
分类号：TS209

单位代码：10363

密 级：公开

学 号：2210510108

预处理富集西兰花茎中萝卜硫素代谢组学研究及产品
开发

Metabolomics of sulforaphane in pro-treated enriched
broccoli stems and product development

学生姓名：_____廖薛羿_____

指导老师：_____张玉红（研究员）、张国强（教授）_____

专 业：_____食品科学与工程_____

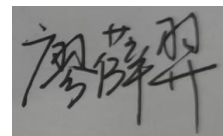
研究方向：_____食品生物技术_____

论文答辩日期：_____2025 年 5 月 15 日_____

安徽工程大学学位论文原创性声明

本人郑重声明：我恪守学术道德，崇尚严谨学风。所呈交的学位论文，是本人在导师的指导下，独立进行研究工作所取得的成果。除文中已明确注明和引用的内容外，本论文不包含任何其他个人或集体已经发表或撰写过的作品及成果的内容。论文为本人亲自撰写，我对所写的内容负责，并完全意识到本声明的法律后果由本人承担。

学位论文作者签名：



日期：2025 年 5 月 15 日

安徽工程大学学位论文版权使用授权书

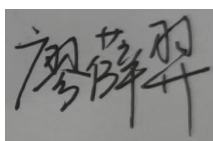
学位论文作者完全了解学校有关保留、使用学位论文的规定，同意学校保留并向国家有关部门或机构送交论文的复印件和电子版，允许论文被查阅或借阅。本人授权安徽工程大学可以将本学位论文的全部或部分内容编入有关数据库进行检索，可以采用影印、缩印或扫描等复制手段保存和汇编本学位论文。

保密 ☐，在 ____ 年解密后适用本版权书。

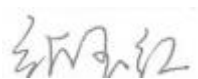
本学位论文属于

不保密 ☒。

学位论文作者签名：



指导教师签名：



日期：2025 年 5 月 15 日

日期：2025 年 5 月 15 日

预处理富集西兰花茎中萝卜硫素代谢组学研究及产品开发

摘 要

西兰花作为我国广泛种植的一种农作物，其营养价值和产品开发近年来开始备受关注。研究表明，西兰花中富含大量的功能活性成分，其中以硫苷类物质最为特殊。硫代葡萄糖苷及其水解产物异硫氰酸酯不仅是植物自身的化学防御物质，还展现出抗癌活性、炎症调控、微生物抑制、自由基清除和免疫调节等多重生物效应。萝卜硫素作为上世纪 50 年代被发现的异硫氰酸盐，其合成机制、降解机制以及生理功能受到了广泛的研究。通过加热和外源添加物质来调控西兰花芽苗中萝卜硫素含量的研究已经屡见不鲜，而想要达成这一目的就绕不开硫代葡萄糖苷的降解，但有关于在西兰花茎中萝卜硫素的富集及硫代葡萄糖苷的降解机制的相关研究还鲜有报道，目前尚未见针对西兰花茎的代谢组学研究报道。因此本实验以品种名为“优秀”的西兰花茎为试验材料，重点研究了在不同预处理下西兰花茎中萝卜硫素的含量变化情况，在此基础上选择预处理后萝卜硫素富集效果最显著的一组处理进行代谢组学研究，探究西兰花茎在预处理下硫代葡萄糖苷的代谢、降解变化，并对西兰花茎进行了深加工，开发出了西兰花酒。研究结果如下：

(1) 加热、硫酸锌溶液及抗坏血酸溶液浸泡均能提高西兰花茎中萝卜硫素的含量，其中加热处理对西兰花茎中萝卜硫素的富集效果

最好，在 50℃条件下加热 1 h 时达到最大，为 $4.16 \pm 0.28 \text{ mg}/100 \text{ g}$ ，是对照组（CK， $1.79 \pm 0.17 \text{ ug}/100 \text{ g}$ ）提高了 2.32 倍。加热不仅可以提高西兰花茎中萝卜硫素的含量，还可以提高其黑芥子酶活性以及总酚含量，降低可溶性蛋白含量。

（2）在第一章的基础上，选择加热组成为代谢组学的样本。通过对三组样本（Boes-A：50℃下加热 1 h；Boes-B：80℃下加热 1 h；Boes-CK：对照组：25℃下加热 1 h）进行代谢物组学分析，共检出代谢物 76 种，其中有 25 种硫代葡萄糖苷，1 种异硫氰酸酯。三组中 Boes-A 与 Boes-B 差异代谢物共有 42 个、Boes-A 与 Boes-CK 差异代谢物共有 39 个、Boes-B 与 Boes-CK 差异代谢物共有 37 个。在检出的 25 种硫代葡萄糖苷中，脂肪族硫代葡萄糖苷以 4-(甲基亚磺酰基)丁基硫苷占比最高，约占西兰花茎中总硫代葡萄糖苷含量的 10%，而吲哚族硫代葡萄糖苷中新葡萄糖芸苔素占主导，约占 49%。Boes-B 组总硫代葡萄糖苷水平最高（显著高于 Boes-CK 组， $p < 0.05$ ），Boes-A 组最低。另外，在西兰花茎中吲哚族硫代葡萄糖苷表现出了比脂肪族硫代葡萄糖苷更强的耐热性，而甲硫基硫代葡萄糖苷则表现得更容易被分解，这些都说明了加热处理条件下西兰花茎中硫代葡萄糖苷的变化情况与其它十字花科植物大不相同。

（3）先通过感官评价法确立了风味最好的发酵比例是西兰花浆：苹果浆 2:1，在该发酵比例下选取了三个因素进行单因素试验，研究发酵温度、接种量和含糖量对西兰花酒中萝卜硫素含量的影响。结果表明，在三个因素的影响下，随着因素水平不断提高，西兰花酒中的

萝卜硫素含量呈现先上升后下降的趋势。通过单因素实验筛选关键参数范围,采用 Box-Behnken 响应面法构建西兰花酒发酵多因素耦合模型,以萝卜硫素含量 (R) 为响应值,含糖量 (A)、发酵温度 (B)、接种量 (C) 为自变量,得到了二次多项回归方程: $R = -22.20281 + 0.637188A + 0.964250B + 1.06625C - 0.000875AB + 0.006875AC - 0.005500BC - 0.013203A^2 - 0.015050B^2 - 0.256250C^2$, 进一步分析得到了最佳发酵条件: 含糖量: 23.5%、发酵温度: 31°C、接种量: 2.1%。在此条件下,西兰花酒中萝卜硫素的含量可以提高到 1.36 mg/100 g。对优化方案中提到的发酵条件进行了验证,得到的西兰花酒中的萝卜硫素含量分别为 1.42 ± 0.06 mg/100 g、 1.32 ± 0.08 mg/100 g、 1.44 ± 0.12 mg/100 g, 符合预测结果,说明模型可靠。

关键词: 西兰花茎, 硫代葡萄糖苷, 萝卜硫素, 代谢组学, 响应面

Metabolomics of sulforaphane in pro-treated enriched broccoli stems and product development

ABSTRACT

Broccoli, a widely cultivated crop in China, has garnered increasing attention in recent years for its nutritional value and product development. Studies have shown that broccoli is rich in functional bioactive compounds, with glucosinolates (GSLs) being particularly notable. Glucosinolates and their degradation products, isothiocyanates, not only protect the plant but also exhibit diverse physiological functions, including anticancer, anti-inflammatory, antimicrobial, antioxidant, and immune-modulating effects. Sulforaphane (SFN), an isothiocyanate discovered in the 1950s, has been extensively studied for its synthesis, degradation mechanisms, and physiological roles. While previous research has focused on regulating SFN content in broccoli sprouts through heating and exogenous additives—primarily via glucosinolate degradation—studies on SFN enrichment and glucosinolate degradation mechanisms in broccoli stems remain scarce, and metabolomic investigations using broccoli stems as raw material are unprecedented. This study utilized "Excellent" broccoli stems to investigate SFN content changes under different stress treatments. The most effective stress

treatment for SFN enrichment was selected for metabolomic analysis to explore glucosinolate metabolism and degradation. Additionally, a deep-processed product, broccoli wine, was developed. Key findings are as follows:

(1) Heating, zinc sulfate solution immersion, and ascorbic acid solution immersion all increased SFN content in broccoli stems. Heating exhibited the most significant enrichment effect, with SFN content peaking at 4.16 ± 0.28 mg/100 g (2.32-fold higher than the control, CK: 1.79 ± 0.17 μ g/100 g) after 1 h at 50°C. Heating also enhanced myrosinase activity and total phenolic content while reducing soluble protein levels.

(2) Based on the first experiment, the heating stress group was selected for metabolomic analysis. Metabolomic profiling of three groups (Boes-A: 50°C for 1 h; Boes-B: 80°C for 1 h; Boes-CK: control at 25°C for 1 h) identified 76 metabolites, including 25 glucosinolates and 1 isothiocyanate. Differential metabolites numbered 42 (Boes-A vs. Boes-B), 39 (Boes-A vs. Boes-CK), and 37 (Boes-B vs. Boes-CK). Among the 25 glucosinolates, aliphatic glucosinolates were dominated by 4-(methylsulfinyl)butyl glucosinolate (10% of total GSLs), while indole glucosinolates were predominantly neoglucobrassicin (49%). Total glucosinolate content was highest in Boes-B (significantly higher than Boes-CK) and lowest in Boes-A. Indole glucosinolates demonstrated

greater heat resistance than aliphatic glucosinolates, whereas methylthioalkyl glucosinolates were more readily degraded, indicating distinct glucosinolate dynamics in broccoli stems under heating compared to other cruciferous plants.

(3) Sensory evaluation identified an optimal fermentation ratio of broccoli pulp to apple pulp (2:1). Single-factor experiments under this ratio examined fermentation temperature, inoculum size, and sugar content on SFN levels in broccoli wine. SFN content initially increased and then declined with rising factor levels. Using SFN content (R) as the response, response surface methodology optimized fermentation conditions (sugar content (A), temperature (B), inoculum size (C)), yielding the quadratic model: $R = -22.20281 + 0.637188A + 0.964250B + 1.06625C - 0.000875AB + 0.006875AC - 0.005500BC - 0.013203A^2 - 0.015050B^2 - 0.256250C^2$.

Optimal conditions were: 23.5% sugar, 31°C, and 2.1% inoculum, achieving SFN content of 1.36 mg/100 g. Three validation trials yielded 1.32 ± 0.08 , 1.44 ± 0.12 , and 1.42 ± 0.06 mg/100 g, confirming the feasibility of response surface optimization for broccoli wine fermentation.

KEY WORDS: broccoli stem; glucosinolates; sulforaphane; metabolomics; response surface methodology

目录

摘 要	III
ABSTRACT	VI
第 1 章 绪论	1
1.1 西兰花的研究进展	1
1.1.1 西兰花主要营养成分与生物活性物质	1
1.1.2 西兰花资源开发利用现状	1
1.2 硫代葡萄糖苷及其降解产物的研究现状	2
1.2.1 硫代葡萄糖苷的国内外研究现状	3
1.2.2 萝卜硫素的国内外研究现状	3
1.3 硫代葡萄糖苷降解途径	4
1.3.1 酶降解	5
1.3.2 热降解	6
1.3.3 化学降解	6
1.3.4 硫代葡萄糖苷降解的影响因素	6
1.4 代谢组学	7
1.4.1 代谢组学简介	7
1.4.2 代谢组学在蔬菜领域中的应用	8
1.5 果酒	8
1.5.1 果酒的酿造方法	9
1.5.2 果酒的研究现状	9
1.6 研究内容及目的意义	9
1.6.1 研究内容	9
1.6.2 研究目的及意义	10
第 2 章 不同预处理对西兰花茎的影响	11
2.1 实验材料与方法	11
2.1.1 实验材料	11

2.1.2 实验试剂	11
2.1.3 实验设备	12
2.1.4 实验方法	12
2.1.4.1 西兰花茎处理	12
2.1.4.2 不同温度处理	12
2.1.4.3 不同硫酸锌浓度处理	12
2.1.4.4 不同抗坏血酸浓度处理	12
2.1.4.5 萝卜硫素含量的测定	13
2.1.4.6 萝卜硫素标准曲线的测定	13
2.1.4.7 黑芥子酶活性的测定	13
2.1.4.8 总酚含量的测定	14
2.1.4.9 可溶性蛋白含量的测定	14
2.1.5 数据统计及分析	14
2.2 结果及分析	14
2.2.1 萝卜硫素标准曲线的测定	14
2.2.2 不同预处理对西兰花茎萝卜硫素含量的影响	15
2.2.3 不同预处理对西兰花茎黑芥子酶活性的影响	17
2.2.4 不同预处理对西兰花茎总酚含量的影响	20
2.2.5 不同预处理对西兰花茎可溶性蛋白含量的影响	22
2.3 本章小结	24
第 3 章 热处理后西兰花茎中硫代葡萄糖苷成分特征的深入分析	25
3.1 实验材料与方法	25
3.1.1 实验试剂	25
3.1.2 实验设备及仪器	26
3.1.3 实验方法	26
3.1.3.1 西兰花茎处理	26
3.1.3.2 高效液相色谱串联质谱法鉴定硫代葡萄糖苷	26
3.1.4 数据分析	27
3.2 结果与分析	27

