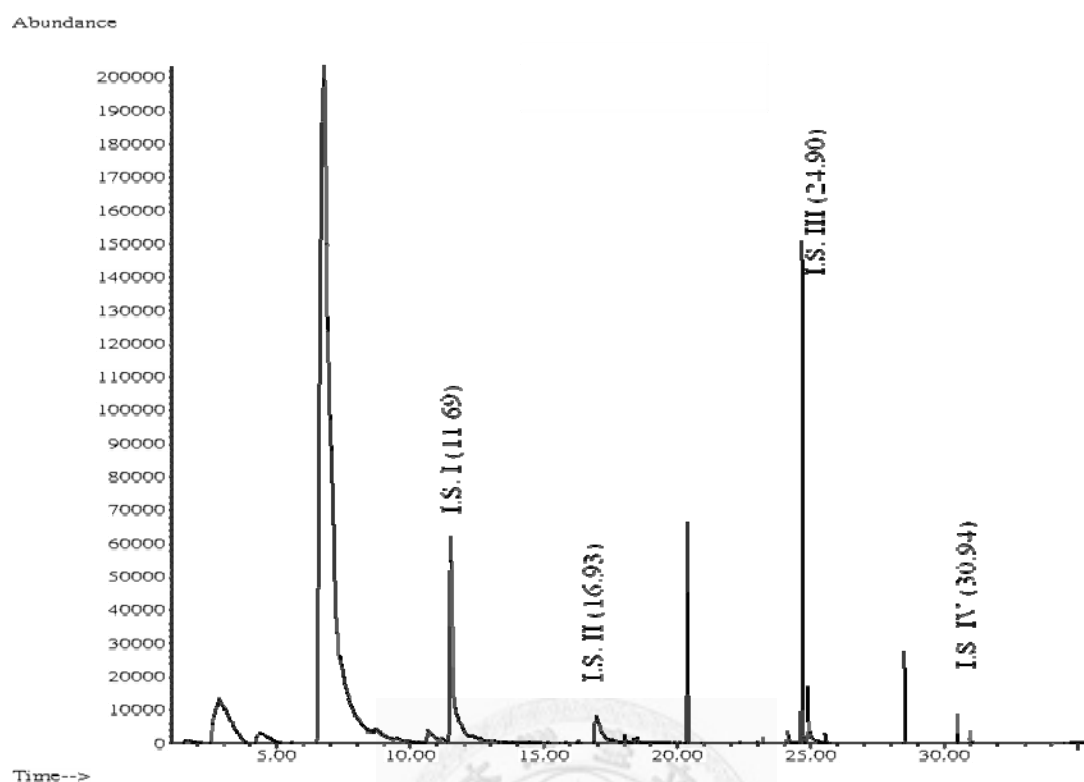


圖 20. ‘翠寶’ 30 天葉片之總離子質譜層析圖。

Fig. 20. GC/MS total ion chromatogram of “Tsui-po” Chinese kale leaves after planting 30 days.

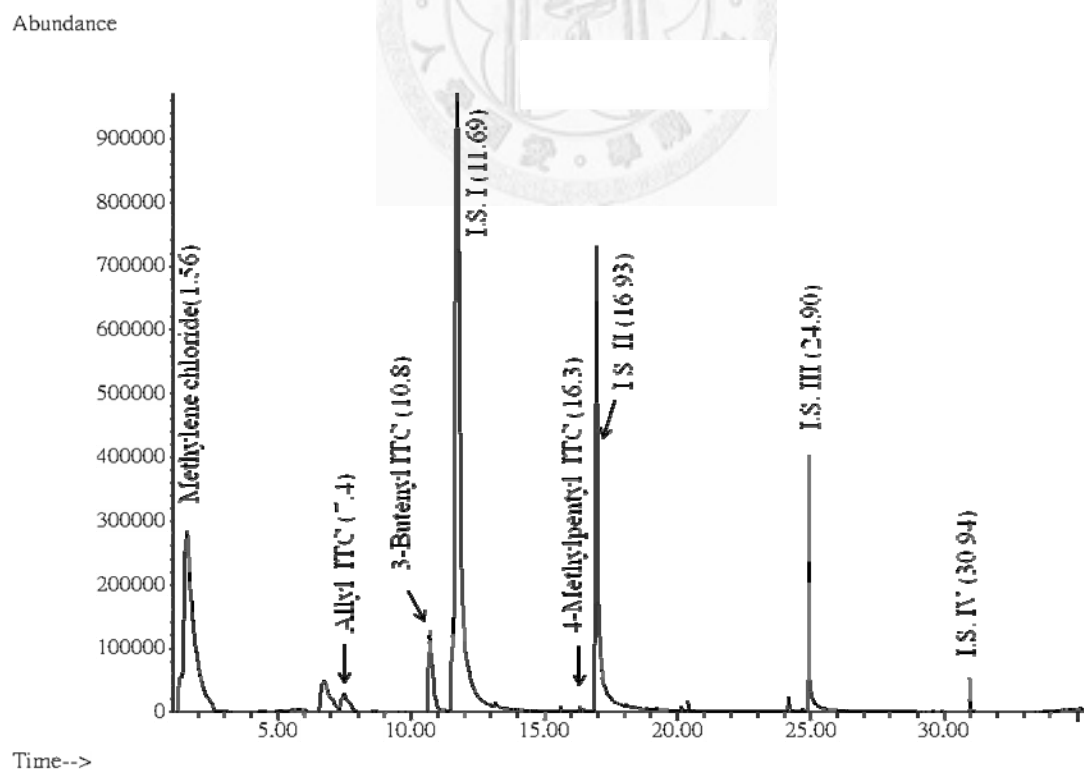


圖 21. ‘翠寶’ 45 天葉片之總離子質譜層析圖。

Fig. 21. GC/MS total ion chromatogram of “Tsui-po” Chinese kale leaves after planting 45 days.

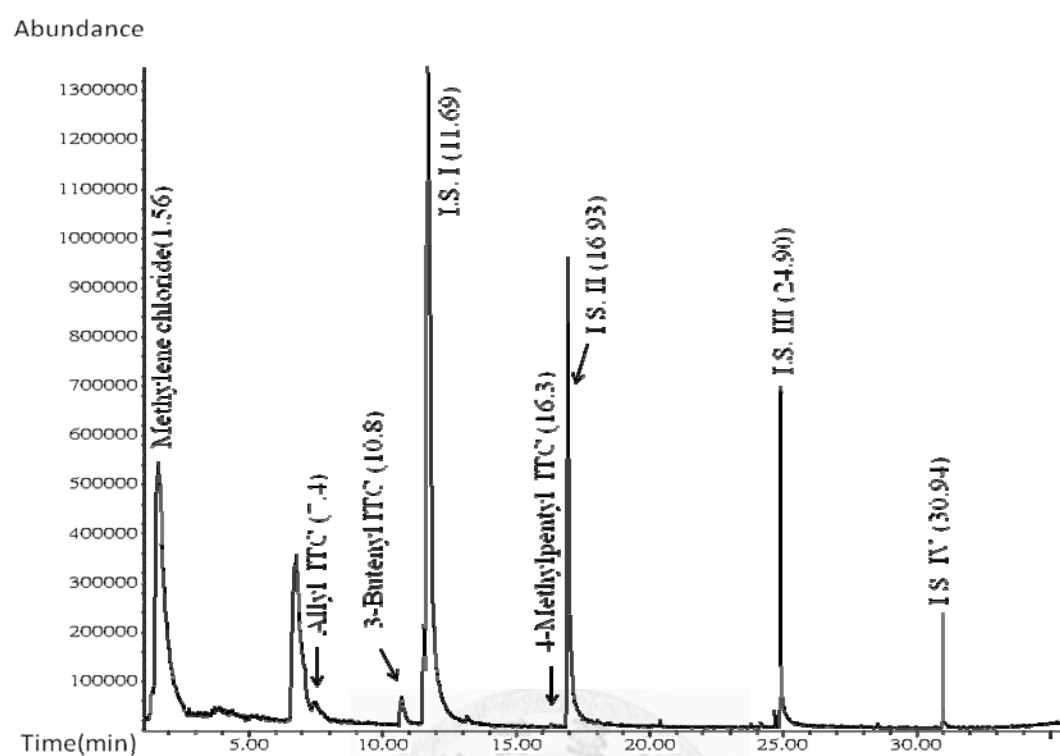


圖 22. ‘翠寶’ 60 天葉片之總離子質譜層析圖。

Fig. 22. GC/MS total ion chromatogram of “Tsui-po” Chinese kale leaves after planting 60 days.

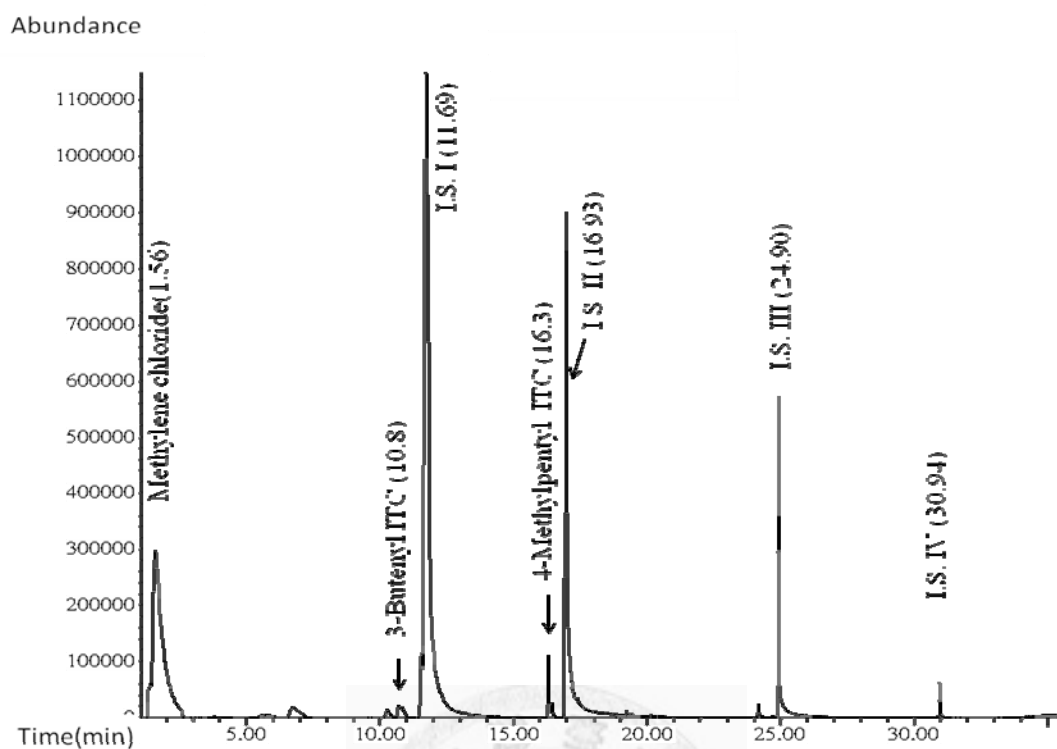


圖 23. ‘平面長黑格藍’ 30 天葉片之總離子質譜層析圖。

Fig. 23. GC/MS total ion chromatogram of “Plane black Ge-lan” Chinese kale leaves after planting 30 days.

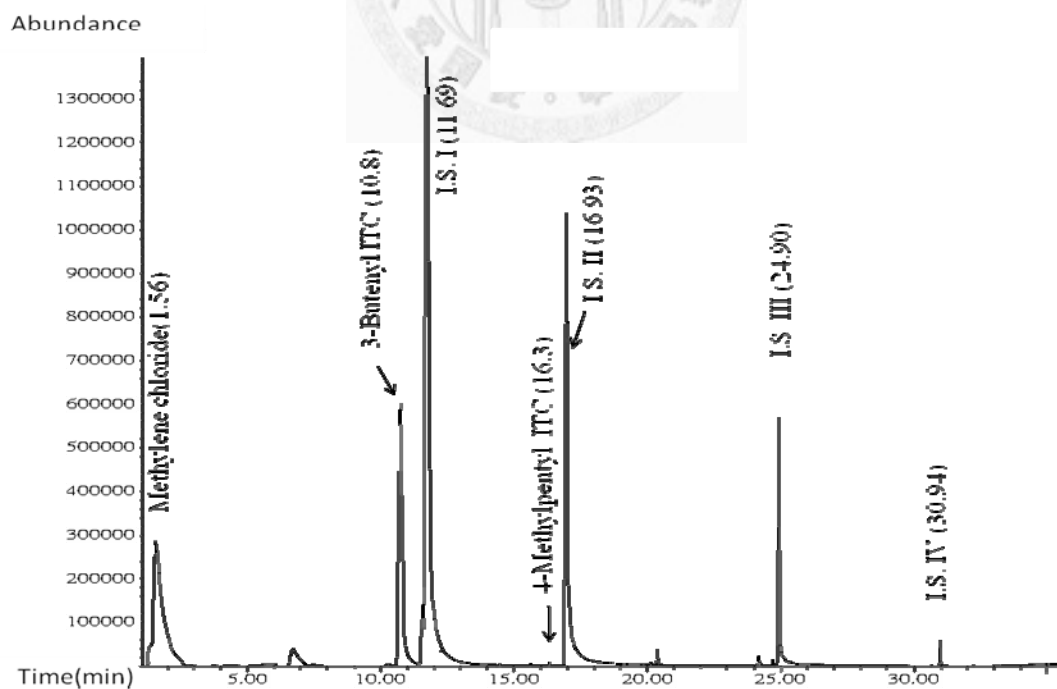


圖 24. ‘平面長黑格藍’ 45 天葉片之總離子質譜層析圖。

Fig. 24. GC/MS total ion chromatogram of “Plane black Ge-lan” Chinese kale leaves after planting 45 days.

Abundance

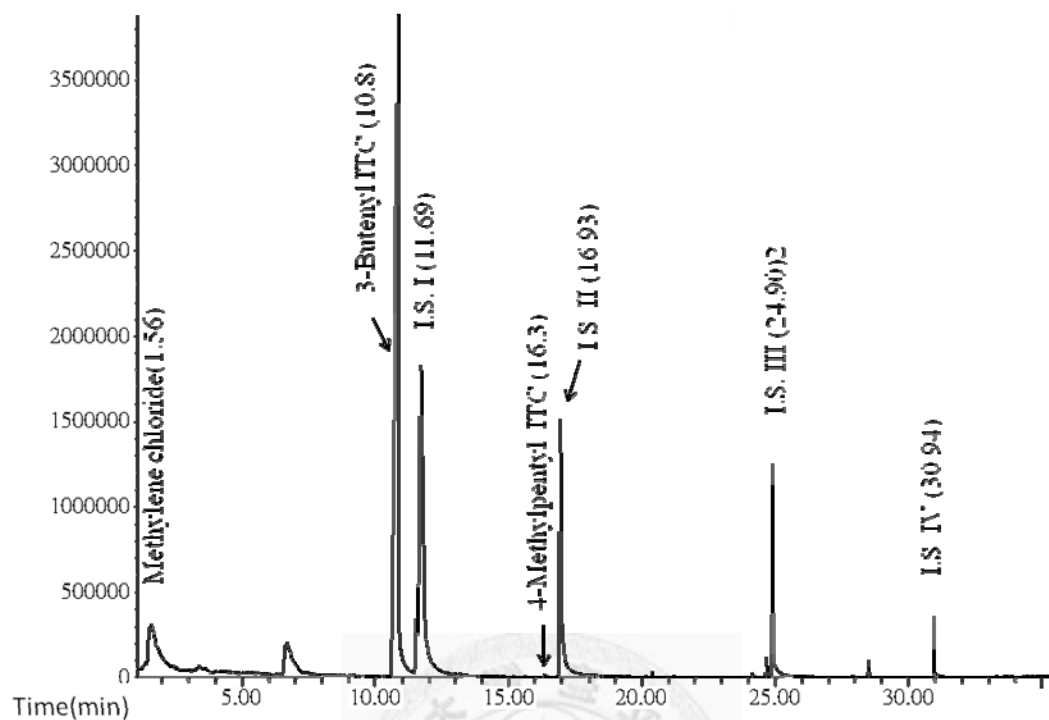


圖 25. ‘平面長黑格藍’ 60 天葉片之總離子質譜層析圖。

Fig. 25. GC/MS total ion chromatogram of “Plane black Ge-lan” Chinese kale leaves after planting 60 days.

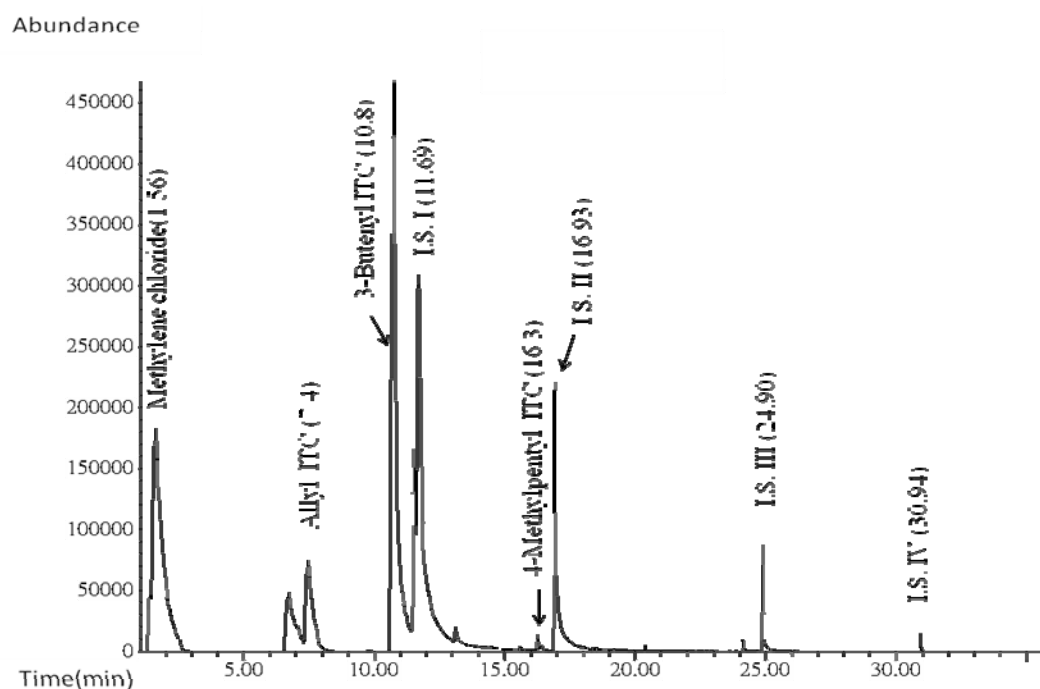


圖 26. ‘格林’ 30 天葉片之總離子質譜層析圖。

Fig. 26. GC/MS total ion chromatogram of “Ge-lin” Chinese kale leaves after planting 30 days.

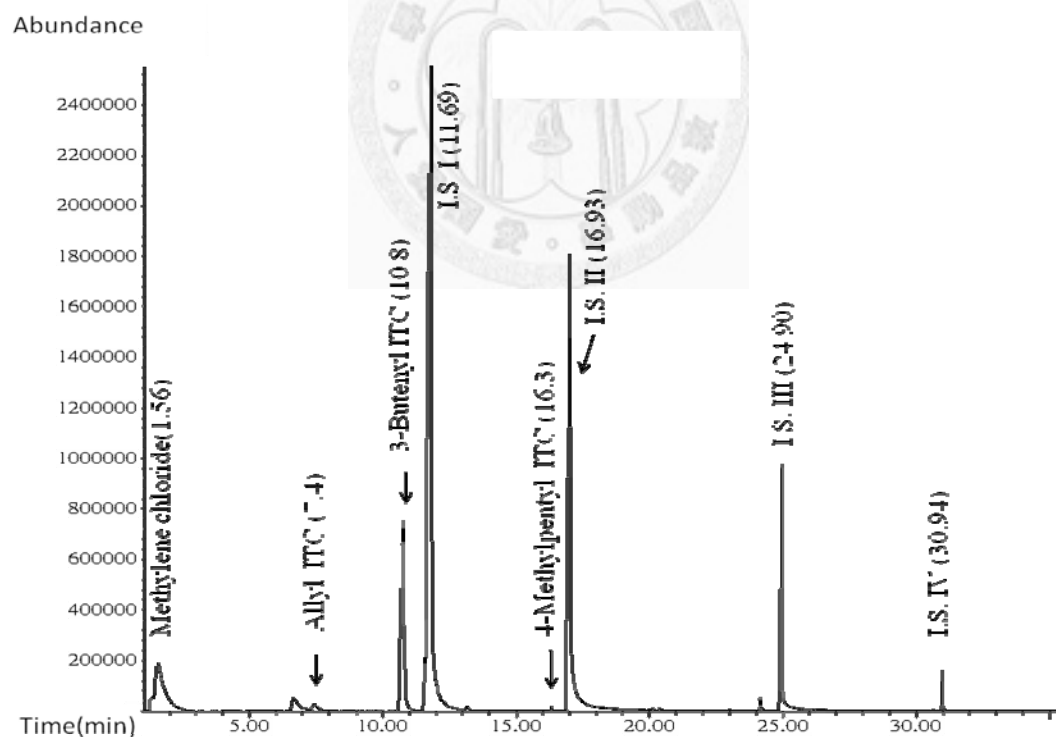


圖 27. ‘格林’ 45 天葉片之總離子質譜層析圖。

Fig. 27. GC/MS total ion chromatogram of “Ge-lin” Chinese kale leaves after planting 45 days.

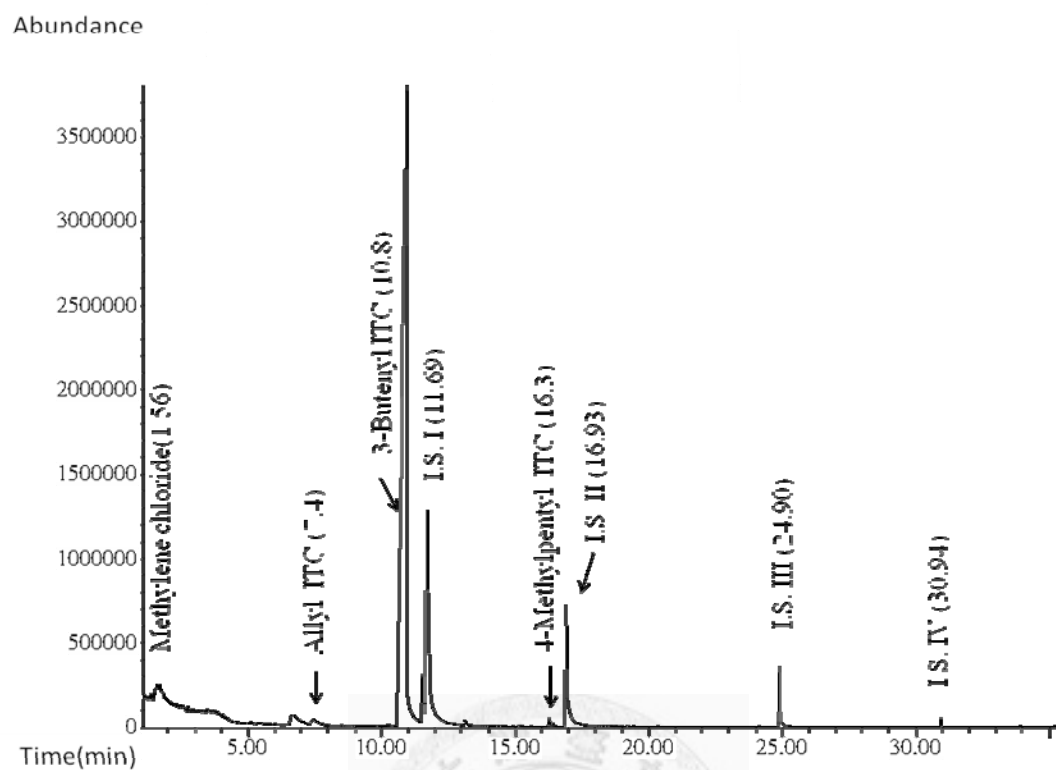


圖 28. ‘格林’ 60 天葉片之總離子質譜層析圖。

Fig. 28. GC/MS total ion chromatogram of “Ge-lin” Chinese kale leaves after planting 60 days.

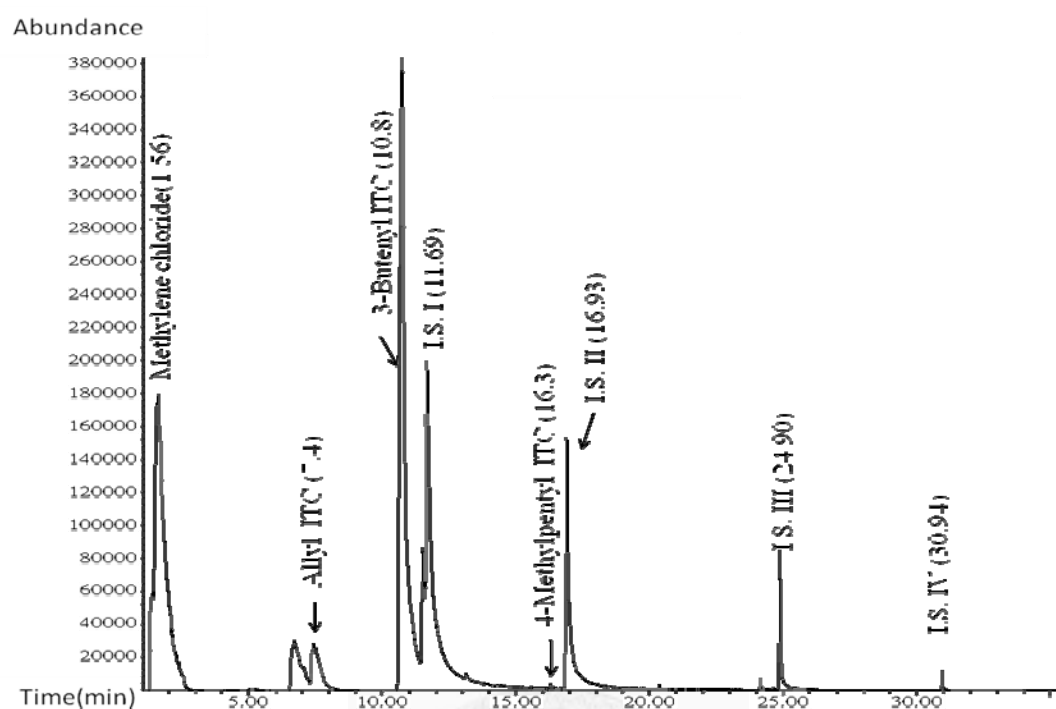


圖 29. ‘白花尖葉大心芥藍’ 30 天葉片之總離子質譜層析圖。

Fig. 29. GC/MS total ion chromatogram of “white flower, sharp leaf, thick stem Ge-lan” Chinese kale leaves after planting 30 days.