3.2.1 多元统计分析	27
3.2.2 西兰花茎中的硫代葡萄糖苷	33
3.3 本章小结	36
第 4 章 西兰花酒的研制	38
4.1 材料与方法	38
4.1.1 实验材料	38
4.1.2 西兰花酒制作工艺	38
4.1.3 感官评价法	39
4.1.4 单因素实验	39
4.1.4.1 发酵温度对西兰花酒萝卜硫素含量的影响	40
4.1.4.2 接种量对西兰花酒萝卜硫素含量的影响	40
4.1.4.3 含糖量对西兰花酒萝卜硫素含量的影响	40
4.1.5 响应面优化工艺	40
4.1.6 萝卜硫素含量的测定	41
4.1.7 数据处理与分析	41
4.2 结果与分析	41
4.2.1 感官评价结果	41
4.2.2 单因素实验结果	42
4.2.2.1 发酵温度对西兰花酒萝卜硫素含量的影响	42
4.2.2.2 接种量对西兰花酒萝卜硫素含量的影响	43
4.2.2.3 含糖量对西兰花酒萝卜硫素含量的影响	44
4.3 西兰花酒优化实验结果	45
4.3.1 回归模型的建立与显著性分析	46
4.3.2 响应面交互作用分析	47
4.3.3 最佳工艺的确定与验证	49
4.4 本章小结	49
第 5 章 结论与展望	51
5.1 结论	51
5.2 创新	52

5.3 展望.....	53
参考文献.....	54
攻读硕士学位期间发表的学术论文.....	64
致谢.....	65

第 1 章 绪论

1.1 西兰花的研究进展

西兰花 (*Brassica oleracea var. italica*)，属十字花科芸薹属植物，主茎顶端形成绿色花球，由紧密排列的未成熟花蕾组成，侧枝顶端亦可分化小花球。其茎干粗壮，根系发达，叶片蓝绿色，表面覆蜡质层，适应性较强。因花球呈绿色且未完全分化的小花蕾密集排列而得名。该物种原产于地中海北岸的意大利半岛，于晚清时期（19 世纪 80 年代）引种至中国，现为全球重要经济蔬菜。我国现形成以山东寿光、江苏徐州、浙江嘉兴和福建漳州为核心的四大产区，2023 年全国种植规模达 1200 万亩，鲜菜年产量达 820 万吨，约占全球总产量的 63%^[1]。

1.1.1 西兰花主要营养成分与生物活性物质

作为典型的营养密集型蔬菜，西兰花以“高维生素、高纤维、低热量”著称。根据美国农业部数据，每 100 g 鲜重西兰花含蛋白 2.8-3.5 g、膳食纤维 2.6-3.2 g、维生素 C 89-120 mg（高于柑橘类水果），包括槲皮素、山奈酚等在内具有抗氧化活性的黄酮类物质，以及钾 316 mg、钙 47 mg、硒 2.5 μg 等矿物质。其花球、茎叶组织中广泛存在的硫代葡萄糖苷（Glucosinolates, GSLs, 简称硫苷）总量可达 500-2000 ug/g 鲜重，其中以 4-甲基亚磺酰丁基硫苷（Glucoraphanin）和 3-甲基磺酰基硫苷（Glucoiberin）为主要组分，分别占硫代葡萄糖苷总量的 34.78% 和 25.02%^[2]。这些硫代葡萄糖苷化合物在植物内源黑芥子酶（Myrosinase）或肠道菌群 β-葡萄糖苷酶的催化作用下发生水解反应，生成具有显著生物活性的异硫氰酸酯类，以萝卜硫素（Sulforaphane）为代表，其含量因品种差异可达 0.1-3.2 mg/g FW。此外，西兰花中还含有类胡萝卜素（如叶黄素、β-胡萝卜素）和植物甾醇等成分。研究表明，西兰花中硫代葡萄糖苷及其降解产物的含量受品种、生长期及采后处理影响^[3]。

1.1.2 西兰花资源开发利用现状

全球西兰花年产量超 2500 万吨，中国占比约 40%，但有关于西兰花的资源利用存在着许多不足。目前西兰花仍以初级加工主导，90% 以上以鲜食为主，仅

有少量用于冻干、脱水或发酵制品^[4]。大部分有关于西兰花的研究集中于种植、生长、采收以及贮藏。如任亚丽研究和分析的高原西兰花种植栽培技术^[5]，龚祎康^[6]研究的西兰花幼苗茎秆损伤生物力学特性，魏丽娟^[7]等人为西兰花专门开发的硅窗面积气调包装。但是随着近年来人们对食品营养价值成分的要求越来越高，有关西兰花的深度开发利用正成为研究的热点。杨静兰^[8]团队采用超声波-微波结合技术调控西兰花泥的加工品质，发现超声波-微波处理不仅能有效提高西兰花泥中总酚含量，还可以改善西兰花泥的颜色饱和度和食用口感，为进一步在加工过程中提高西兰花的品质提供了新思路。张思瑶^[9]等人利用热风干燥技术和超微粉碎技术制备西兰花粉，成功研制出一款营养丰富的饼干制品。梁慧光^[10]等人通过响应面实验优化西兰花饼干配方，研制出了风味独特且富含膳食纤维的西兰花饼干。

对西兰花进行发酵处理将其制成发酵产品也是西兰花深加工的一块重要部分。发酵制品以乳酸菌发酵为主，张歆炎在筛选了 5 株不同品种的乳酸菌后通过发酵研制的复合西兰花饮料^[11]。李坤林同样通过乳酸菌发酵，针对西兰花发酵工艺进行响应面实验优化，开发了一款乳清饮料^[12]。候菲翔则是针对乳酸菌发酵西兰花进行了代谢组学分析，结果发现发酵可以显著提高西兰花中萝卜硫素的含量^[13]。除了乳酸菌，有关于西兰花深加工的其它菌种的研究少之又少，且这些开发利用仍然局限于西兰花的可食用部分，但在收货季节，大量的西兰花茎叶部分（占西兰花总量的 60%）因纤维含量高，多被废弃，仅 10%甚至更少用于饲料或有机肥生产^[14]。西兰花茎含水量高，易腐烂，随意丢弃容易造成植物烧苗。如何处理废弃的西兰花茎叶就成为了迫在眉睫的难题。研究表明，西兰花废弃茎叶不仅含有丰富的有机营养物质如膳食纤维、粗蛋白，还有大量的如钙、镁、钾等矿质元素，并且硫代葡萄糖苷的含量高于花球^[15]。因此，针对西兰花茎进行相关的食品开发，可以为提高西兰花茎的利用率寻找新的途径。

1.2 硫代葡萄糖苷及其降解产物的研究现状

硫代葡萄糖苷是十字花科植物（如西兰花、甘蓝、芥菜等）的特征性含硫次生代谢产物，其分子拓扑结构由三个特征性基团构成： β -D-硫代葡萄糖基作为糖苷配体，磺酸化脒（sulfonated oxime）连接桥，以及决定化学性质的 R 基侧链。。根据侧链类型，根据 R 基的结构差异，该类化合物可分为三大类：脂肪族硫代

葡萄糖苷(如萝卜硫苷 glucoraphanin)、芳香族硫代葡萄糖苷(如芥子油苷 sinigrin)及吲哚族硫代葡萄糖苷(如芸薹葡萄糖硫苷 glucobrassicin),其侧链碳原子数在3-8之间不等,硫元素质量分数可达12.3-18.7%^[16]。十字花科植物中的硫代葡萄糖苷含量丰富,而其他日常植物的硫代葡萄糖苷种类有限。不同植物中硫代葡萄糖苷种类和含量差异大,西兰花中的硫代葡萄糖苷主要包括3-吲哚甲基硫苷、3-甲氧基吲哚基-3-甲基硫苷、3-甲基亚磺酰基丙烯硫苷、萝卜硫苷^[17]。

1.2.1 硫代葡萄糖苷的国内外研究现状

硫代葡萄糖苷广泛存在于十字花科蔬菜中,目前研究学者已在全球范围内发现超120种结构各异的硫代葡萄糖苷。对于十字花科蔬菜来说,硫代葡萄糖苷可以通过降解生成异硫氰酸盐来使其具有独特的气味,从而减少甚至免受昆虫或是食草动物的侵扰,达到保护自己的目的。硫代葡萄糖苷的功能多种多样,其中研究得最为透彻的一项,就是为十字花科植物提供了应对食草动物能力的硫苷-黑芥子酶防御体系,也被称为芥子油炸弹。十字花科植物在收到侵害时,体内的黑芥子酶就会被释放以促进硫代葡萄糖降解生成具有特殊气味的异硫氰酸盐^[18]。此外,部分异硫氰酸盐还对昆虫来说具有一定的毒性,不仅可以抑制昆虫的生长,甚至可以引起死亡^[19]。王萌^[20]等人研究发现高硫代葡萄糖苷含量的油菜黄芽菜能显著抑制腐烂茎线虫对甘薯茎部和薯块的侵染。

此外,大量研究表明,硫代葡萄糖苷还对人类健康具有良好功效,能够预防慢性疾病,具有抗氧化、抗癌防癌以及调节机体免疫等功能^[21]。另一方面,硫代葡萄糖苷还可以抑制某些致病菌。如张睿^[22]等人发现从西兰花中提取的萝卜硫苷对常见的大肠杆菌、沙门氏菌以及金黄色葡萄球菌这三株致病菌都有抑制作用,且相较于金黄色葡萄球菌,萝卜硫苷对大肠杆菌和沙门氏菌的抑制效果更好。Wen^[23]等人发现辣木苷可以破坏李斯特菌细胞壁和细胞膜的完整性,刺激其氧化应激,干扰它正常的能量代谢和DNA复制,最终导致其死亡。

近年来,随着人们对硫代葡萄糖苷生物活性功能的研究深入,其在防癌抗癌、抑制炎症、保护植物、防治虫害等方面的潜力逐渐被认识和重视。针对于硫代葡萄糖苷的研究也逐渐从如何提取、如何保存转到了如何使用、如何提高使用效果上。

1.2.2 萝卜硫素的国内外研究现状

萝卜硫素是一种由十字花科蔬菜（如西兰花）中所富含的萝卜硫苷经酶解生成的脂溶性活性成分，是迄今为止蔬菜中发现的抗癌活力最强的一类异硫氰酸盐，可通过调控细胞周期、诱导凋亡、抑制血管生成等多重途径阻断肿瘤进展。比如，萝卜硫素可以通过激活 Nrf2 通路诱导 II 相解毒酶表达，抑制致癌物代谢活化，对口腔癌、甲状腺癌等癌症具有化学预防作用^[21, 24]。Sun^[25]等人发现萝卜硫素可以下调脊柱动物细胞中 Fpn1 基因的表达，从而达到抑制破骨细胞分化和巨噬细胞增殖的效果。任子怡^[26]等人发现萝卜硫素可以通过激活 p53 信号通路，以浓度依赖性的方式来抑制胰腺癌中 PANC-1 的细胞活性。缪蒙爱^[27]等人发现萝卜硫素能够通过双向调控 AMPK/SIRT1 通路激活与 NF-KB 信号抑制，显著抑制糖尿病模型小鼠肾脏组织的炎症反应，从而改善肾功能损伤病理进程。

除了萝卜硫素的功能性研究，国内外学者还围绕如何提高十字花科植物中的萝卜硫素含量进行了大量的研究。众所周知，在蔬菜的加工过程中离不开热处理。因此研究人员自然而然的就想到了通过控制温度来达到提高十字花科植物中萝卜硫素含量的目的。Matusheski^[28]等人证实了加热可以降低西兰花中一种名为 epithiospecifier（ESP）特异性蛋白的活性，当热处理的温度为 60℃时会增加萝卜硫素的形成而减少萝卜硫腈的生成，从而提高西兰花中萝卜硫素的含量。除了热处理，外援添加某种物质，也可以达到提高西兰花中萝卜硫素含量的目的。张瑾^[29]在针对西兰花芽苗的研究过程当中发现，在西兰花芽苗的生长发育过程中加入蔗糖可以显著提高西兰花芽苗包括萝卜硫素在内的各种营养成分。同时还发现利用蒸与硫酸锌浸泡联合处理可以最大程度的提高西兰花芽苗的萝卜硫素含量，较对照组多出了 1 倍多。