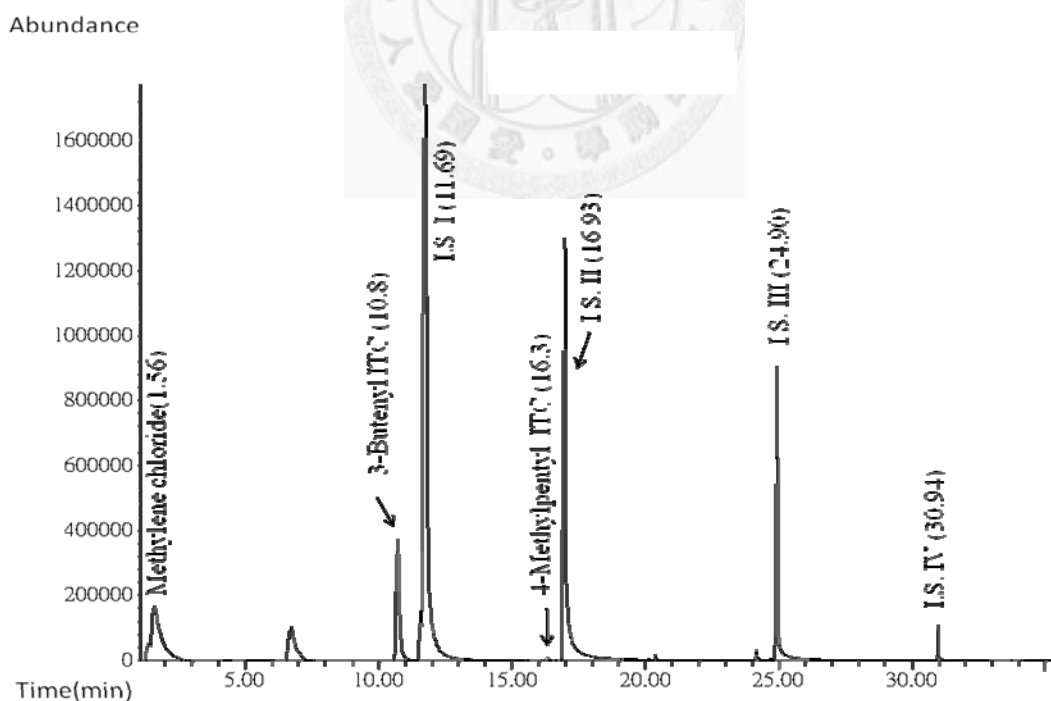


圖 30. ‘白花尖葉大心芥藍’ 45 天葉片之總離子質譜層析圖。

Fig. 30. GC/MS total ion chromatogram of “white flower, sharp leaf, thick stem Ge-lan” Chinese kale leaves after planting 45 days.

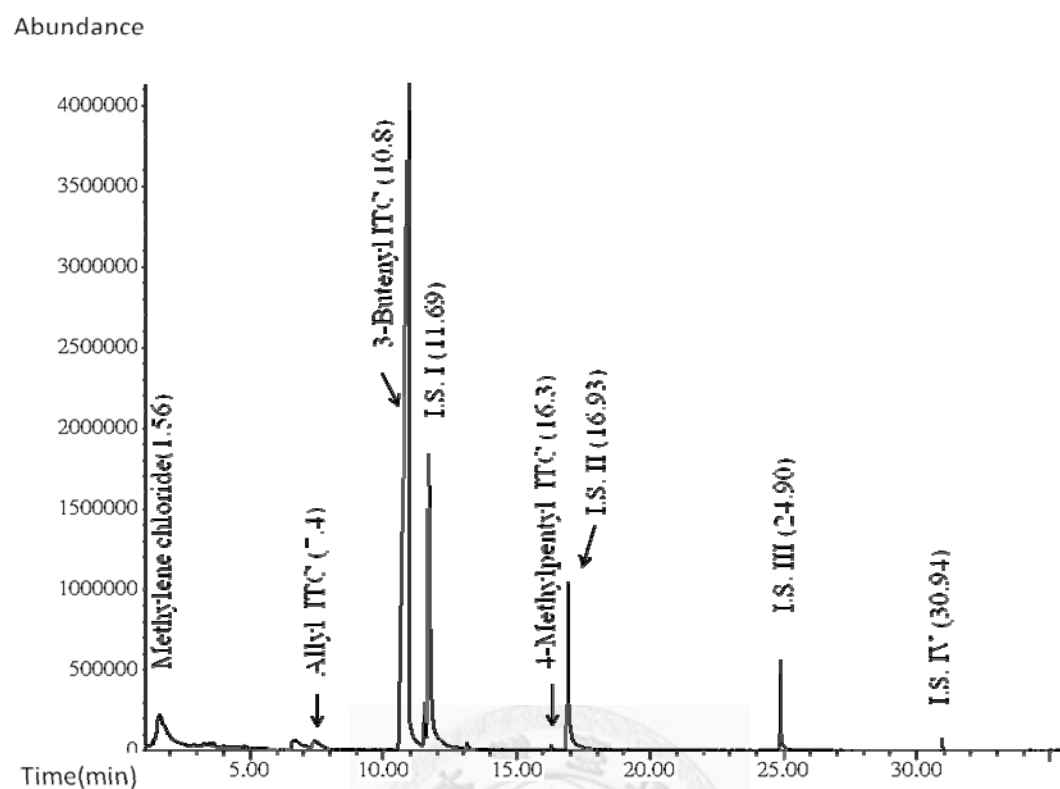


圖 31. ‘白花尖葉大心芥藍’ 60 天葉片之總離子質譜層析圖。

Fig. 31. GC/MS total ion chromatogram of “white flower, sharp leaf, thick stem Ge-lan” Chinese kale leaves after planting 60 days.

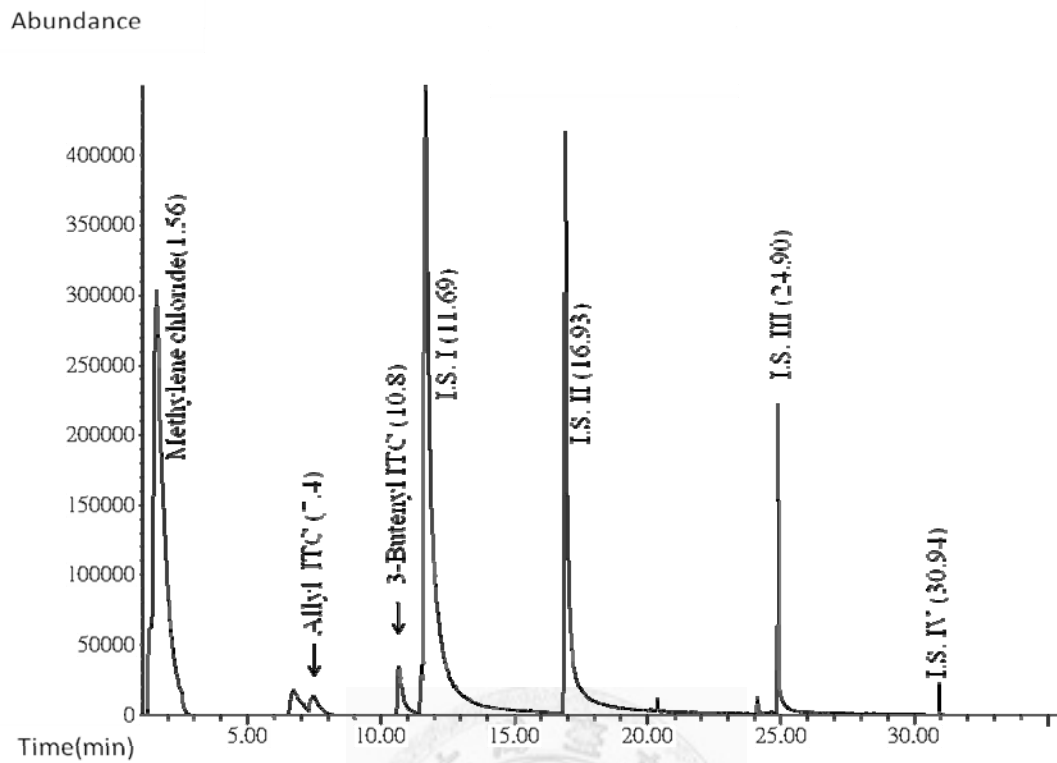


圖 32. ‘蕙津’ 30 天葉片之總離子質譜層析圖。

Fig. 32. GC/MS total ion chromatogram of “Veg Gin” Chinese kale leaves after planting 30 days.

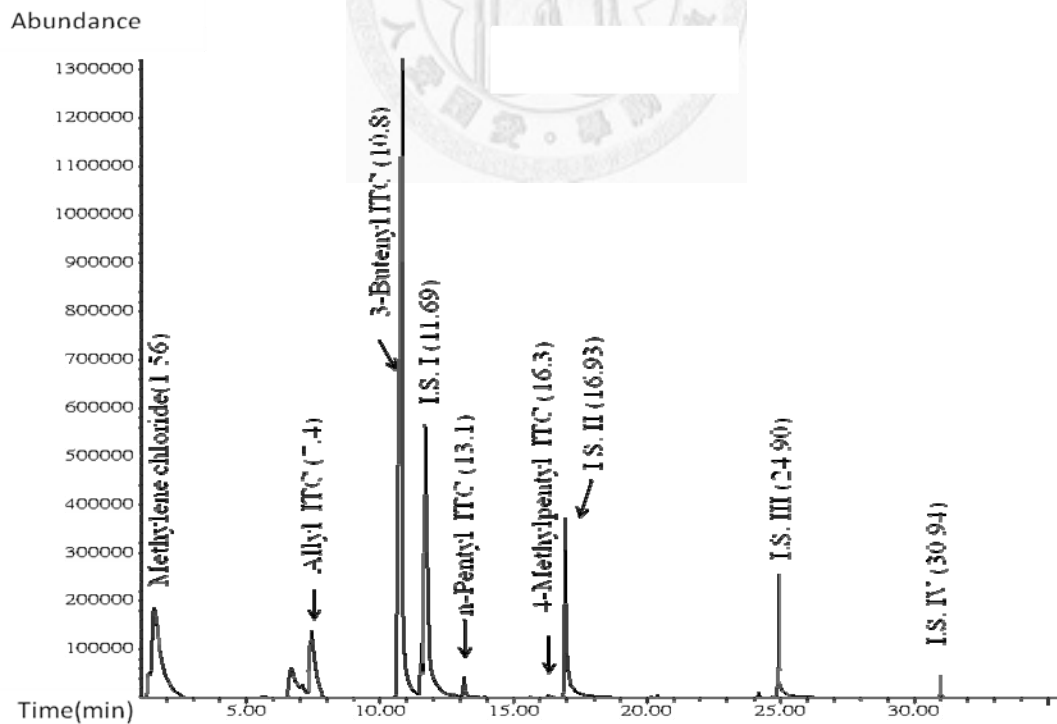


圖 33. ‘蕙津’ 45 天葉片之總離子質譜層析圖。

Fig. 33. GC/MS total ion chromatogram of “Veg Gin” Chinese kale leaves after planting 45 days.

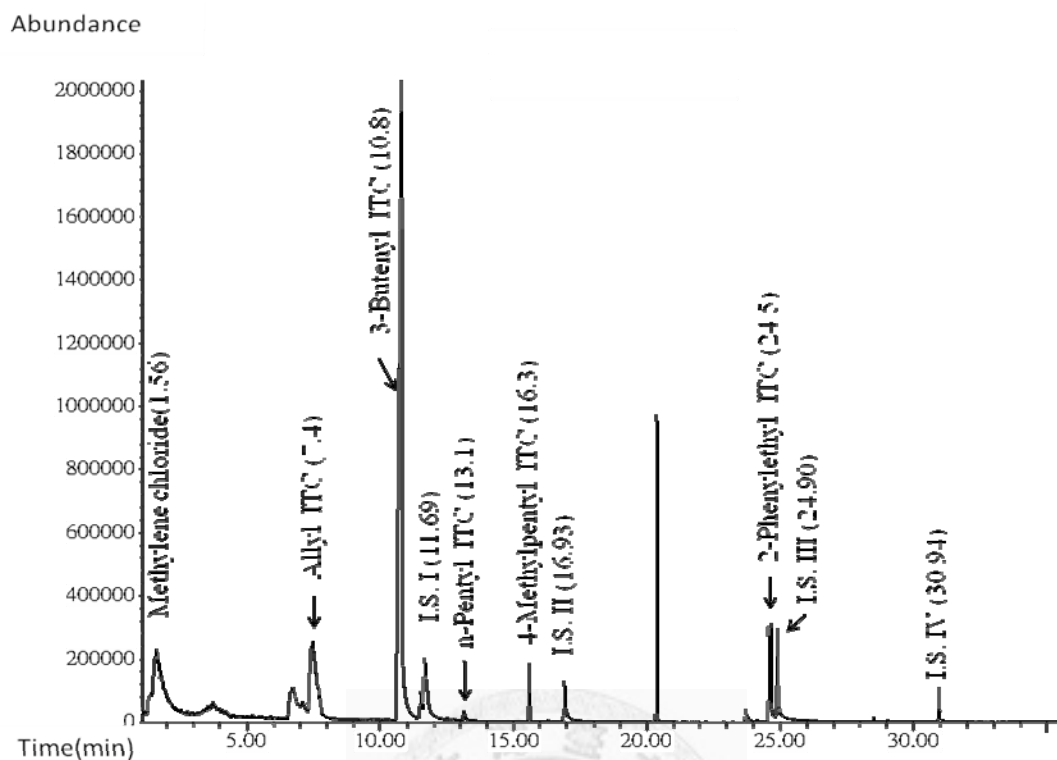


圖 34. ‘蕙津’ 60 天葉片之總離子質譜層析圖。

Fig. 34. GC/MS total ion chromatogram of “Veg Gin” Chinese kale leaves after planting 60 days.