大多数十字花科植物都含有萝卜硫素，但相关研究表明西兰花中的萝卜硫素含量最高。因此，针对于西兰花进行萝卜硫素的相关研究最具研究价值。

1.3 硫代葡萄糖苷降解途径

硫代葡萄糖苷存在 3 种主要降解机制,分别是酶降解、热降解和化学降解^[30]。硫代葡萄糖苷在发生降解时会生成等量的葡萄糖、硫酸盐和糖苷配基。后者因其结构不稳定可继续转化为硫氰酸盐、腈类、异硫氰酸酯等衍生物。其中异硫氰酸酯是一种会提供辛辣风味的关键物质。值得注意的是，硫代葡萄糖苷的降解产物会随着硫代葡萄糖苷结构以及反应条件的变化而变化。

1.3.1 酶降解

黑芥子酶是一种广泛存在于十字花科植物中的 β -硫代葡萄糖苷酶。根据Lüthy^[31]的“芥子油弹”理论模型，硫代葡萄糖苷储存于植物细胞的液泡内，而黑芥子酶则锚定在细胞内膜系统（如质膜或蛋白体）上。当植物遭受机械损伤时，细胞结构破裂，液泡内容物释放，硫代葡萄糖苷在黑芥子酶催化下发生特异性酶解反应。黑芥子酶活性中心的氨基酸残基与底物葡萄糖环及糖苷配基的特异性结合，触发快速酶促反应，可高效生成异硫氰酸酯、硫氰酸酯等活性产物，其中唑烷-2-硫酮和环硫脒等含硫杂环化合物也同步形成^[32]。

在植物体内，抗坏血酸对黑芥子酶活性的调控呈现独特的浓度依赖性特征。Grob 团队通过辣根根部亚细胞定位研究发现^[33]，液泡作为抗坏血酸的主要储存区室，其含量占比高达 99.5%。硫代葡萄糖苷、抗坏血酸与黑芥子酶在植物系统中存在三种空间配置模式：异细胞分布型（不同细胞类型特异性贮存）、区室分隔型（同一细胞不同亚细胞定位）以及共定位抑制型（同一区室共存但酶处于失活态）。这种多级调控体系的关键在于抗坏血酸的双向调节特性——当浓度超过 15 mmol/L 时，通过竞争性结合黑芥子酶活性中心使其构象改变，导致酶活性抑制率达 93% 以上；而浓度低于 2 mmol/L 时，则作为辅助因子增强酶-底物亲和力，催化效率提升 4.2 倍^[34]。在完整细胞状态下，液泡膜屏障维持着抗坏血酸的高浓度微环境（约 25-40 mmol/L），有效阻止硫代葡萄糖苷与黑芥子酶的接触。当机械损伤破坏液泡膜完整性时，胞质与液泡内容物混合使抗坏血酸浓度骤降至 0.8-1.5 mmol/L，此时酶活性抑制解除，硫代葡萄糖苷的酶促降解反应得以启动。这种动态平衡机制从亚细胞层面验证了三者共定位的生物学可行性。

硫代葡萄糖苷的酶解反应具有产物多样性特征，其核心机制为：酶解初级产物硫代羧-O-磺酸盐经 Lossen 重排释放硫酸盐基团后，通过分子内重排生成异硫氰酸盐、硫氰酸盐及腈类化合物，同时伴随硫化物的形成。研究表明，反应体系的氢离子浓度（pH）是决定产物谱系的关键因素——中性至弱碱性条件（pH 6.5-8.0）促进异硫氰酸酯和硫酮的生成，而酸性环境（pH<5.5）则通过激活芥子酶辅助蛋白即 ESP 特异性蛋白及金属离子（ $\text{Fe}^{2+}/\text{Cu}^{2+}$ ）的协同作用，使代谢路径偏向腈类和硫氰酸盐的形成^[35]。自然界中能通过酶解过程产生异硫氰酸盐的硫代葡萄糖苷只有 3 种：烯丙基硫苷、苯甲基硫苷和 4-丁基硫苷^[36]。

1.3.2 热降解

在日常生活中,在十字花科植物在成为商品或可食用的菜品前,加热是必备操作。而在加热过程中,除了热降解,硫代葡萄糖苷的降解途径通常伴随着酶降解以及热介质浸提^[37]。所以加热方式的不同会导致硫代葡萄糖苷的降解程度和产物不同。MacLeod^[38]等人在对单个硫代葡萄糖苷 2-丙烯基硫苷进行研究时发现,其在 200℃加热下会被分解。在此基础上,研究方向逐渐延伸至日常烹饪方法对各种十字花科植物的硫代葡萄糖苷含量的影响。Sadowska^[39]等人发现与传统烹饪方法相比,真空低温加热会导致甘蓝中硫代葡萄糖苷的损失明显更高,但异硫氰酸盐方面则没有显著变化。同样 Eun^[40]等人在比较西兰花的烹饪方法中发现,蒸西兰花中所含有的硫代葡萄糖苷含量更高,而水煮西兰花中的硫代葡萄糖苷含量则有所下降。除了烹饪上的区别,超声波和微波处理西兰花过后的西兰花也有所区别,超声波处理过后的西兰花萝卜硫素含量有所增加,而微波处理之后的西兰花萝卜硫素含量降低了 50-90%,硫代葡萄糖苷含量与未处理的样品相差无几^[41]。Oerlemans^[42]等利用高温提前对红球甘蓝中的黑芥子酶进行了灭活处理,以确保在实验过程中排除酶降解的干扰,发现在 110℃温度以下时进行加热处理,吲哚类硫代葡萄糖苷耐热性要大于脂肪族硫代葡萄糖苷。

1.3.3 化学降解

硫代葡萄糖苷的非酶促降解特性于 1981 年首次被证实,研究发现该物质在酸性、碱性及盐溶液环境中均可发生降解。具体而言,在酸性条件下,其分解产物主要包括对应羧酸、D-葡萄糖、羟胺离子及硫氢酸盐。值得注意的是,该降解过程还可能引发分子重排现象,导致新型硫代葡萄糖苷衍生物的形成^[43]。针对金属离子对硫代葡萄糖苷稳定性的影响进行了研究,Tian^[44]发现在同等条件下加入了 Fe^{3+} 离子的萝卜硫苷仅分解了 78.1%,而加入了 Cu^{2+} 离子的则完全分解。Hanschen^[45]发现酸性环境不仅会促进硫代葡萄糖苷的降解,而且会抑制腈和苯硫腈的形成并阻止胺的形成,从而提高异硫氰酸盐的形成。

1.3.4 硫代葡萄糖苷降解的影响因素

影响硫代葡萄糖苷降解的因素有很多,如温度、金属离子等。其中温度的影响主要集中在对十字花科蔬菜的加工过程中,如提高黑芥子酶活性或者破坏硫代葡萄糖苷降解的相关基因的表达。而最近随着人们对蔬菜加工方式研究的更加深

入，真空低温烹饪方法正变得越来越流行，这种方法相比于传统的烹饪方法，对硫代葡萄糖苷降解的影响较小，更容易保留十字花科蔬菜中的营养成分^[46]。这也表明除了温度，压力对硫代葡萄糖苷降解也能起到不容忽视的作用，Niu^[47]等研究了在压力和温度双重胁迫下对花椰菜黑芥子酶活性的影响后发现，在 45°C 及 100 MPa 的条件下会极大的抑制黑芥子酶的活性，从而使硫代葡萄糖苷降解速率变慢。在金属离子方面，Ca²⁺通过螯合游离硫抑制非酶降解，而 Fe³⁺则可以促进氧化性降解^[48]，同时抗坏血酸和 Fe²⁺离子具有协同作用，可以时硫代葡萄糖苷快速降解^[49]。

通过外源性添加物质来影响硫代葡萄糖苷降解的手段更是多种多样，Kang^[50]研究发现给采后开花大白菜补充褪黑素可以提高其硫代葡萄糖苷含量。而给干旱条件下的白菜喷施异硫氰酸烯丙酯不仅可以提高其抗旱能力，还可以促进硫代葡萄糖苷的降解^[51]。Guo^[52]等人在绿光 LED 照射处理过的卷心菜叶中发现了更高的黑芥子酶活性和相对 MYR 和 ESM 表达水平，这意味光照也可以影响硫代葡萄糖苷的降解。

近几年来，乳酸菌也被证实可以影响硫代葡萄糖苷的转化能力，这是由于部分乳酸菌中含有黑芥子酶基因 LpMyr。而纯化的 LpMyr 蛋白在 50°C 和 pH 7.0 时表现出最佳活性，萝卜硫苷的水解速率可以达到 7.74 U/mg^[53]。Wu^[54]等人同样证明了乳酸菌可以促进硫代葡萄糖苷降解为异硫氰酸盐。

1.4 代谢组学

1.4.1 代谢组学简介

代谢物分析技术自 19 世纪萌芽以来，历经两个世纪的发展迭代，现已形成多维度检测体系。现代代谢组学研究依托色谱分离与光谱检测的协同创新，构建起高通量检测平台：液相色谱（LC）、气相色谱（GC）及毛细管电泳（CE）负责代谢物高效分离，质谱（MS）与核磁共振（NMR）则实现分子结构的精准解析^[55]。联用技术突破传统单机检测局限，LC-MS 与 GC-MS 系统通过离子化效率优化，可同步完成代谢物的定性分析与定量分析。为揭示代谢物的空间异质性，质谱成像（MSI）技术与代谢组学深度融合，形成空间代谢组学新范式，成功解决常规 LC-MS/GC-MS 因组织破碎导致的空间信息丢失问题^[56]。

根据研究目标的差异，代谢组学策略分为非靶向与靶向两大方向：前者通过

高分辨质谱捕获未知代谢物全局信息，但定量精度受限^[57]；后者基于三重四极杆（QQQ）质谱的多反应监测（MRM）模式，可精准定量特定代谢物，但通量较低^[58]。为突破技术瓶颈，研究者开发出多离子监测-增强子离子扫描（MIM-EPI）联用策略，构建包含 698 种代谢物二级质谱的 MS2T 数据库，显著提升代谢物鉴定效率^[59]。在挥发性代谢物检测领域，选择性离子监测（SIM）技术的引入，通过特征碎片离子筛选实现检测灵敏度与重现性突破。方法论创新持续推动代谢组学从广度拓展向深度解析转型^[60]。

1.4.2 代谢组学在蔬菜领域中的应用

代谢活动是生命活动的基础，加强代谢物的研究有利于我们进行蔬菜种植、种植、采收等方面的研究。而代谢组学则是代谢物研究的重要工具，可以帮助解析关键代谢物的合成与转运，提供数据及理论支持。

目前，有关于代谢组学在蔬菜领域中的应用越来越广。在蔬菜的生长发育过程中往往伴随着一系列的代谢水平变化，而代谢物则可以帮助我们找到其营养价值最高的阶段。如庄红梅^[61]等人通过鉴定分析新疆芜菁肉质根幼苗期、膨大期与成熟期时的代谢物，揭示了芜菁不同时期的特异代谢产物。除了不同的生长发育时期，不同的品种之间的差异也可以通过代谢组学来了解。研究人员通过对环塔里木盆地的两个不同芦笋品种进行代谢组学分析，为后续深度评估芦笋营养价值和开发利用提供了理论依据^[62]。代谢组学还可以为后续提高蔬菜的风味品质提供支持。如符梅^[63]利用液质联用方法测定红芽芋头的代谢物成分，发现 9 种黄酮类物质可以提高红芽芋头的品质。同样代谢组学还可以为蔬菜的逆境胁迫研究提供有效工具。在胁迫条件下，蔬菜的代谢物会对环境进行相应从而减少对植株的伤害。在针对干旱胁迫下的大蒜幼苗的分析中，田洁等人发现黄酮和苯丙素物质含量的增加会显著提高大蒜的抗旱性^[64]。因此，代谢组学可以挖掘与逆境胁迫相关的关键代谢物，并通过手段提高蔬菜的抗逆性。

1.5 果酒

果酒作为人类最早掌握的发酵酒类，其发展历程源远流长。自秦汉至明清时期，我国已形成包括葡萄酒、苹果酒、杏酒等在内的多元酿造体系^[65]。现代食品工业中，果酒特指葡萄以外的水果发酵酒种。尽管我国果酒产业历史悠久，但长期处于非规模化生产状态。近年来在政策引导下，苹果酒、石榴酒等特色果酒获

评国家级名优产品，产业实现跨越式发展。这些兼具传统工艺与现代技术的创新产品，不仅占据本土消费市场，更成功拓展至海外市场^[66]。

1.5.1 果酒的酿造方法

果酒的酿造方法主要分为传统发酵法，浸泡法以及结合法^[67]。传统发酵法是将水果破碎打浆或榨汁后，接种酵母菌，在合适条件下进行厌氧发酵至糖度不再下降的方法。浸泡法则是后来兴起的酿造方法，采用直接浸泡水果的方式，可以更好地保留水果中的香气和营养成分。而结合法则是将上述两种方法结合起来，同时进行传统发酵和浸泡，制得原酒后再将两者混合，或者陈酿一段时间后再进行勾兑。

1.5.2 果酒的研究现状

我国果酒产业虽具有悠久历史渊源，却长期面临原料优势与产业规模失衡的发展困局，果酒的年产量及消费量都远低于世界水平^[68]。相较于葡萄酒产业的成熟体系，其他果酒品类存在显著短板：在生产方面，果酒发酵菌种选育体系不完善，同时果酒工厂自动化水平不高；在消费方面则表现为没有品牌效应，果酒市场制度不完善等问题^[69]。更为重要的是，我国果酒的酿造技术局限于对国际主流工艺的魔方，而非自主创新，难有技术上的突破。

在果酒成为研究热点之后，大量的复合型果酒层出不穷。如黄兴源^[70]等人以成熟无核黄皮和青梅为原料酿制的果酒，赵春杰^[71]等人利用模糊数学感官评价结合响应面法优化开发的野生蓝莓-蔓越莓复合果酒。相比于单一品种酿制出来的果酒，复合型果酒具有香味更浓郁，营养成分更高等优点。但随着研究的深入，人们发现将蔬菜加入果酒似乎更能提高果酒的营养价值和保健功能。部分蔬菜中富含着普通水果远不及的生物活性功能物质，传统的烹饪方法又会使这些功能物质丧失掉很大一部分，所以果蔬酒自然而然的进入了研究人员的视野之中。周书来^[72]等人以番茄、芒果、南瓜、枇杷为主要原料，采用果肉与果汁共同酿造技术，开发出了富含番茄红素的复合果蔬酒。宋琳琳同样利用番茄这一营养价值很高的蔬菜，结合猕猴桃、苹果以及胡萝卜，开发出了一款复合型果蔬酒。西兰花有着不输番茄的丰富的生物活性功能物质，却少有人利用西兰花来开发果蔬酒。

1.6 研究内容及目的意义

1.6.1 研究内容

(1) 本文以品种名为“优秀”的西兰花茎为原料，研究了三种不同的预处理条件下（温度、硫酸锌浓度、抗坏血酸浓度）西兰花茎中萝卜硫素含量、黑芥子酶活性、总酚含量以及可溶性蛋白含量的变化情况。

(2) 通过前一章的研究，筛选出对西兰花茎中萝卜硫素含量影响最大的一种预处理，以代谢组学为手段，揭示西兰花茎中硫代葡萄糖苷的分布以及变化情况。

(3) 将新鲜的西兰花茎、芒果以及苹果打浆后，按一定的比例进行混合，在无菌操作台上接种酵母菌进行发酵，用模糊数学感官评价法优化风味、响应面实验优化发酵过程中的工艺条件（发酵温度、接种量和含糖量），研制出一款富含萝卜硫素的西兰花酒。

1.6.2 研究目的及意义

西兰花在我国呈现跨纬度种植特征，覆盖从东北寒地到华南亚热带地区的17个主要产区。然而目前有关于西兰花的研究存在一定的局限性，大部分的研究拘泥于西兰花芽苗或者花球，西兰花废弃的茎叶鲜有人问津。关于西兰花茎中硫代葡萄糖苷的分布情况还无人做过。当前全球西兰花产业仍以鲜食消费为主导模式，其作为发酵基质应用于果蔬饮品深加工领域尚未有深入研究。

随着经济发展水平的不断提高，人们对食品中营养成分、活性功能物质的要求也越来越高。硫苷类物质就是活性功能物质中的一大类。而西兰花又富含硫苷类物质。另一方面，硫苷类物质是脂溶性物质，通过酵母菌发酵的方式可以很大程度上的保留西兰花中的功能活性物质。因此，本研究立足于研究不同预处理下的西兰花茎中各活性成分的含量，选出效果最显著的一组处理进行代谢组学研究，旨在探究西兰花茎中的硫代葡萄糖苷分布情况以及遭受到环境刺激之后的变化情况。最后放眼于西兰花的深加工，利用感官评价法和以萝卜硫素含量为指标的响应面实验优化西兰花复合果蔬酒的酿造工艺，研制出一款富含萝卜硫素的西兰花酒。

第2章 不同预处理对西兰花茎的影响

硫代葡萄糖苷作为十字花科植物的特征性次生代谢物，是由 β -硫代葡萄糖基与氨基酸衍生侧链通过硫醚键连接形成的含硫化合物群。根据其侧链结构差异，硫代葡萄糖苷分为脂肪族、芳香族和吲哚族3大类^[73]。研究证实，新鲜采摘下来的植物组织在一段时间内仍然具有代谢活性，对外界环境的刺激依然可以做出反应^[74]。本章研究以新鲜采收的品种名为“优秀”的西兰花茎为研究对象，采用不同温度、不同硫酸锌浓度、不同抗坏血酸浓度三种方式对西兰花茎预处理不同的时间，研究在不同条件下西兰花茎中萝卜硫素含量、黑芥子酶活性、总酚含量以及可溶性蛋白含量的变化情况。

2.1 实验材料与方法

2.1.1 实验材料

本实验以品种名为“优秀”的西兰花为实验材料，由安徽云中生态农业开发有限公司提供。

2.1.2 实验试剂

表 2-1 实验试剂

Table 2-1 Experimental reagents

试剂名称	规格	厂家
乙腈	>90.0% (HPLC)	美国默克公司
甲酸	>90.0% (HPLC)	阿拉丁生化科技股份有限公司
乙酸乙酯	>90.0% (HPLC)	国药化学试剂有限公司
萝卜硫素	>90.0% (HPLC)	上海源叶生物技术有限公司
ZnSO ₄	AR	国药化学试剂有限公司
抗坏血酸	AR	阿拉丁生化科技股份有限公司

2.1.3 实验设备

表 2-2 实验设备

Table 2-2 Experimental equipment

设备名称	型号	厂家
电子天平	JY1002	上海精密科学仪器有限公司
恒温箱	YRG-150	上海合恒仪器设备有限公司
真空冷冻干燥机	LGJ-12	北京松源华兴科技有限公司
高速粉碎机	FW100	天津市斯泰特仪器有限公司
超声波清洗仪	030S	深圳市超洁科技实业有限公司
台式高速冷冻型微量离心机	D3024R	北京大龙兴创实验仪器有限公司
酶标仪	1510	上海赛默飞世尔仪器有限公司
高效液相色谱仪	Agilent 1260	安捷伦科技（中国）有限公司

2.1.4 实验方法

2.1.4.1 西兰花茎处理

挑选新鲜、无明显损伤的西兰花茎清洗过后吸干水分并切割成大小均匀（1×1.5×1.5 cm）的块，用真空包装袋装好后置于-80℃冰柜中冷冻备用。

2.1.4.2 不同温度处理

将西兰花茎从冰柜中取出并在常温下解冻 1 h 后，置于超纯水中进行浸泡加热，温度分别为 50、65、80、95℃，时间分别为 1、5、30、60 min。处理完成后，吸干西兰花茎表面水分，放入真空冷冻干燥机中干燥 3 天后研磨成粉，过 80 目筛后置于-20℃冰箱中保存备用。

2.1.4.3 不同硫酸锌浓度处理

将西兰花茎从冰柜中取出并在常温下解冻 1 h 后，置于硫酸锌溶液中进行浸泡，浓度分别为 0.5、1.0、1.5、2.0 mmol/L，时间分别为 1、5、30、60 min。处理完成后，吸干西兰花茎表面水分，放入真空冷冻干燥机中干燥 3 天后研磨成粉，过 80 目筛后置于-20℃冰箱中保存备用。

2.1.4.4 不同抗坏血酸浓度处理

将西兰花茎从冰柜中取出并在常温下解冻 1 h 后，置于抗坏血酸溶液中进行浸泡，浓度分别为 0.5、1.0、1.5、2.0 mmol/L，时间分别为 1、5、30、60 min。

处理完成后，吸干西兰花茎表面水分，放入真空冷冻干燥机中干燥 3 天后研磨成粉，过 80 目筛后置于-20℃冰箱中保存备用。

2.1.4.5 萝卜硫素含量的测定

参照 Kong^[75]等的方法并加以改进，具体操作如下：准确称取 0.2 g（精确至 0.001 g）西兰花冻干粉，加入 3 mL 去离子水混匀后，于 45℃水浴加热 30 min，待冷却至室温后加入 5 mL 乙酸乙酯，经涡旋振荡器剧烈震荡 1 min 使充分萃取。在 4℃条件下以 8000 r/min 离心 5 min，重复萃取两次，合并上清液后于 25℃真空旋转蒸发至干。所得残留物用 2 mL 色谱纯乙腈复溶，经 0.45 μm 微孔滤膜过滤后待测。

采用 Agilent 1260 型高效液相色谱系统，以萝卜硫素标准品进行定量分析。色谱柱为 Imtakt Cadenza CD-C18 柱（5 μm，150 mm×4.6 mm），流动相为乙腈-超纯水（20:80，v/v），流速 1.0 mL/min，柱温箱设定 30℃，进样量 10 μL。检测波长 201 nm 处进行紫外检测，保留时间定性，外标法定量。

样品中萝卜硫素含量按公式(2-1)进行计算：

$$X = \frac{C \times V \times 100}{m \times 1000} \quad (2-1)$$

其中 X 为样品中萝卜硫素的含量，mg/100 g；C 为根据标准曲线计算得到的样品中萝卜硫素的质量浓度；μg/mL；m 为样品的称取量，g；V 为定溶液的体积，mL。

2.1.4.6 萝卜硫素标准曲线的测定

参考孔凡华^[76]的方法并稍加修改。精确称取 20 mg 萝卜硫素标准品于 10 mL 容量瓶中，加入乙腈溶解并定容至刻度线，制得 2.00 mg/mL 标准储备液。随后通过逐级稀释法配制浓度范围为 10-200 μg/mL 的系列工作液，依次经高效液相色谱仪进样分析，记录各浓度对应的特征峰面积值，以峰面积为纵坐标、标准液浓度为横坐标进行线性回归分析，建立标准曲线方程并计算相关系数（实验全程需避光操作，乙腈需经 0.22 μm 滤膜过滤及超声脱气处理）。

2.1.4.7 黑芥子酶活性的测定

准确称取 0.2 g（精确至 0.001 g）西兰花冻干粉，加入 5 mL 50%甲醇溶液经涡旋振荡器混匀 1 min，置于 4℃冰箱中过夜。将提取液置于 25℃超声清洗仪中超声 1 h，在 4℃条件下以 8000 r/min 离心 5 min，收集上清液置于棕色离心管中

保存。重复提取两次后合并上清液并定容至 5 mL。取 0.5 mL 酶液与 0.5 mL 0.25 mol/L 黑芥子硫苷酸钾底物于 37°C 水浴反应 15 min，沸水浴灭酶（5 min）终止反应。采用葡萄糖试剂盒检测酶解产物，酶活力单位定义为：单位时间内每毫克蛋白质催化生成 1 nmol 葡萄糖（U/mg protein）。

2.1.4.8 总酚含量的测定

总酚含量的测定参考李铮宏^[77]的方法并略作修改，样品提取参考 2.1.4.7。精确移取 0.5 mL 待测样品提取液于 10 mL 离心管中，依次加入 2.0 mL 福林酚试剂及 0.5 mL 碳酸钠溶液（70 g/L，现用现配）。将混合体系涡旋振荡 30 s，使之充分混匀，置于 25°C 恒温避光环境反应 30 min。采用酶标仪于 765 nm 波长处测定吸光度值，以超纯水作为空白。

2.1.4.9 可溶性蛋白含量的测定

参考郭玉峰^[78]的方法并略作修改，准确称量考马斯亮蓝 G-250 25.00 mg（±0.05 mg），依次加入 12.5 mL 无水乙醇和 25 mL 磷酸，用 Milli-Q 超纯水定容至 250 mL 棕色容量瓶，4°C 避光贮存（有效期 14 天）。临用前按显色剂:水=2:7 (v/v) 比例稀释。取 2.1.4.7 节制备的样品提取液 50 μL，加入 2.5 mL 稀释显色剂，涡旋振荡 10 s 后室温避光反应 5 min。使用酶标仪于 595 nm 波长处测定吸光度，空白组装入 50 μL 提取液与 2.5 mL 超纯水的混合液。

2.1.5 数据统计及分析

所有实验均设置 3 组重复，结果以平均值±标准差表示。采用 SPSS 22.0 软件进行数据分析处理；并用 Origin 2018 软件进行绘制图表。

2.2 结果及分析

2.2.1 萝卜硫素标准曲线的测定

萝卜硫素标准曲线的测定结果见表 2-3。根据表 2-3 的结果绘制萝卜硫素标准曲线，得到线性回归方程 $y = 30511x + 59315$ ，其中 $R^2 = 0.9996$ 。