表 3、八種芥藍不同發育階段所測得異硫氰酸酯種類。

Table 3. Eight Chinese kale measured at different developmental stages of species isothiocyanate

(1.白格林；2.翠津；3.黑芥藍；4.翠寶；5.平面長黑格藍；6.格林；7.白花尖葉大心芥藍；8.蕙津；

a: Allyl ITC；b: 3-Butenyl ITC；c: 4-Methylpentyl ITC；d: n-Pentyl ITC；e: 2-Phenylethyl ITC；

ND: 未檢測出)

	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
30 天	abc	abc	bc	(ND)	bc	abc	ab	ab
45 天	abc	abc	abc	abc	bc	abc	bc	abcd
60 天	abc	abcd	bc	abc	bc	abc	abc	abcde

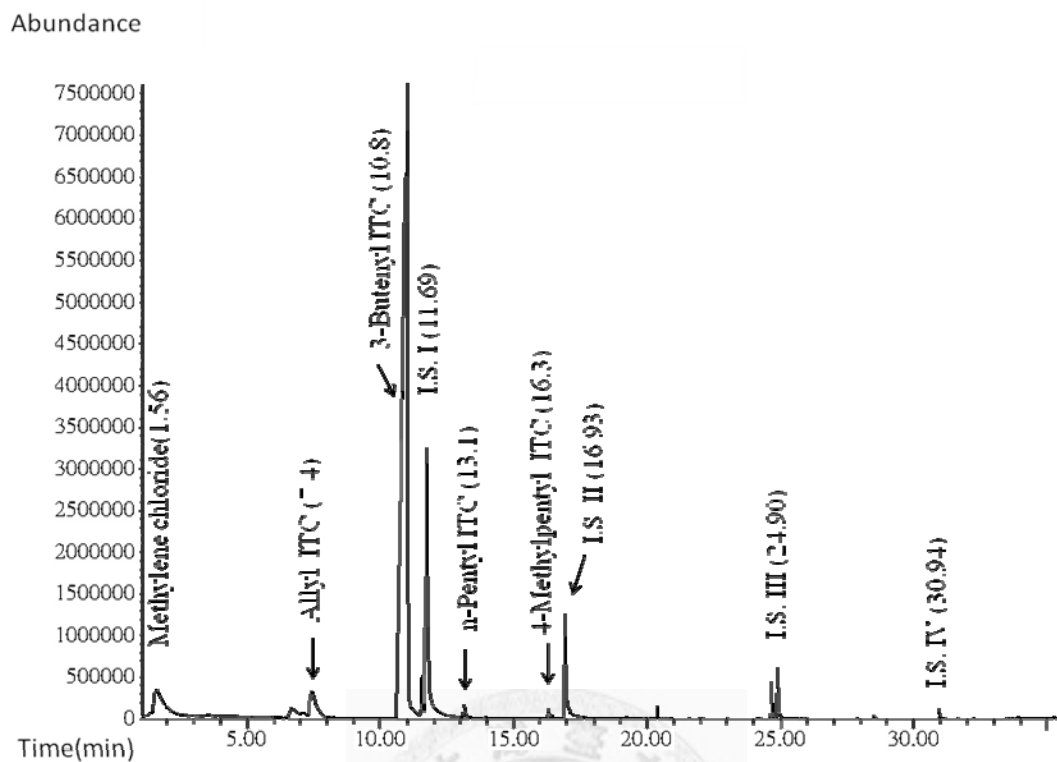


圖 35. ‘翠津’ 葉片之總離子質譜層析圖。

Fig. 35. GC/MS total ion chromatogram of “Chui-jin” Chinese kale leaves.

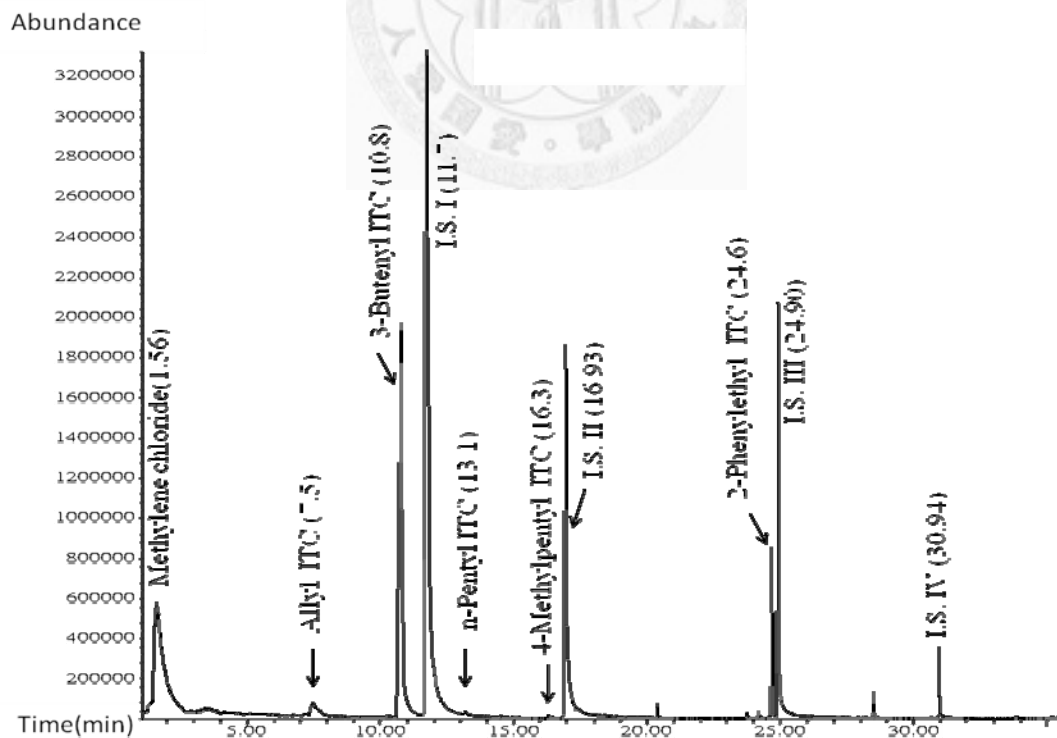


圖 36. ‘翠津’ 莖部之總離子質譜層析圖。

Fig. 36. GC/MS total ion chromatogram of “Chui-jin” Chinese kale stems.

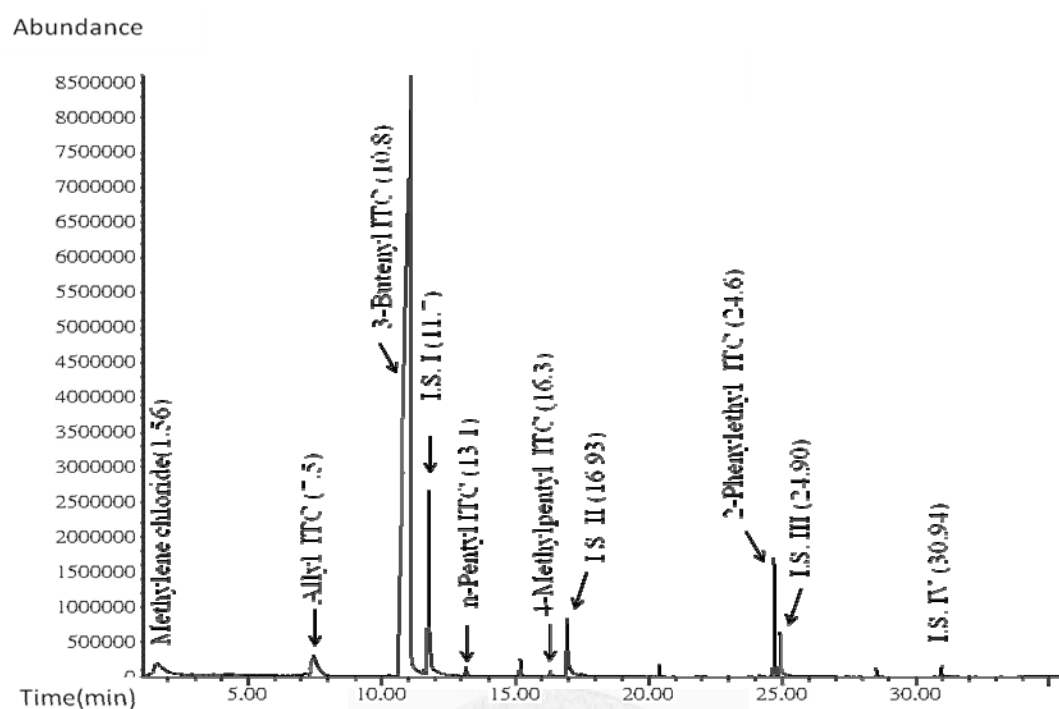


圖 37. ‘翠津’花苔之總離子質譜層析圖。

Fig. 37. GC/MS total ion chromatogram of “Chui-jin” Chinese kale flowers.

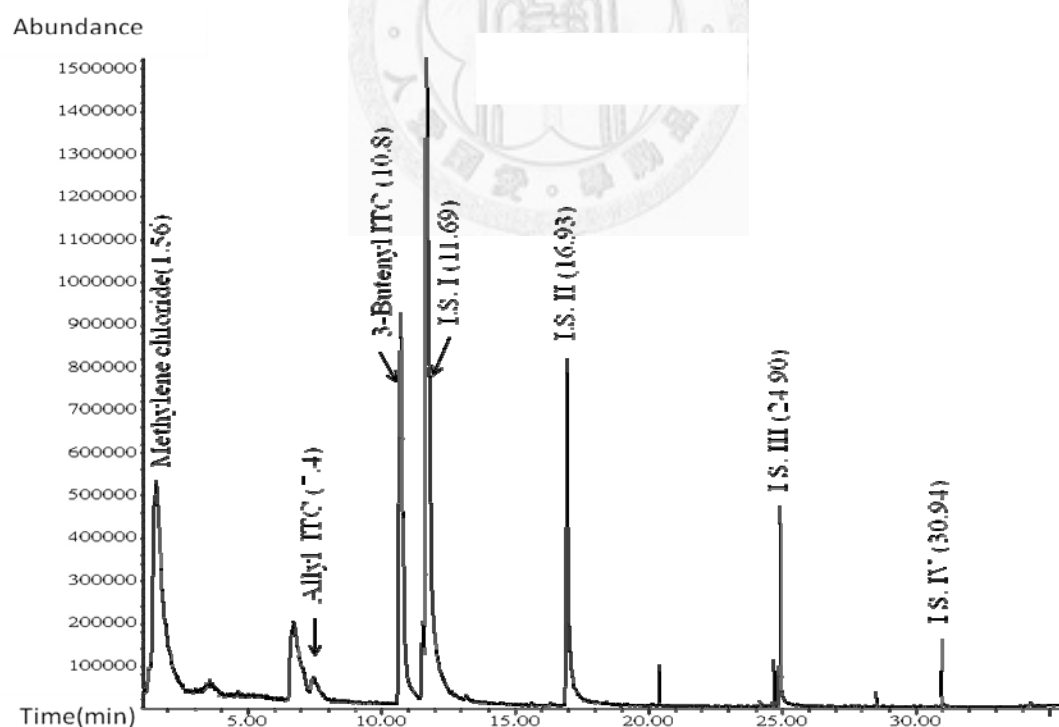


圖 38. 被昆蟲啃食過之‘翠津’葉片總離子質譜層析圖。

Fig. 38. GC/MS total ion chromatogram of “Chui-jin” Chinese kale leaves ingested by insects herbivores.

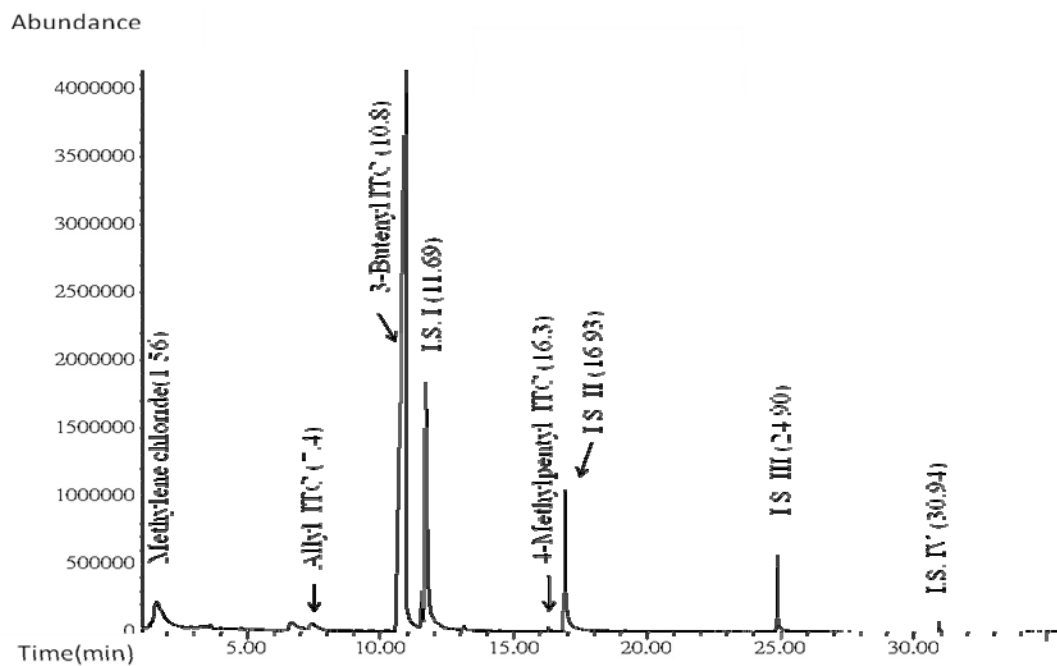


圖 39. ‘白花尖葉大心芥藍’ 葉片之總離子質譜層析圖。

Fig. 39. GC/MS total ion chromatogram of “white flower, sharp leaf, thick stem Ge-lan” Chinese kale leaves.