表 2-3 萝卜硫素标准曲线的测定结果

Table 2-3 Calibration Curve Construction for Sulforaphane Determination

萝卜硫素浓度 (μg/ml)	10	20	40	80	100	200
峰面积	303290	669377	1296467	2539469	3153129	6124308

2.2.2 不同预处理对西兰花茎萝卜硫素含量的影响

如图 2-1 所示, 相同时间不同温度、相同温度不同时间处理下的西兰花茎萝卜硫素含量均存在一定的差异性, 80°C 及 95°C 组的萝卜硫素含量都是先上升后下降, 最高值为 $2.69 \pm 0.048 \text{ mg}/100 \text{ g}$, 最低值为 $1.53 \pm 0.063 \text{ mg}/100 \text{ g}$ 。可以认为加热过程中在相同温度处理条件下, 随着时间的升高, 西兰花茎的温度逐渐升高, 此时温度还没有达到阈值, 也就可以提高黑芥子酶的活性, 抑制 ESP 的表达, 促进硫代葡萄糖苷的水解^[79]。 50°C 和 60°C 组在 1、5 min 这两个组别中都显著低于 80°C 和 95°C 的相同时间处理下的组别 ($p < 0.05$), 也说明了这一结论。然而当温度达到一定阈值后, 黑芥子酶会失去活性, 硫代葡萄糖苷的水解被抑制。同时, 由于温度过高, 萝卜硫素也会在高温的作用下被分解成为含硫化合物^[80]。 50°C 条件下加热 1 h 后, 萝卜硫素含量为 $4.16 \pm 0.28 \text{ mg}/100 \text{ g}$ 较对照组 (CK, $1.79 \pm 0.17 \text{ mg}/100 \text{ g}$) 提高了 132%, 65°C 条件下加热 1 h 后, 萝卜硫素含量较对照组提高了约一倍。说明西兰花茎中萝卜硫素合成的最佳温度就是 50°C 。

如图 2-2 及图 2-3 所示, 研究结果表明不同浓度的硫酸锌和抗坏血酸都对西兰花中萝卜硫素含量的提高都有一定的促进作用。但是抗坏血酸溶液对萝卜硫素合成的促进效果不如硫酸锌溶液。硫酸锌溶液处理的峰值在 1.0 mmol/L , 为 $3.235 \pm 0.062 \text{ mg}/100 \text{ g}$, 是对照组 $1.525 \pm 0.056 \text{ mg}/100 \text{ g}$ 的 2.12 倍, 而抗坏血酸的峰值仅在 $2.144 \pm 0.045 \text{ mg}/100 \text{ g}$, 萝卜硫素的含量仅提高了 40%。这与李丽倩^[81]的发现, 抗坏血酸溶液的促进硫代葡萄糖苷降解的能力不如硫酸锌溶液相互印证。随着硫酸锌浓度的升高, 萝卜硫素的含量呈现先上升后下降的趋势。说明 $1.0 \text{ mg}/100 \text{ g}$ 浓度的硫酸锌可以最大程度的促进硫代葡萄糖苷的降解, 而当浓度超过 $2.0 \text{ mg}/100 \text{ g}$ 后, 这种促进作用会逐渐减弱, 这与王向阳^[82]在西兰花硫代葡萄糖苷降解的稳定性研究当中的结论相一致。而抗坏血酸对萝卜硫素含量的影响则不那么明显, 且相同时间不同抗坏血酸浓度处理下的 1 min、30 min 组都没有明显差异 ($p > 0.05$)。

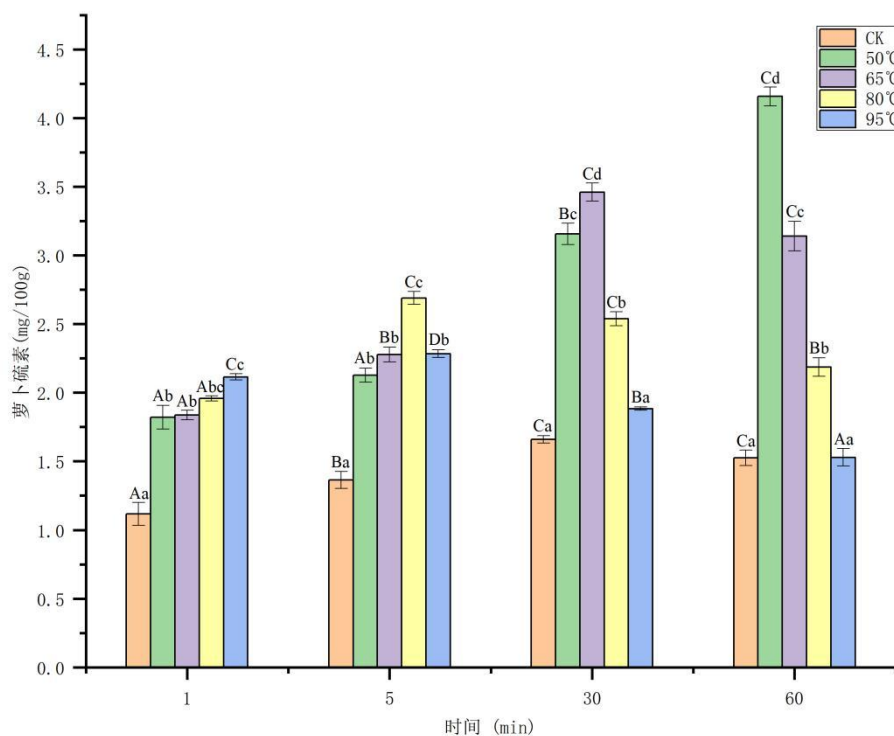


图 2-1 不同温度对西兰花茎中萝卜硫素含量的影响

Fig. 2-1 Effect of Temperature on Sulforaphane Content in Broccoli Stems

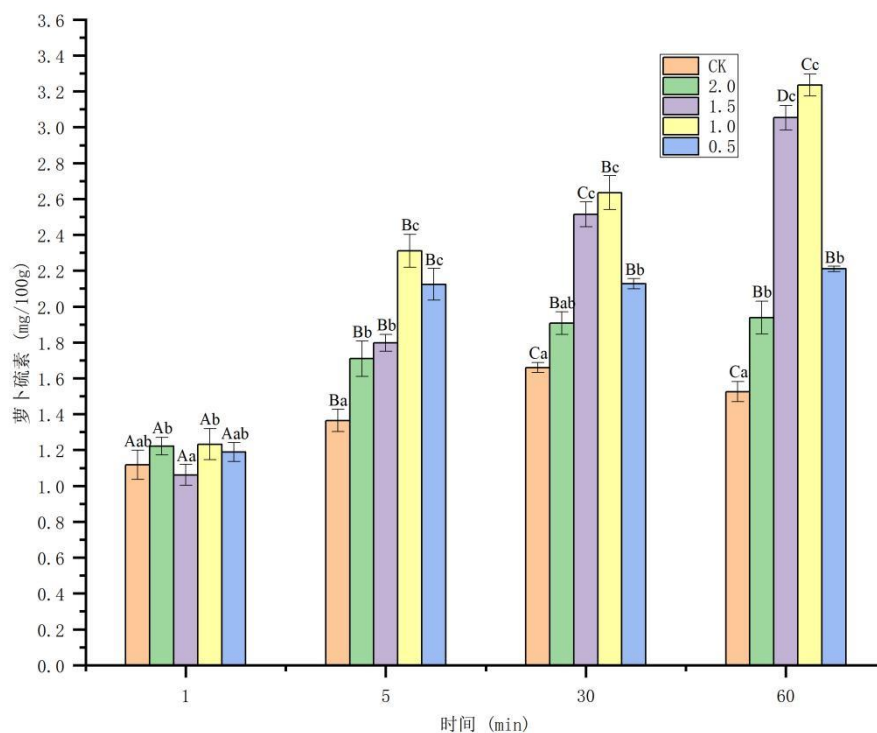


图 2-2 不同硫酸锌浓度对西兰花茎中萝卜硫素含量的影响

Fig. 2-2 Effect of ZnSO₄ Concentration on Sulforaphane Content in Broccoli Stems

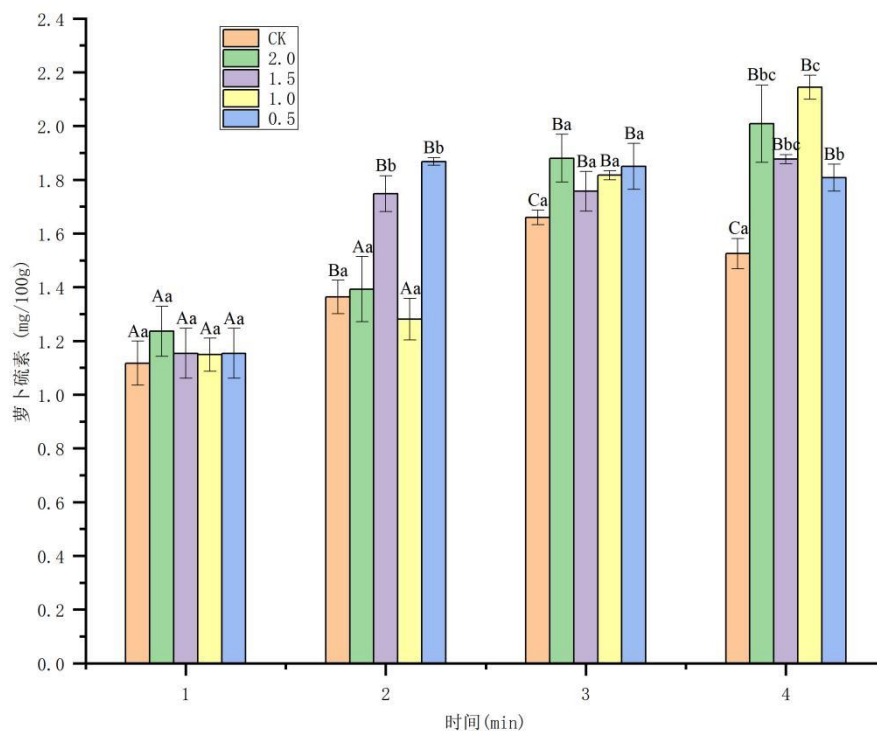


图 2-3 不同抗坏血酸浓度对西兰花茎中萝卜硫素含量的影响

Fig. 2-3 Effect of Ascorbic Acid Concentration on Sulforaphane Content in Broccoli Stems

注 a: 图中含有不同小写字母表示在同一时间下不同温度或浓度西兰花茎中萝卜硫素含量之间的差异显著 ($p < 0.05$)；图中含有的大写字母表示西兰花茎在相同温度或浓度下不同时间处理中萝卜硫素含量差异显著 ($p < 0.05$)。

2.2.3 不同预处理对西兰花茎黑芥子酶活性的影响

黑芥子酶是一种硫代葡萄糖苷水解酶，能有效降解硫代葡萄糖苷类物质^[83]。可以说黑芥子酶活性越高，硫代葡萄糖苷降解成为异硫氰酸酯的速率就越快。如图 2-4 所示，在 20 个组别中，黑芥子酶活性最高的是在 50℃下加热 1 h 的西兰花茎，是对照组的两倍多，这也从侧面印证了上述有关温度对西兰花茎中萝卜硫素含量影响的结论。而 80、90℃组在加热 30 min 之后，黑芥子酶活性显著低于对照组 ($p < 0.05$)，是因为在加热过程中，西兰花茎的温度逐渐升高，热量使黑芥子酶变性失活。Medina^[84]等人在对块茎旱金莲进行热处理的时候也发现了这一现象。

由图 2-5 可知，不同浓度的硫酸锌溶液都可以提高黑芥子酶的活性，且除了 2.0 mmol/L 这一处理下的西兰花茎，其他组别的黑芥子酶活性都在随时间增加。

赵子璇^[85]在对西兰花芽苗的研究过程中发现喷施了硫酸锌溶液的芽苗,黑芥子酶活性均有显著提高 ($p<0.05$)。

由图 2-6 可知,不同浓度的抗坏血酸对黑芥子酶活性均有明显的促进作用,其中当抗坏血酸浓度为 1.0 mmol/L 时,西兰花茎中萝卜硫素含量的提升最大。但值得注意的是,初婷^[86]等人指出,抗坏血酸对黑芥子酶活性的影响与浓度密切相关,适当低浓度能增强黑芥子酶活力,而浓度过高时反而会抑制黑芥子酶活性。在本次研究中,抗坏血酸所涉及的 16 个组别还没有出现黑芥子酶活性被抑制的情况,可能是因为抗坏血酸浓度不高。

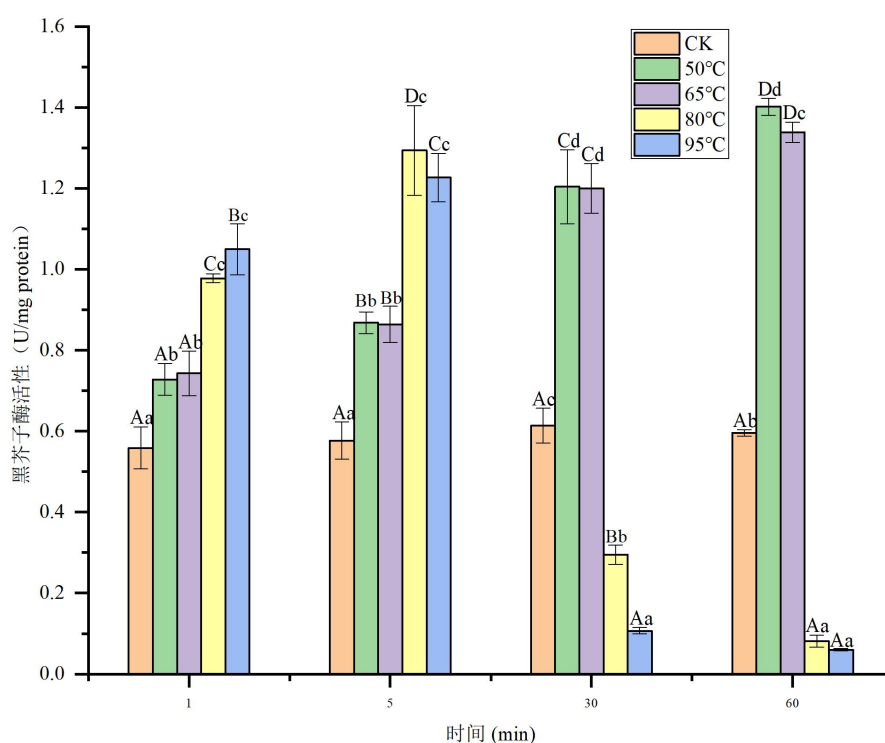


图 2-4 不同温度对西兰花茎黑芥子酶活性的影响

Fig. 2-4 Effect of Temperature Variation on Myrosinase Activity in Broccoli Stems

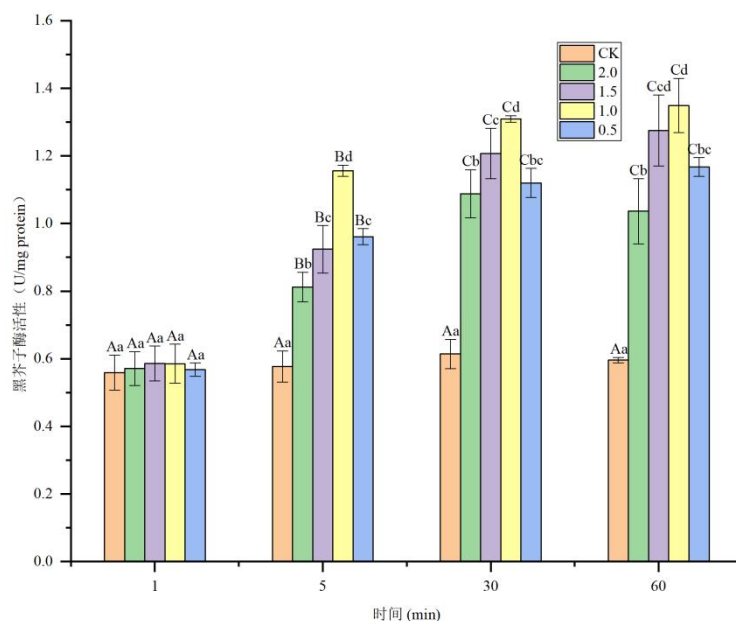


图 2-5 不同硫酸锌浓度对西兰花茎黑芥子酶活性的影响

Fig. 2-5 Effect of ZnSO₄ Concentration Gradients on Myrosinase Activity in Broccoli Stems

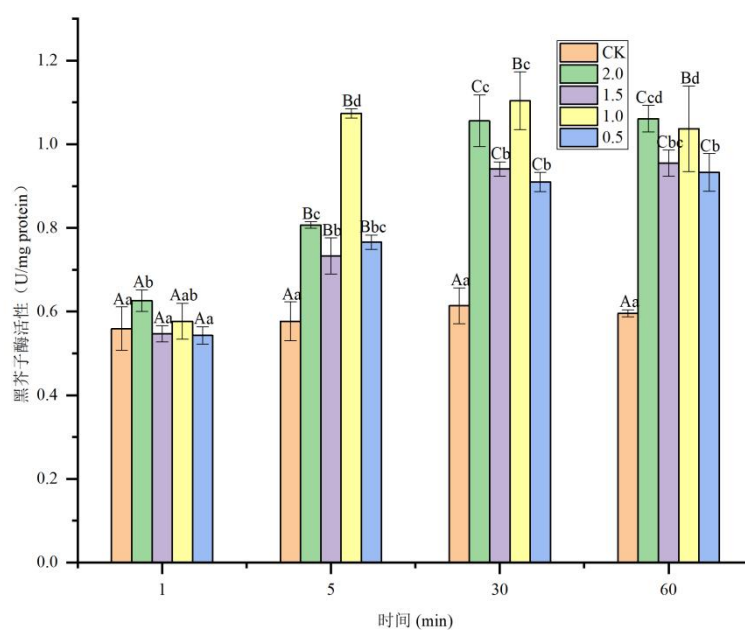


图 2-6 不同抗坏血酸浓度对西兰花茎黑芥子酶活性的影响

Fig. 2-6 Effect of Different Ascorbic Acid Concentrations on Myrosinase Activity in Broccoli

Stems

注 b: 图中含有不同小写字母表示在同一时间下不同温度或浓度西兰花茎中黑芥子酶活性之间的差异显著 ($p < 0.05$); 图中含有的大写字母表示西兰花茎在相同温度或浓度下不同时间处理中黑芥子酶活性差异显著 ($p < 0.05$)。

2.2.4 不同预处理对西兰花茎总酚含量的影响

由图 2-7 可知,在不同温度处理下,所有处理组较对照组总酚含量都有所增加,这可能是由于加热导致西兰花茎的细胞结构受损,使细胞内自带的水流失,一方面有助于保留更多的酚类物质^[87],另一方面也使部分结合在细胞结构上的酚类物质可以被检测到。图 2-8 表明,不同浓度的硫酸锌溶液处理不同的时间对西兰花茎中的总酚含量影响不大;而图 2-9 表明,不同浓度的抗坏血酸溶液处理不同的时间对西兰花茎中的总酚含量影响也不大,仅在抗坏血酸浓度为 2.0 mmol/L 条件下处理 1 min 或 5 min 时,会提高西兰花茎中的总酚含量。

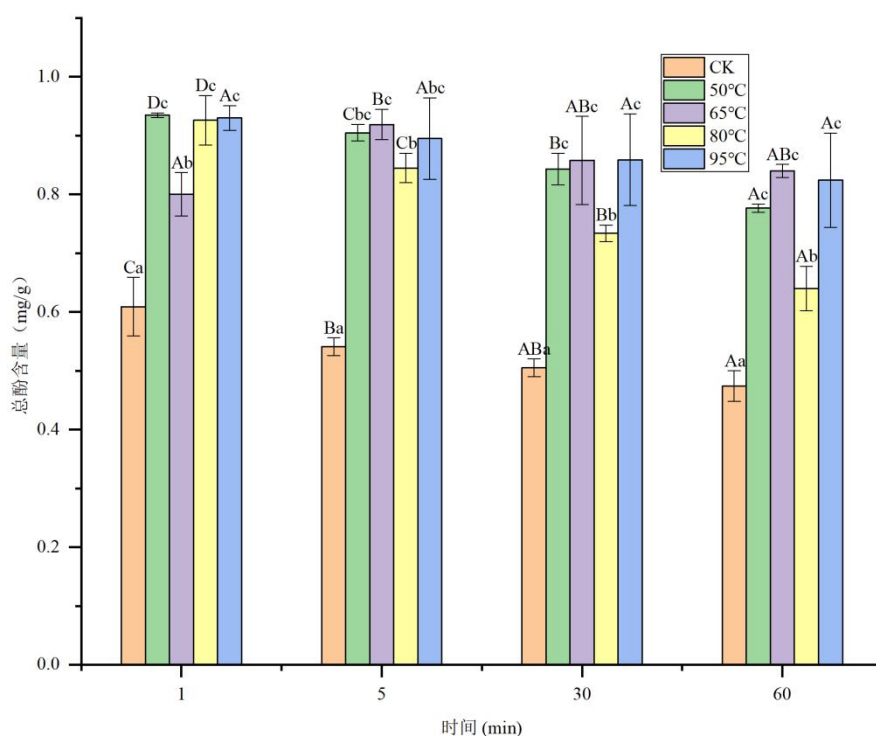


图 2-7 不同温度对西兰花茎总酚含量的影响

Fig. 2-7 Effect of Temperature Variation on Total Phenolic Content in Broccoli Stems

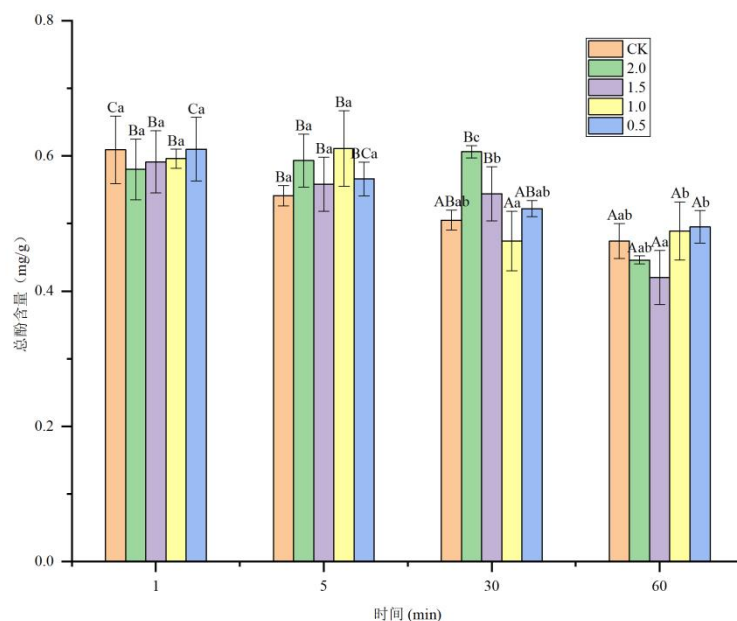


图 2-8 不同硫酸锌浓度对西兰花茎总酚含量的影响

Fig. 2-8 Effect of ZnSO₄ Concentration Gradients on Total Phenolic Content in Broccoli Stems

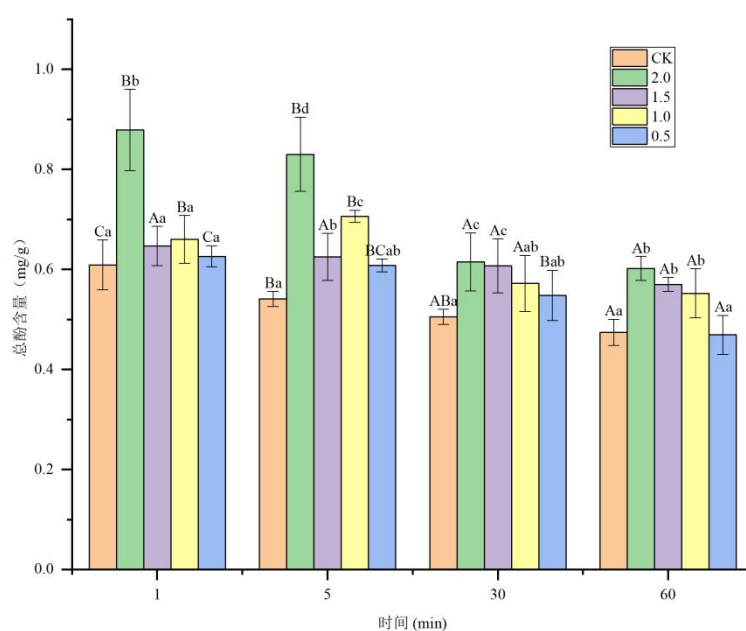


图 2-9 不同抗坏血酸浓度对西兰花茎总酚含量的影响

Fig. 2-9 Effect of Ascorbic Acid Concentration Gradients on Total Phenolic Content in Broccoli