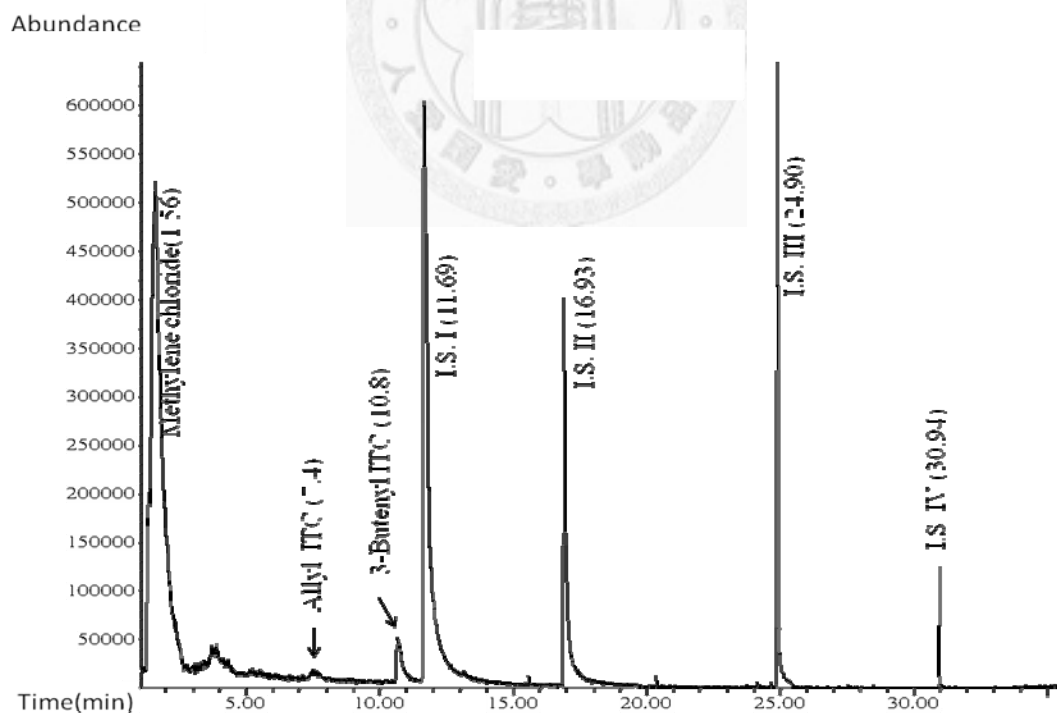


圖 40. ‘白花尖葉大心芥藍’ 莖部之總離子質譜層析圖。

Fig. 40. GC/MS total ion chromatogram of “white flower, sharp leaf, thick stem Ge-lan” Chinese kale stems.

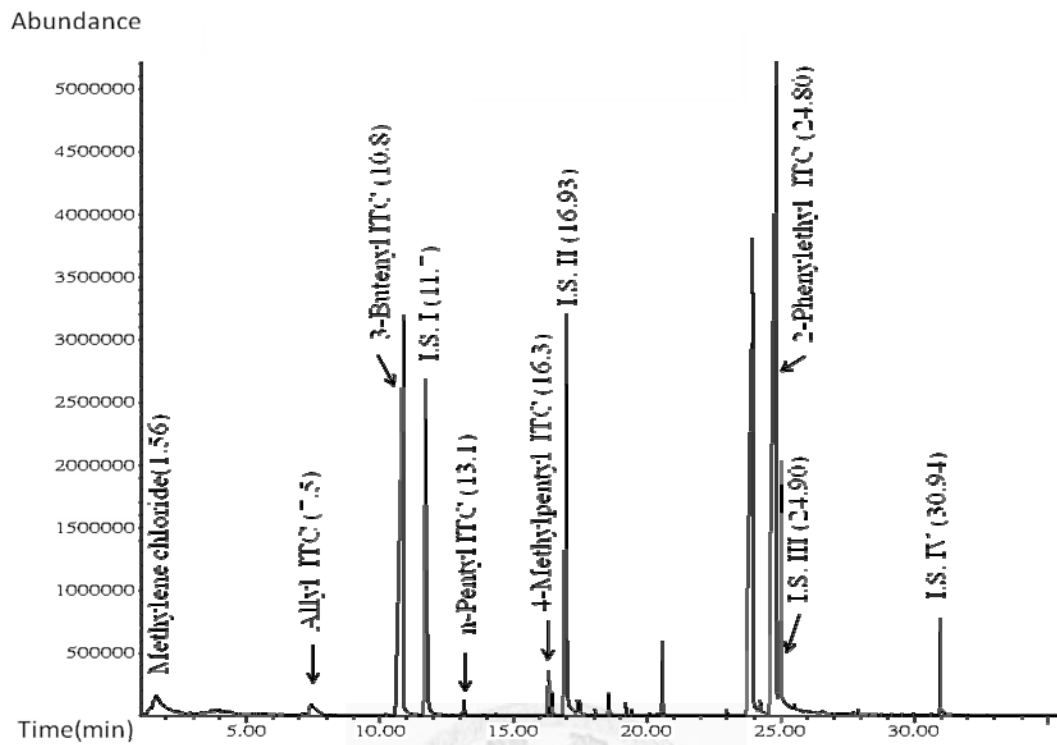


圖 41. ‘白花尖葉大心芥藍’根部之總離子質譜層析圖。

Fig. 41. GC/MS total ion chromatogram of “white flower, sharp leaf, thick stem Ge-lan” Chinese kale roots.

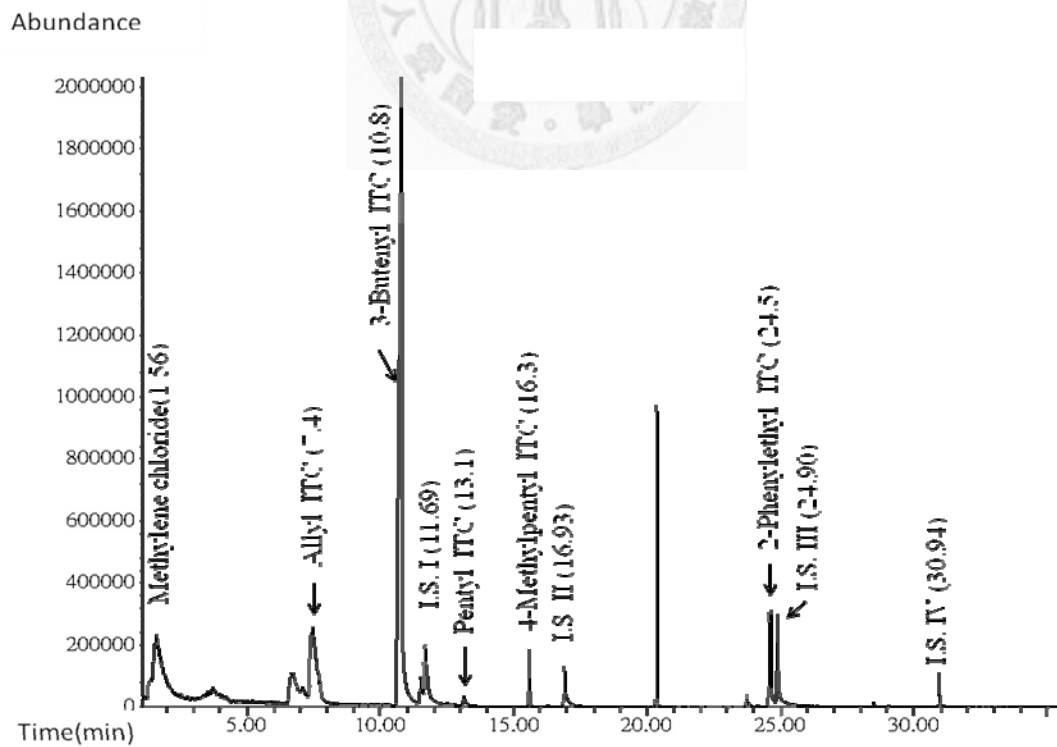


圖 42. ‘薺津’葉片之總離子質譜層析圖。

Fig. 42. GC/MS total ion chromatogram of “Veg Gin” Chinese kale leaves.

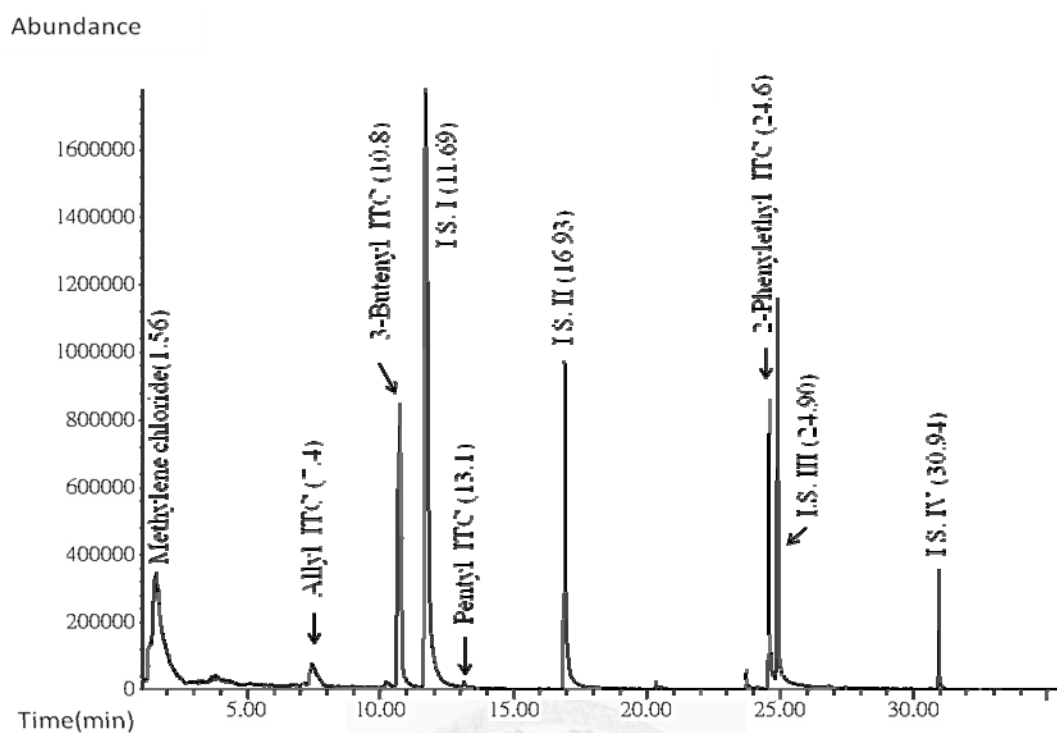


圖 43. ‘蕙津’ 莖部之總離子質譜層析圖。

Fig. 43. GC/MS total ion chromatogram of “Veg Gin” Chinese kale stems

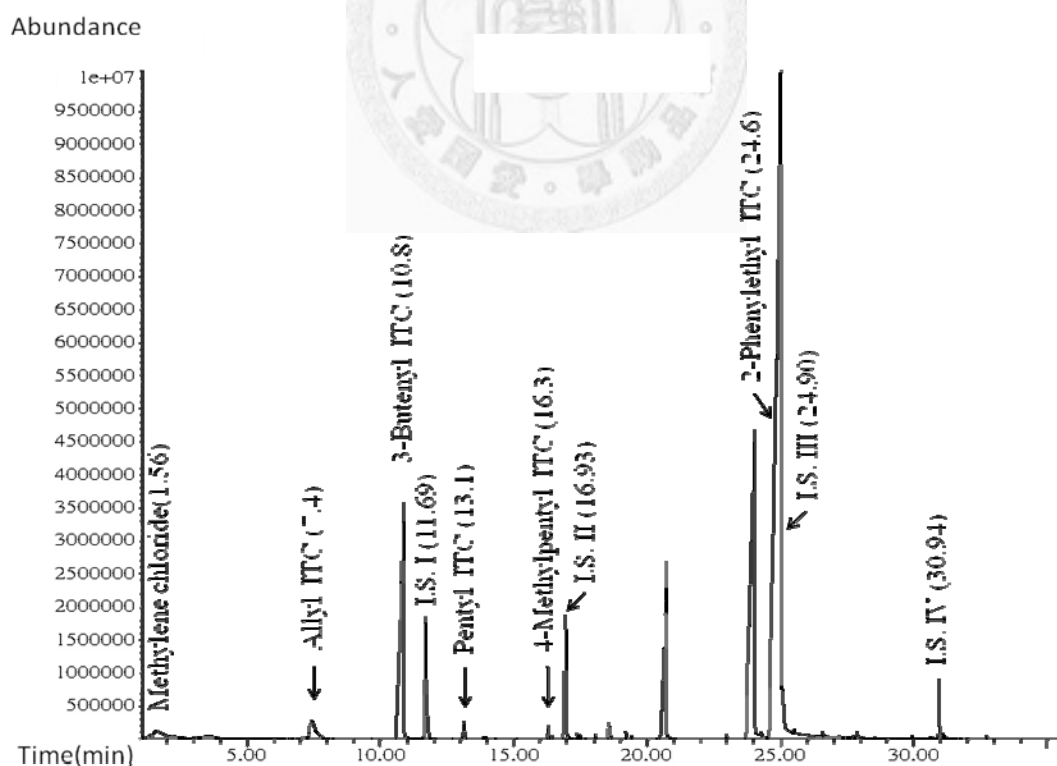


圖 44. ‘蕙津’ 根部之總離子質譜層析圖。

Fig. 44. GC/MS total ion chromatogram of “Veg Gin” Chinese kale roots.

表 4、芥藍不同器官所測得異硫氰酸酯種類。

Table 4. Isothiocyanates had measured in different organs of Chinese kale.