Stems

注 c: 图中含有不同小写字母表示在同一时间下不同温度或浓度西兰花茎中总酚含量之间的差异显著 ($p < 0.05$); 图中含有的大写字母表示西兰花茎在相同温度或浓度下不同时间处理西兰花茎总酚含量差异显著 ($p < 0.05$)。

2.2.5 不同预处理对西兰花茎可溶性蛋白含量的影响

根据图 2-10 可知, 不同温度处理下, 西兰花茎中可溶性蛋白含量会降低, 且处理的温度越高、处理的时间越长, 西兰花茎中可溶性蛋白的含量就越低。这可能是因为随着温度的升高, 西兰花茎中的可溶性蛋白含量会因为高温而变形失活。由图 2-11 可知, 不管是不同浓度相同时间的处理下或是不同时间相同浓度的处理下, 硫酸锌溶液对西兰花茎中可溶性蛋白的含量影响都不大。而图 2-12 表示, 仅在抗坏血酸浓度为 1.5 mmol/L 的时候会显著降低西兰花茎中可溶性蛋白的含量 ($p < 0.05$), 其他的组别均无较大影响。

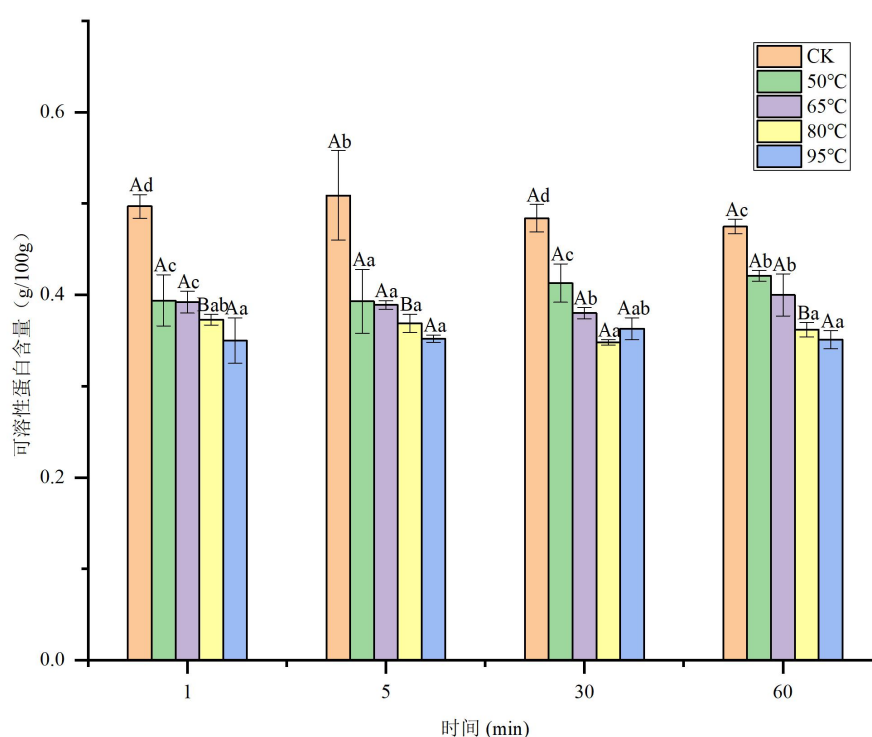


图 2-10 不同温度对西兰花茎可溶性蛋白含量的影响

Fig. 2-10 Effect of Temperature Variation on Soluble Protein Content in Broccoli Stems

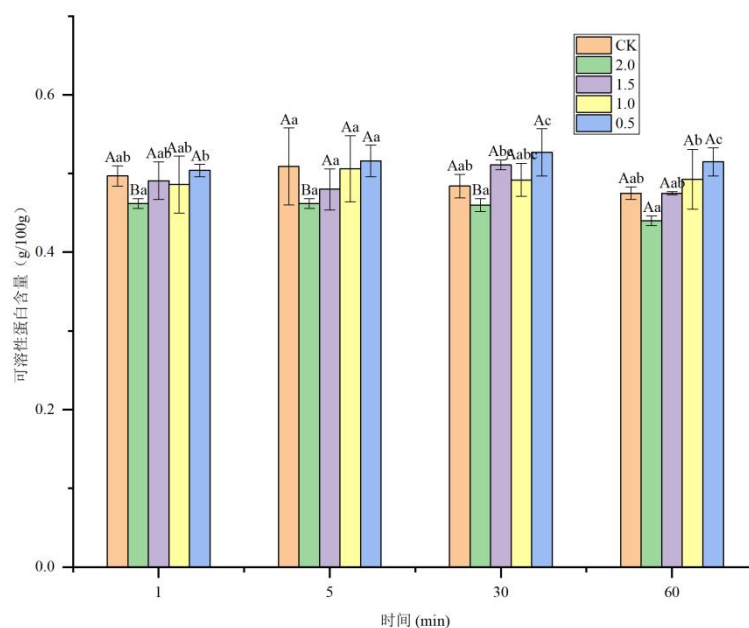


图 2-11 不同硫酸锌浓度对西兰花茎可溶性蛋白含量的影响

Fig. 2-11 Effect of ZnSO_4 Concentration Gradients on Soluble Protein Content in Broccoli Stems

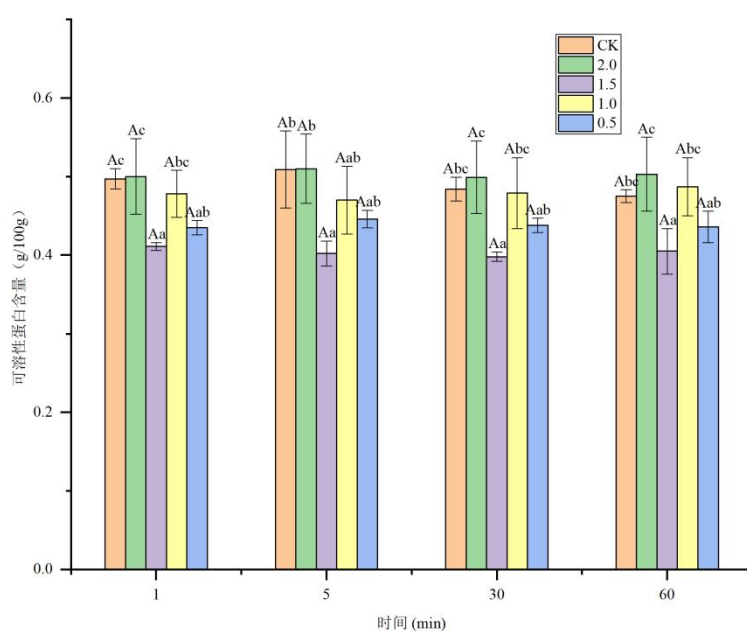


图 2-12 不同抗坏血酸浓度对西兰花茎可溶性蛋白含量的影响

Fig. 2-12 Effect of Ascorbic Acid Concentration Gradients on Soluble Protein Content in Broccoli Stems

注 d: 图中含有不同小写字母表示在同一时间下不同温度或浓度西兰花茎中可溶性蛋白含量之间的差异显著 ($p < 0.05$)；图中含有的大写字母表示西兰花茎在相同温度或浓度下不同时间处理中可溶性蛋白含量之间的差异显著 ($p < 0.05$)。

2.3 本章小结

本章探究了三种不同预处理条件下（温度、硫酸锌浓度、抗坏血酸浓度）西兰花茎中萝卜硫素含量、黑芥子酶活性、总酚含量以及可溶性蛋白含量。结果表明：

1、在三种不同的预处理条件中，温度是对西兰花茎的各个测定指标影响最大的一个。在所有的测定指标中均表现出了差异的显著性（ $p < 0.05$ ），因此，将温度认为是对西兰花茎影响最大的因素，用于后续章节中的代谢组学研究。

2、80℃及 95℃组的萝卜硫素含量都是随时间增加先上升后下降，最高值为 2.69 ± 0.048 mg/100 g，最低值为 1.529 ± 0.063 mg/100 g。而 50℃及 60℃组的萝卜硫素含量在随时间增加稳步上升，其中在 50℃条件下加热 1 h 的西兰花茎所表现出来的萝卜硫素含量最高为 4.16 ± 0.28 mg/100 g，与对照组相比较的话（CK， 1.79 ± 0.17 μg/100 g）提高了 132%。同时，硫酸型溶液浸泡组和抗坏血酸溶液浸泡组都表现出了对西兰花中硫代葡萄糖苷降解成异硫氰酸盐的促进作用。其中硫酸锌溶液处理的峰值为 1.0 mmol/L 条件下浸泡 1 h， 3.235 ± 0.062 mg/100 g，是对照组 1.525 ± 0.056 mg/100 g 的 2.12 倍，而抗坏血酸的峰值同样是 1.0 mmol/L 条件下浸泡处理 1 h，但萝卜硫素含量仅为 2.144 ± 0.045 mg/100 g，较对照组提高了 40%。

3、三种预处理情况下的西兰花茎中的黑芥子酶活性基本保持与西兰花茎中萝卜硫素含量的一致。有所区别的是，80℃及 90℃组在加热 30 min 后，其西兰花茎中的黑芥子酶活性显著低于对照组（ $p < 0.05$ ），这是由于黑芥子酶受热变性失活所导致的。

4、除热处理组对西兰花中总酚含量以及可溶性蛋白含量的影响较对照组有显著差异之外（ $p < 0.05$ ），其余两种预处理对西兰花中总酚含量以及可溶性蛋白含量的影响不大。其中总酚含量的峰值是在 50℃条件处理 1 min 后，最高值是同等处理条件下对照组的 1.54 倍；可溶性蛋白的最小值是在 80℃条件下处理 30 min 后，最小值是同等处理条件下对照组的 70%。

第3章 热处理后西兰花茎中硫代葡萄糖苷成分特征的深入分析

西兰花（*Brassicaceae*）作为重要的经济作物，在全球范围内广泛种植。大量研究表明，摄入十字花科蔬菜（包括西兰花）可显著降低癌症发病率，其抗癌活性主要归因于异硫氰酸酯和硫代葡萄糖苷（*Glucosinolates, GSLs*）等生物活性物质^[88]。萝卜硫素（*Sulforaphane*）作为代表性异硫氰酸酯，由西兰花中主要硫代葡萄糖苷——4-甲基亚磺酰丁基硫苷（*Glucoraphanin*）经内源黑芥子酶（*Myrosinase*）水解生成^[89]，已被证实具有神经保护、抗炎及抗癌等多重生物学效应。

硫代葡萄糖苷是十字花科植物特有的含硫次生代谢物，目前已鉴定出超过130种硫代葡萄糖苷，其组成与含量在不同物种间差异显著^[90]。当植物组织受损时，硫代葡萄糖苷在黑芥子酶作用下可降解为异硫氰酸酯、硫氰酸盐及腈类等产物^[91]。上一章节内容中已证实热处理对西兰花茎中萝卜硫素生成具有显著调控作用，常规热处理通常导致硫代葡萄糖苷含量下降，且损失率随处理时间延长而增加。但热处理对其硫代葡萄糖苷代谢的影响机制尚未明确。本章以新鲜西兰花茎为材料，选取萝卜硫素含量差异最明显的实验组与对照组（低、中、高，其中低为对照组，中为80℃下处理1h、高为50℃下处理1h）开展广泛靶向代谢组学分析，旨在阐明：（1）西兰花茎中硫代葡萄糖苷代谢对热处理的响应规律；（2）温度介导的硫代葡萄糖苷转化网络与关键代谢物谱系。研究结果将为西兰花茎资源化利用提供理论依据。

3.1 实验材料与方法

同2.2.1。

3.1.1 实验试剂

表 3-1 实验试剂

Table 3-1 Experimental reagents

试剂名称	规格	厂家
萝卜硫素	>90.0 % (HPLC)	上海源叶生物技术有限公司
甲酸	>90.0 % (HPLC)	阿拉丁生化科技股份有限公司
乙腈	>90.0 % (HPLC)	美国默克公司
甲醇	>90.0 % (HPLC)	美国默克公司

3.1.2 实验设备及仪器

表 3-2 实验设备

Table 3-2 Experimental equipment

设备名称	型号	厂家
电子天平	JY1002	上海精密科学仪器有限公司
真空冷冻干燥机	Scientz-100F	宁波新芝生物科技股份有限公司
高速粉碎机	FW100	天津市斯泰特仪器有限公司
超声波清洗仪	030S	深圳市超洁科技实业有限公司
台式高速冷冻型微量离心机	D3024R	北京大龙兴创实验仪器有限公司
超高效液相色谱-串联质谱	ExionLCTM AD	岛津（上海）实验器材有限公司