(a: Allyl ITC ; b: 3-Butenyl ITC ; c: 4-Methylpentyl ITC ; d: n-Pentyl ITC ; e: 2-Phenylethyl ITC)

	2.翠津	7.白花尖葉大心芥藍	8.蕙津
葉片	abcd	abc	abcde
莖部	abcde	ab	abde
根部	(未測)	abcde	abcd
花苔	abcde	(未測)	(未測)
被蟲攝食葉片	ab	(未測)	e

表 5、內標準品及其對應定量之指標化合物。

Table 5. Indicator compounds and related internal standards for quantitation.

內標準品	指標化合物
Internal standards	Indicator compounds
1,4 - dichlorobezene-d4	Allyl ITC 3-Butenyl ITC
naphthalene-d8	n-Pentyl ITC 4-Methylpentyl ITC 2-Phenylethyl ITC

表 6、所有參試樣品之指標化合物相對校正量。

Table 6. Calibrated abundance of indicator compounds of test samples.

R.T.	7.4	10.8	13.1	16.3	24.5
Compound name	Allyl ITC	3-Butenyl ITC	n-Pentyl ITC	4-Methylpentyl ITC	2-Phenylethyl ITC
芥藍					
白格林 30 天	7151201.05	36127007.33	ND	8392756.15	ND
白格林 45 天	524480.07	8117940.66	ND	167623.20	ND
白格林 60 天	2689549.36	81799552.87	ND	784107.07	ND
翠津 30 天	50248079.35	281064079.04	ND	4482333.99	ND
翠津 45 天	6245871.02	12590780.95	ND	1561811.56	ND
翠津 60 天	4239694.74	21448701.08	668052.70	384589.70	ND
黑芥藍 30 天	ND	147391.11	ND	56610.34	ND
黑芥藍 45 天	299726.89	93756656.93	ND	1766831.60	ND
黑芥藍 60 天	ND	26002748.51	ND	109899.53	ND
翠寶 30 天	ND	ND	ND	ND	ND
翠寶 45 天	733926.04	2057408.05	ND	36115.94	ND
翠寶 60 天	340541.54	778319.30	ND	10211.45	ND
平面長黑格藍 30 天	ND	167622.72	ND	465798.44	ND
平面長黑格藍 45 天	ND	8060986.99	ND	24843.74	ND
平面長黑格藍 60 天	ND	39835924.55	ND	42205.36	ND

表 6、(續)。

Appendix 6. (continued).

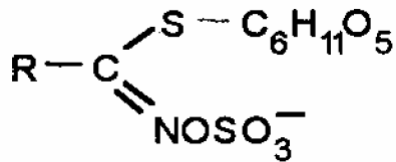
R.T.	7.4	10.8	13.1	16.3	24.5
Compound name	Allyl ITC	3-Butenyl ITC	n-Pentyl ITC	4-Methylpentyl ITC	2-Phenylethyl ITC
芥藍					
格林 30 天	5317848.06	25786246.64	ND	233240.67	ND
格林 45 天	284544.61	5279183.04	ND	26133.43	ND
格林 60 天	1069372.29	81639201.44	ND	380584.36	ND
白花尖葉大心芥藍 30 天	3229643.29	34238993.83	ND	16841.21	ND
白花尖葉大心芥藍 45 天	ND	3525203.54	ND	3872.56	ND
白花尖葉大心芥藍 60 天	1162374.41	72254825.40	ND	107893.42	ND
蕙津 30 天	5137058.08	15670277.10	ND	ND	ND
蕙津 45 天	6789192.85	45409210.96	585310.95	50262.96	ND
蕙津 60 天	41840518.00	195629019.00	1836942.00	4087847.00	18020650.00



附錄

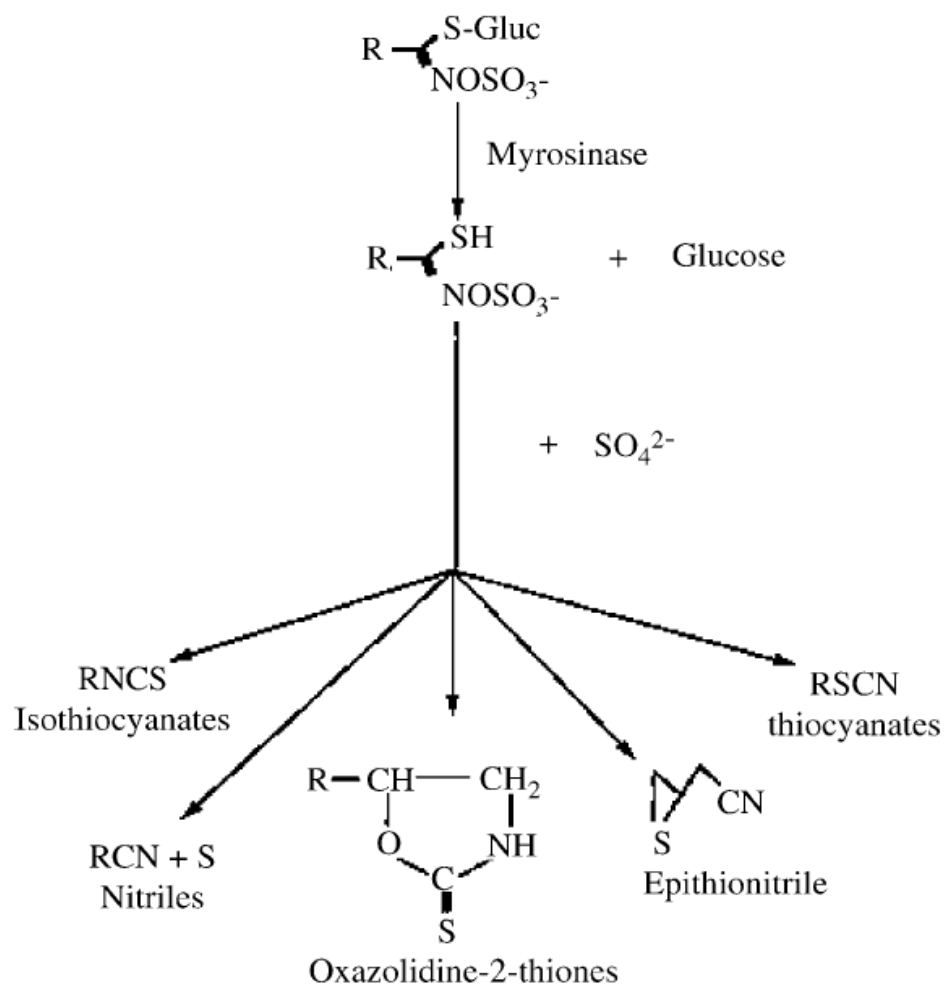
附錄1、硫糖苷的基本化學構造。

Appendix 2. The chemical structure of glucosinolates. (Jones et al., 2006)



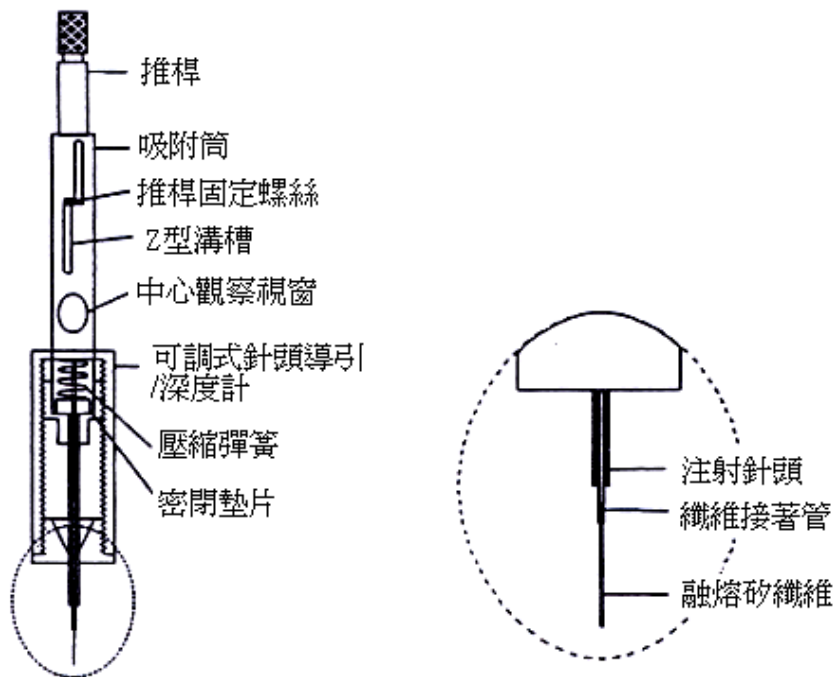
附錄2、硫糖苷的水解過程。

Appendix 3. The hydrolysis of glucosinolates. (Jones et al., 2006)



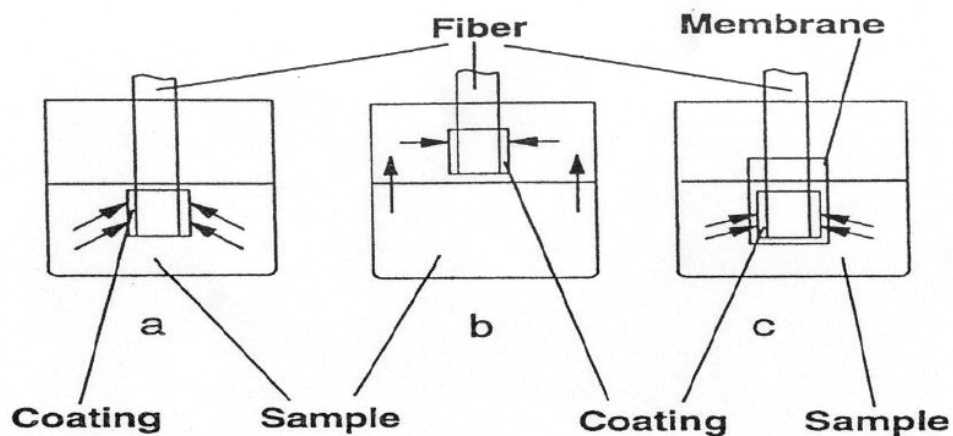
附錄 3、固相微萃取操作流程圖。

Appendix 5. SPME operation flow chart (Pawliszyn, 1997) .



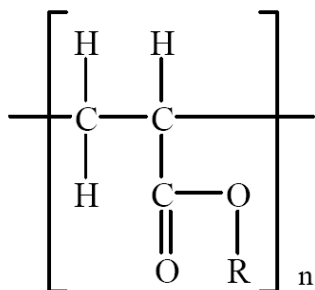
附錄 4、固相微萃取萃取方式：(a) 直接浸入式萃取 (b) 頂空式萃取 (c) 薄膜保護式萃取。

Appendix 4. SPME extraction methods: (a) direct immersion extraction (b) headspace extraction (c) protect the extraction of membrane (Pawliszyn, 1997) .

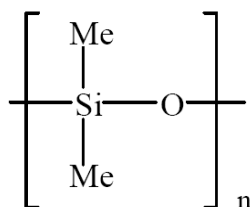


附錄 5、市售常見固相微萃取吸附材質之化學結構式。

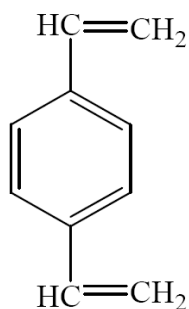
Appendix 5. commercially available common materials SPME of chemical structures.



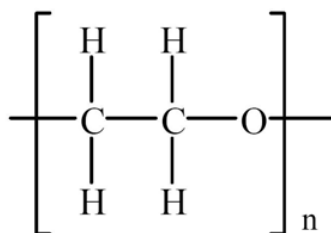
Poly-acrylate(PA)



Poly-dimethylsiloxane(PDMS)



Divinylbenzene(DVB)



Carbowax (Car)

附錄 6、固相微萃取纖維塗覆種類及其適用性。

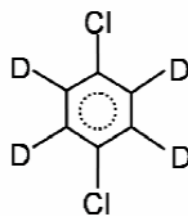
Appendix 6. SPME fiber coating types and their applicability.

固相材質/塗覆厚度(μm)	鍵結模式	適用儀器	適用之分析物性質
Polydimethylsiloxane(PDMS)			
100	Non-bonded	GC/HPLC	低分子量高揮發性物質
30	Non-bonded	GC/HPLC	低極性半揮發性物質
7	Bonded	GC/HPLC	中、低極性揮發性物種
Polydimethylsiloxane/Divenylbenzene(PDMS/DVB)			
65	Partially crosslinked	GC	揮發性物質
60	Partially crosslinked	HPLC	一般分析用，此材質吸附效果佳、脫附速度快
Polyacrlate(PA)			
85	Partially crosslinked	GC/HPLC	高極性半揮發性物質
Polydimethylsiloxane/Carbonxen(PDMS/Car)			
75	Partially crosslinked	GC	適用半揮發性物質
Carbowax/Divinylbenzene(CW/DVB)			
65	Partially crosslinked	GC	極性分析物質
Carbowax/Tempplayed Resin(CW/TPR)			
50	Partially crosslinked	HPLC	界面活性劑

附錄7、含氬內標準品之結構式。

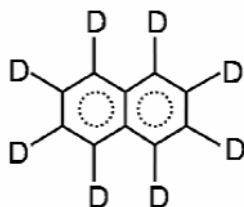
Appendix 7. Chemical structures of deuterium-containing internal standards.

I.S. I



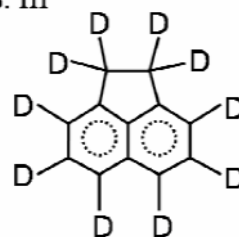
1,4-dichlorobenzene-d₄

I.S. II



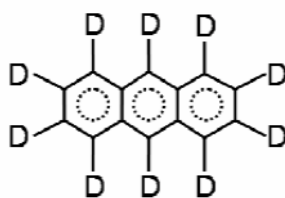
naphthalene-d₈

I.S. III



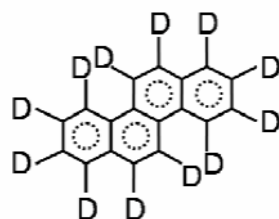
acenaphthene-d₁₀

I.S. VI



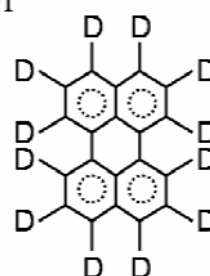
anthracene-d₁₀

I.S. V



chrysene-d₁₂

I.S. VI

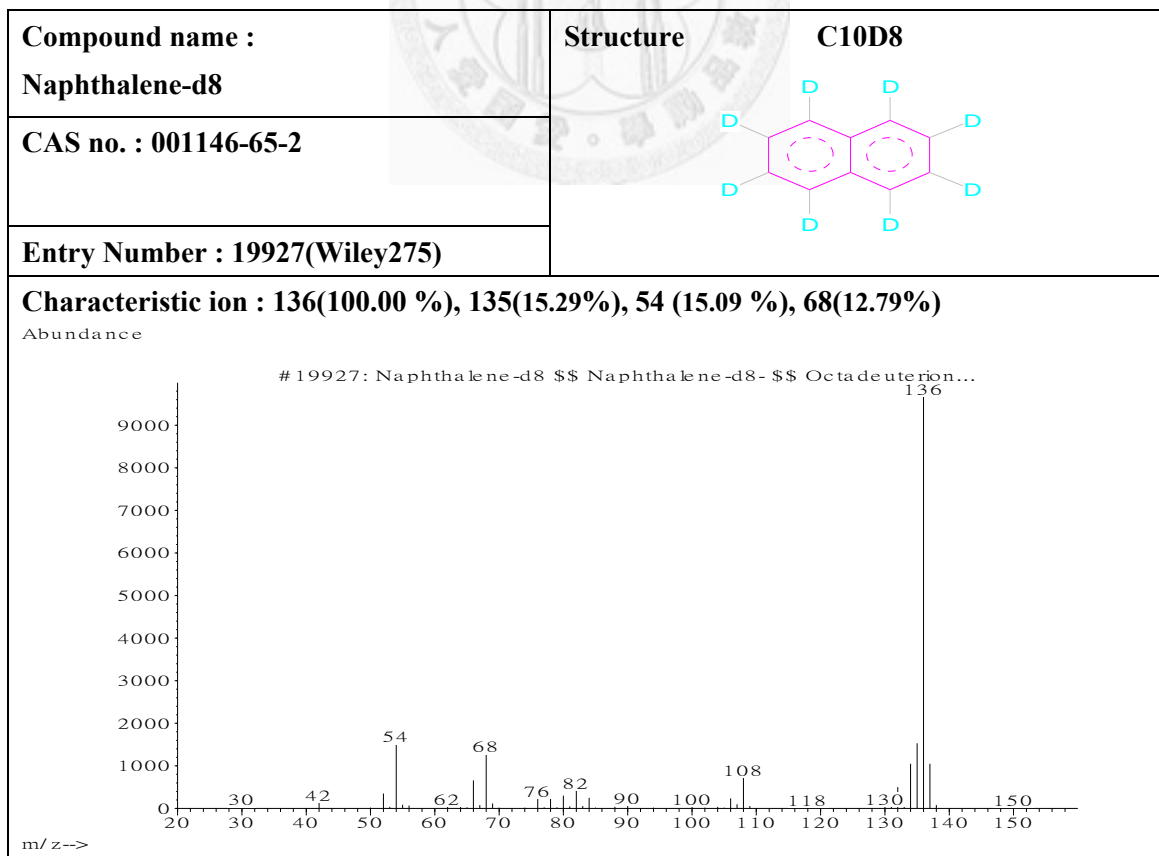
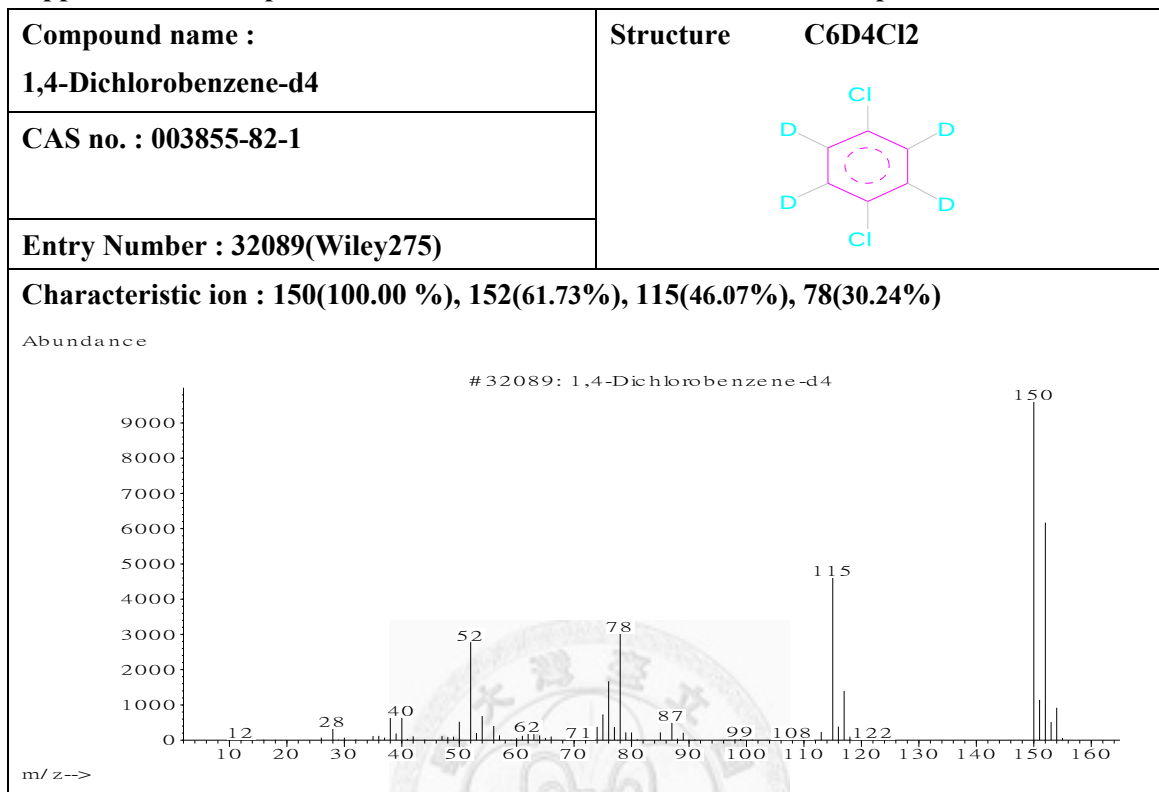


perylene-d₁₂



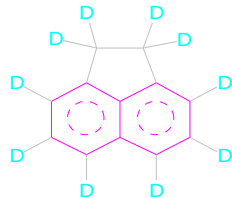
附錄8、標準品質譜資料。

Appendix 8. Mass spectrum information of standards used in this experiment.

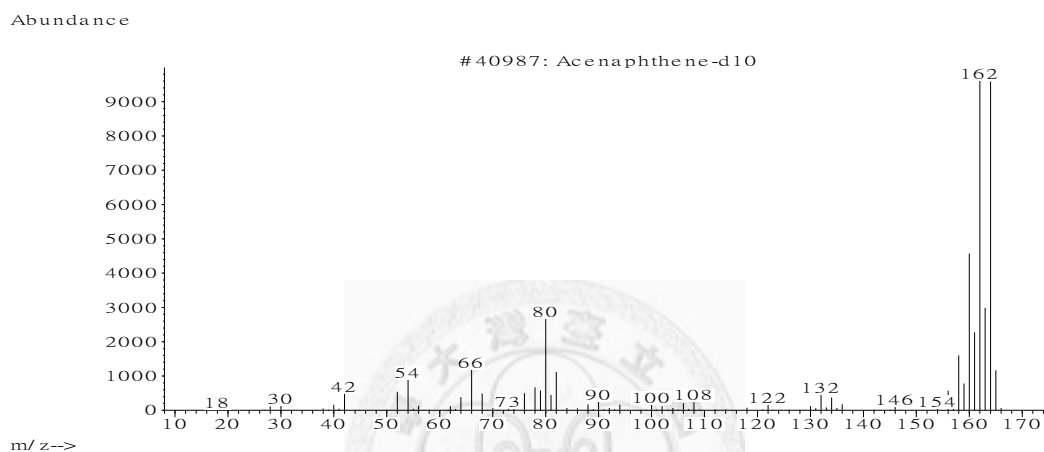


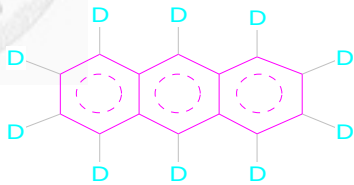
附錄8、(續)。

Appendix 8. (continued).

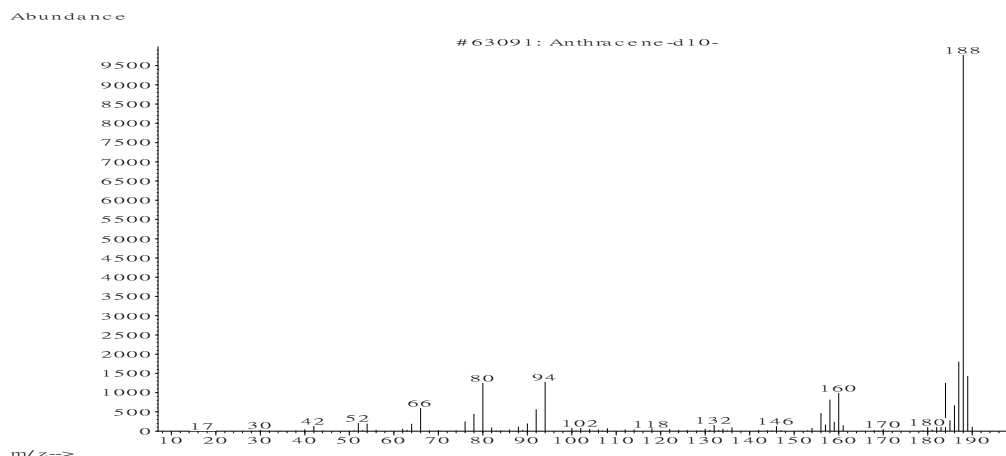
Compound name : Acenaphthene-d10	Structure C12D10 
CAS no. : 015067-26-2	
Entry Number : 40987(Wiley275)	

Characteristic ion : 162(100.00 %), 164(95.89%), 160(45.76%), 163(29.87%)



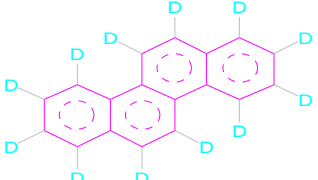
Compound name : Anthracene-d10-	Structure C14D10 
CAS no. : 001719-06-8	
Entry Number : 63091(Wiley275)	

Characteristic ion : 188(100.00 %), 187(%), 189(%), 94(%)

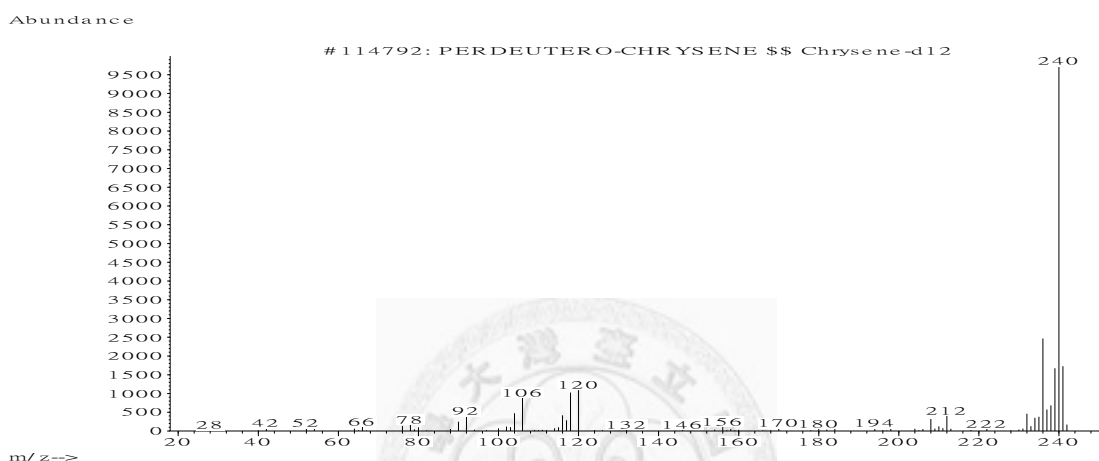


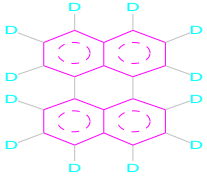
附錄8、(續)。

Appendix 8. (continued).

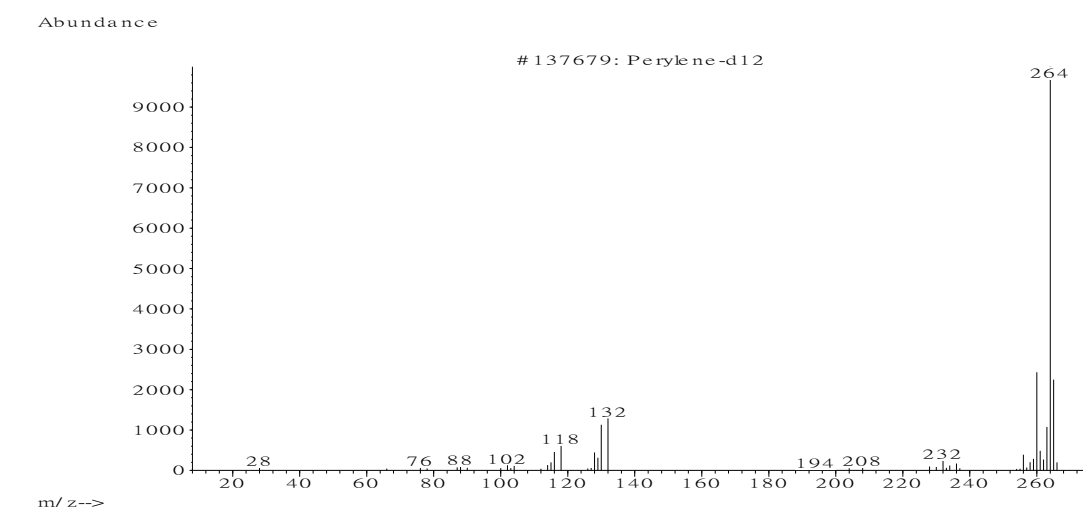
Compound name : Chrysene-d12	Structure C18D12 
CAS no. : 001719-03-5	
Entry Number : (Wiley275)	

Characteristic ion : 240(100.00 %), 236(24.67%), 241(17.30%), 239(16.73%)



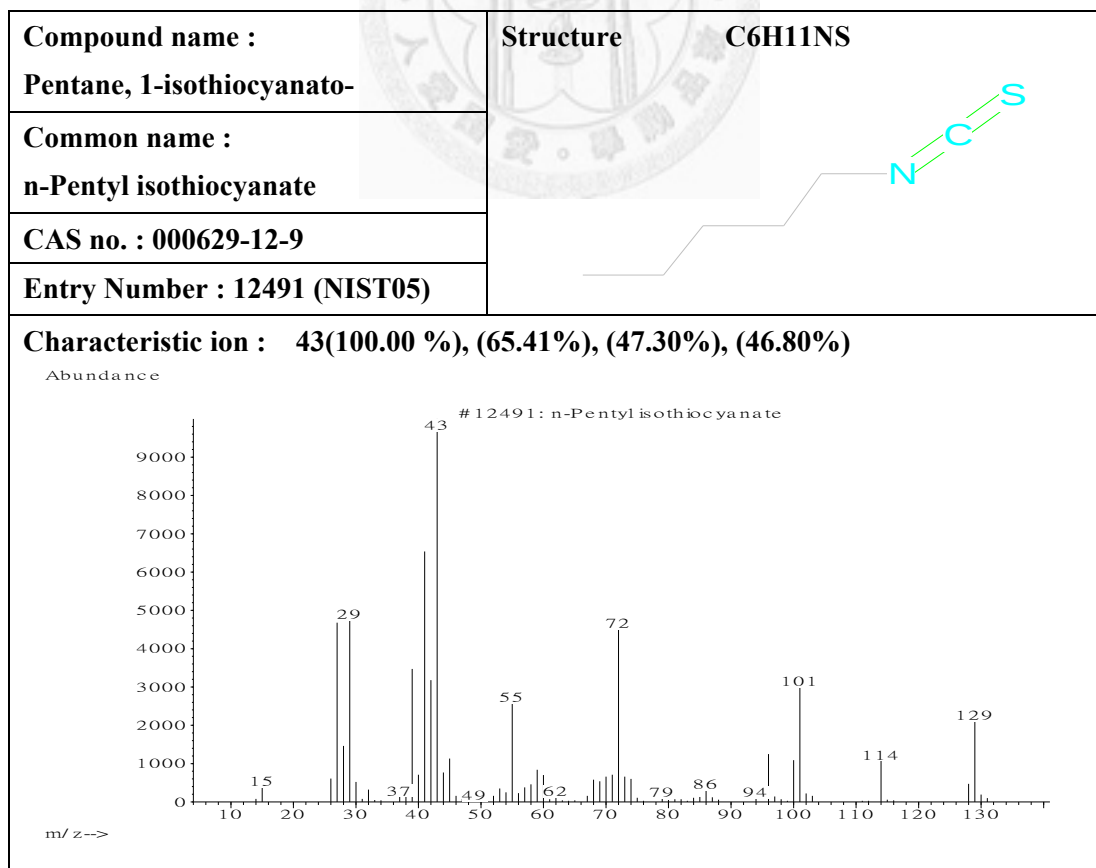
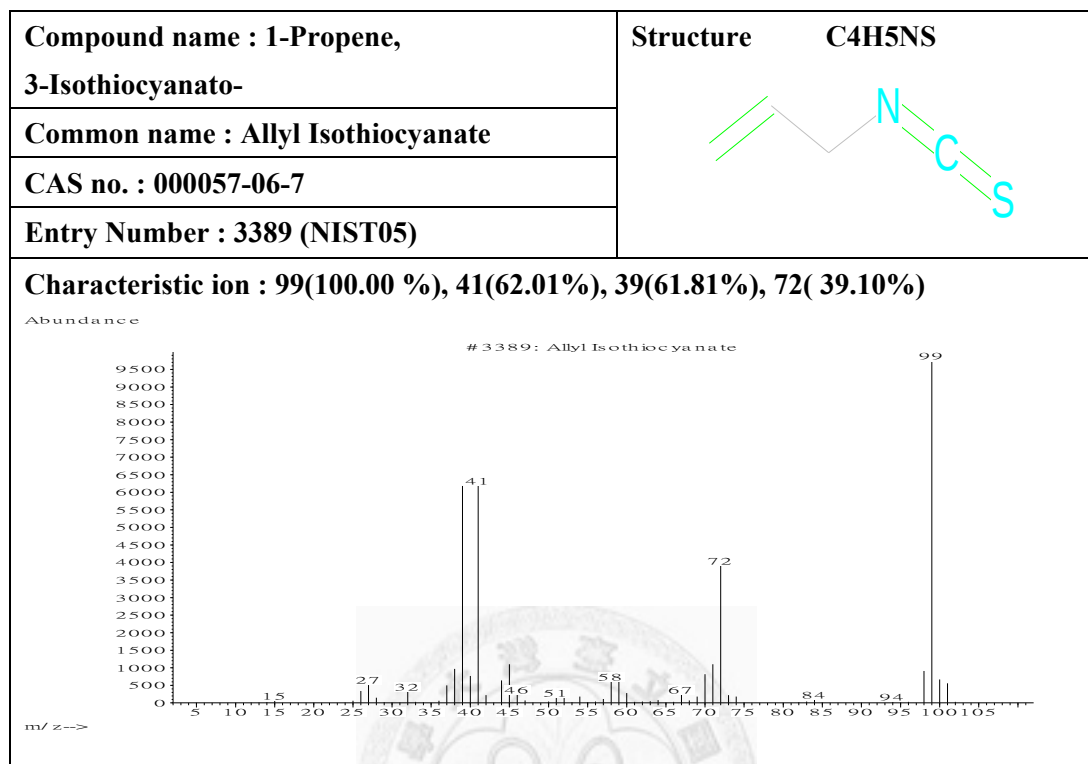
Compound name : Perylene-d12	Structure C20D12 
CAS no. : 001520-96-3	
Entry Number : 137679 (Wiley275)	

Characteristic ion : 264(100.00 %), 260(24.30%), 265(22.47%), 132(12.91%)



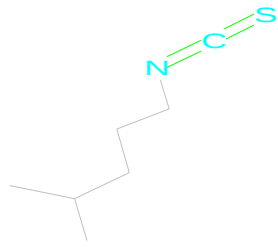
附錄9、指標化合物之特性離子。

Appendix 9. Characteristic ions and ratio (to maximum abundance ion) of indicator compounds.

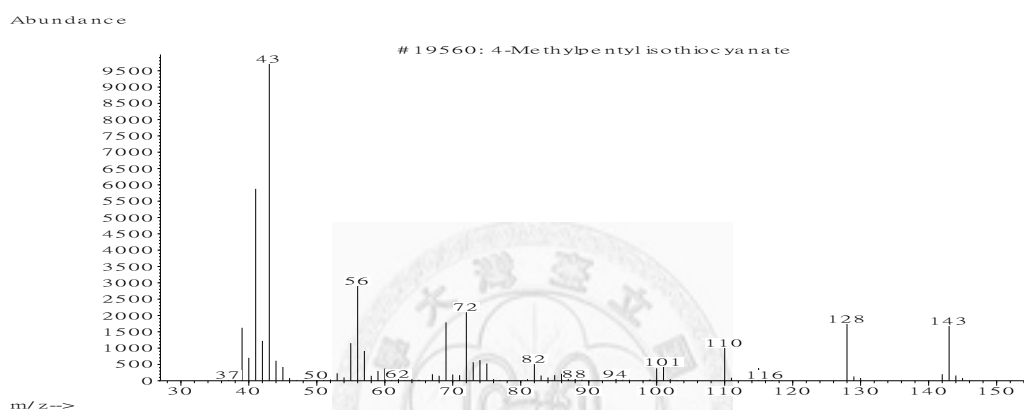


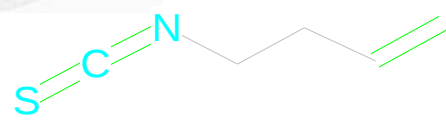
附錄9、(續)。

Appendix 9. (continued).

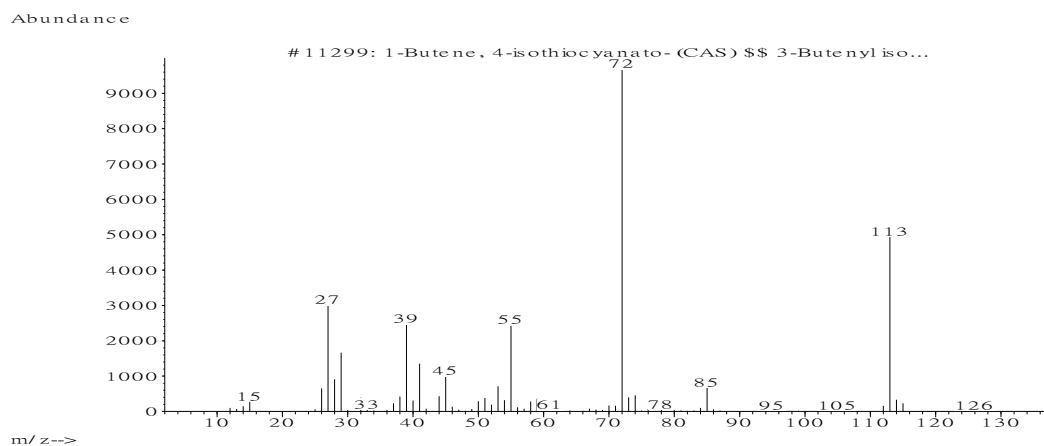
Compound name : 1-Isothiocyanato-4-methylpentane	Structure C₇H₁₃NS 
Common name : 4-Methylpentyl isothiocyanate	
CAS no. : 017608-07-0	
Entry Number : 19560 (NIST05)	

Characteristic ion : 43(100.00 %), 41(58.81%), 56(29.00%), 72(21.00%)



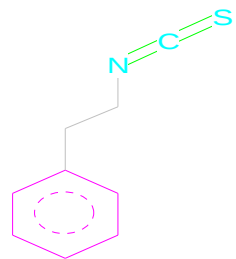
Compound name : 1-Butene, 4-isothiocyanato-	Structure C₅H₇NS 
Common name : 3-Butenyl isothiocyanate	
CAS no. : 003386-97-8	
Entry Number : 11299 (Wiley275)	

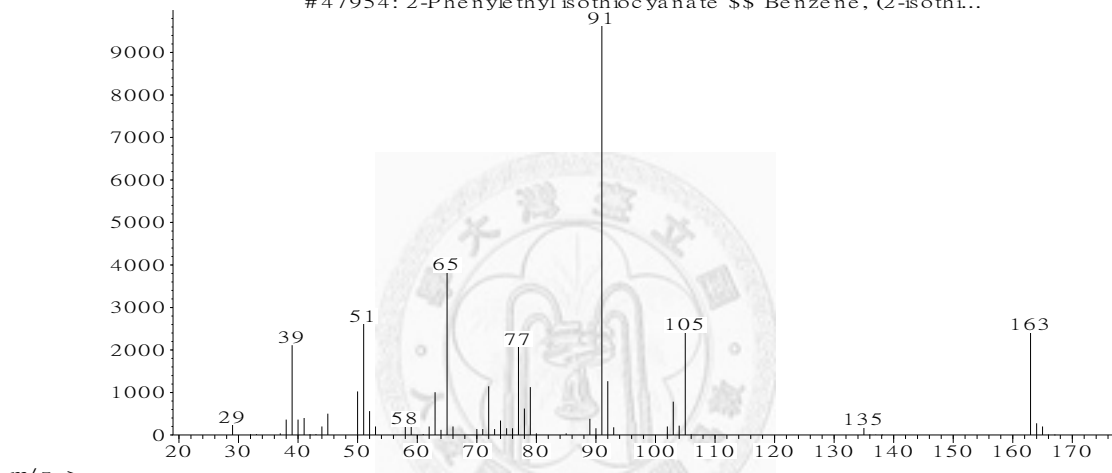
Characteristic ion : 72(100.00 %), 113(49.34%), 27(30.03%), 39(24.62%)



附錄9、(續)。

Appendix 9. (continued).

Compound name : Benzene, (2-isothiocyanatoethyl)-	Structure C9H9NS 
Common name : 2-Phenylethyl isothiocyanate	
CAS no. : 002257-09-2	
Entry Number : 47954(Wiley275)	

Characteristic ion : 91(100.00 %), 65(38.23%), 51(26.15 %), 105(24.14%)	
Abundance	
# 47954: 2-Phenylethyl isothiocyanate \$\$ Benzene, (2-isothi...	
	
m/ z-->	