3.1.3 实验方法

3.1.3.1 西兰花茎处理

西兰花茎处理同 2.2.4.1。

3.1.3.2 高效液相色谱串联质谱法鉴定硫代葡萄糖苷

基于萝卜硫素定量结果（详见上一章），选取 50℃（Boes-A）、80℃（Boes-B）及对照组（Boes-CK）分别处理 1 h 的三组样本，研究热处理对西兰花茎硫代葡萄糖苷代谢谱的影响。实验样本经真空冷冻干燥机处理 72 h 后，使用研磨仪粉碎成粉末。称取 50 mg 粉末样品，加入预冷至-20℃的 70%甲醇水溶液 1200 μ L，样品量不足时按比例调整提取液体积。采用涡旋震荡 30 s，间隔 30min（共 6 次循环）的日间处理程序，12,000 rpm 离心 3 min 后取上清液，经 0.22 μ m 微孔滤膜过滤后储存于进样瓶待测。

样品分析采用超高效液相色谱-串联质谱联用系统。色谱条件设置为：Agilent

SB-C18 色谱柱（100 毫米长度×2.1 毫米内径，1.8 微米粒径），流动相 A 为含 0.1%甲酸的水溶液，B 为含 0.1%甲酸的乙腈溶液。梯度洗脱程序初始为 95%A 与 5%B，9 min 内线性梯度切换至 5%A 与 95%B，维持 1 min 后于 1.1 min 内恢复至初始比例并平衡 2.9 min。流速 0.35 mL/min，柱温 40℃，进样量 2 μ L。色谱流出液经接口导入质谱仪。

质谱参数设定为：电喷雾离子源（ESI）温度 550℃，正离子模式电压+5500 V，负离子模式电压-4500 V；离子源气体 I（GSI）压力 50 psi，气体 II（GSII）60 psi，帘气（CUR）25 psi；碰撞激活解离（CAD）设为高强度。采用多反应监测（MRM）模式，以氮气为碰撞气，经去簇电压（DP）和碰撞能（CE）优化后，按代谢物洗脱时段采集特征离子对。

3.1.4 数据分析

物质定性基于二级谱信息完成。分析阶段依托迈维代谢物数据库，剔除同位素信号、含 $K^+/Na^+/NH_4^+$ 加合离子及高质荷比碎片离子的干扰信号。质谱原始数据通过 Analyst 1.6.3 软件处理，结合迈维代谢组学数据库实现代谢物定性及半定量分析。各物质特征离子经三重四极杆质谱鉴定后，检测器捕获特征离子信号强度（CPS）。使用 MultiQuant 软件打开质谱文件，执行色谱峰积分与基线校正，各色谱峰面积反映相应物质的相对含量。所有色谱峰积分数据导出后，依据代谢物保留时间与峰形信息进行跨样本峰对齐校正，确保定性及定量结果的准确性。

代谢组学数据分析基于 SIMCA-P 14.1 平台实施，采用帕累托标度化预处理结合多元统计建模策略：首先构建无监督主成分分析（PCA）模型解析数据固有变异特征，进而通过正交偏最小二乘判别分析（OPLS-DA）建立监督模型以挖掘组间差异代谢物。其中 OPLS-DA 通过提取 X、Y 变量并计算组分间相关性，最大化组间差异以筛选差异代谢物。相较于 PCA，该方法整合正交信号校正（OSC）与 PLS-DA 算法优势，将 X 矩阵信息分解为 Y 相关信息和正交噪声信号，通过滤除噪声提升模型判别效能。具体而言，X 矩阵中与 Y 无关的变异信息被剥离，保留与分类目标直接关联的生物标志物特征^[92]。

3.2 结果与分析

3.2.1 多元统计分析

三组样本（Boes-A、Boes-B、Boes-CK）的代谢物通过 MetWare 代谢组学数

数据库完成定性与定量分析。如图 3-1A 所示，MRM 代谢物检测多峰图中不同颜色峰代表各检测到的代谢物信号。图 3-1B 展示了随机选取代谢物在样本中的积分校正结果，横坐标为代谢物保留时间，纵坐标对应特征离子流强度。补充材料数据显示，实验共鉴定到 76 种代谢物，包括 28 种核苷酸及其衍生物、25 种硫代葡萄糖苷、19 种氨基酸及其衍生物、3 种吡啶生物碱以及 1 种异硫氰酸酯。图 3-2 展示了各组之间上下调代谢物数目。图 3-3 展示了正负离子模式下质控样本总离子流谱的叠加结果，各峰响应强度与保留时间高度重合，表明仪器误差影响可忽略，数据质量可靠。

三组样本总代谢物的主成分分析（PCA）初步揭示了组间代谢谱差异及组内变异程度。如图 3-4 所示，各组样本聚类良好（组内重复性高），且组间分离显著（ $p < 0.05$ ）。前两个主成分累计贡献率达 86.88%，其中 PC1 维度上样本按温度处理梯度分布，PC2 维度则区分热处理与非热处理样本。为排除混杂因素并精准解析温度效应，采用有监督 OPLS-DA 模型进行差异代谢物筛选。该模型通过定向模式识别过滤正交噪声，有效识别生物标志物^[93]。图 3-5 中 Boes-A、Boes-B 与 Boes-CK 的 OPLS-DA 得分图显示，模型解释度参数 R^2X （X 矩阵）与 R^2Y （Y 矩阵）均高于 0.95，预测能力参数 Q^2 值超过 0.9，表明模型具有优异的分类效能与预测可靠性。

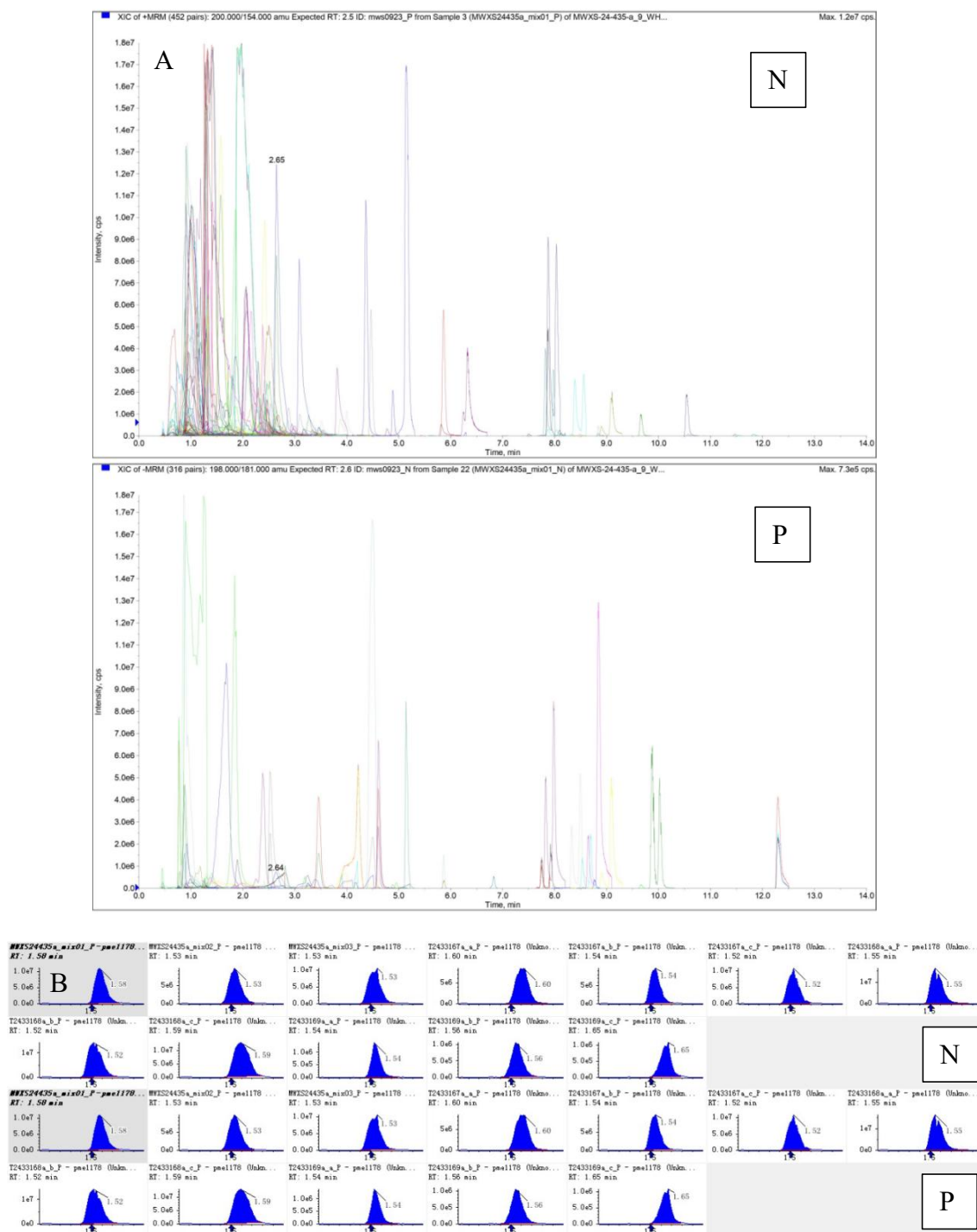


图 3-1(A) 多模态图谱的 MRM 检测；(B)化学计量代谢物定量分析的积分校正图

Fig. 3-1 (A) MRM detection of multimodal maps; (B) Integral correction plot for quantitative analysis of stoichiometric metabolites.

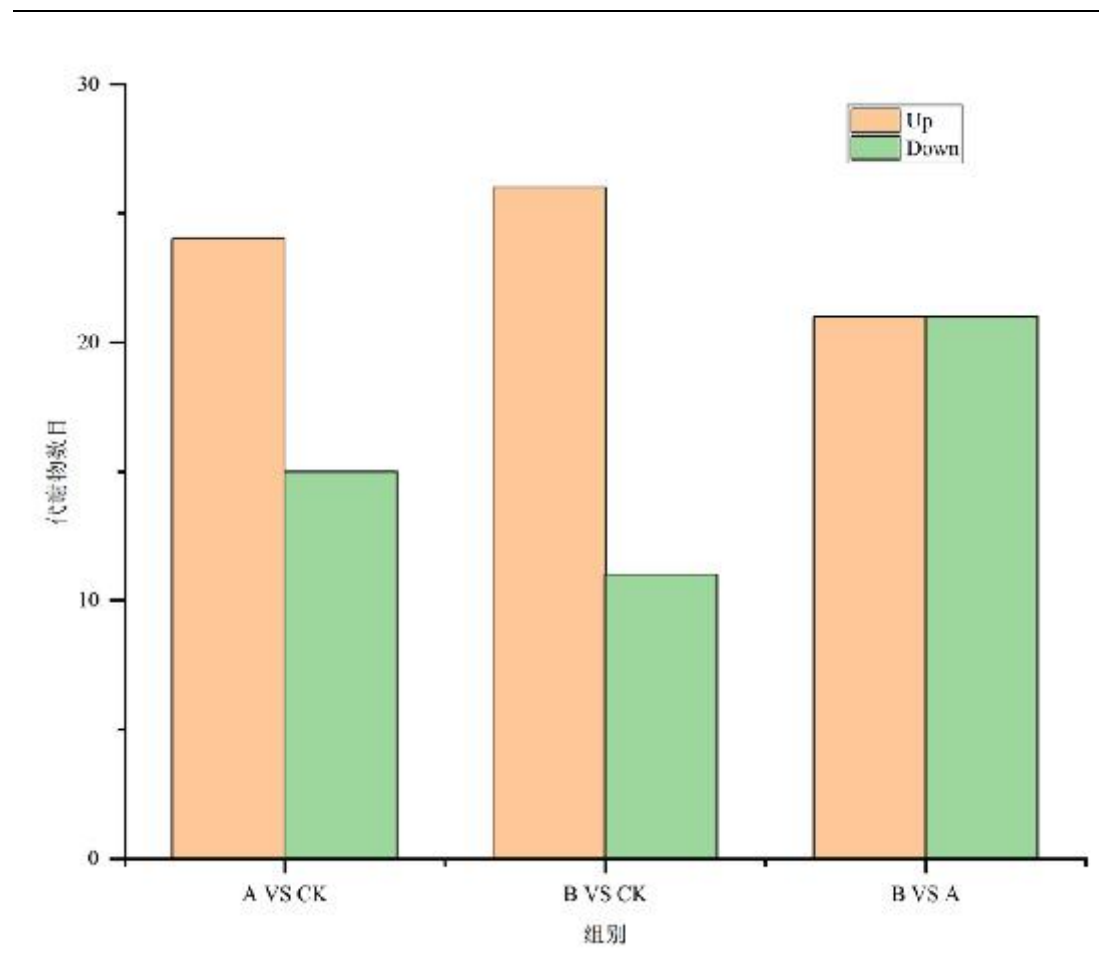


图 3-2 上下调代谢物数目

Fig. 3-2 The number of up-regulation metabolites and down-regulation metabolites

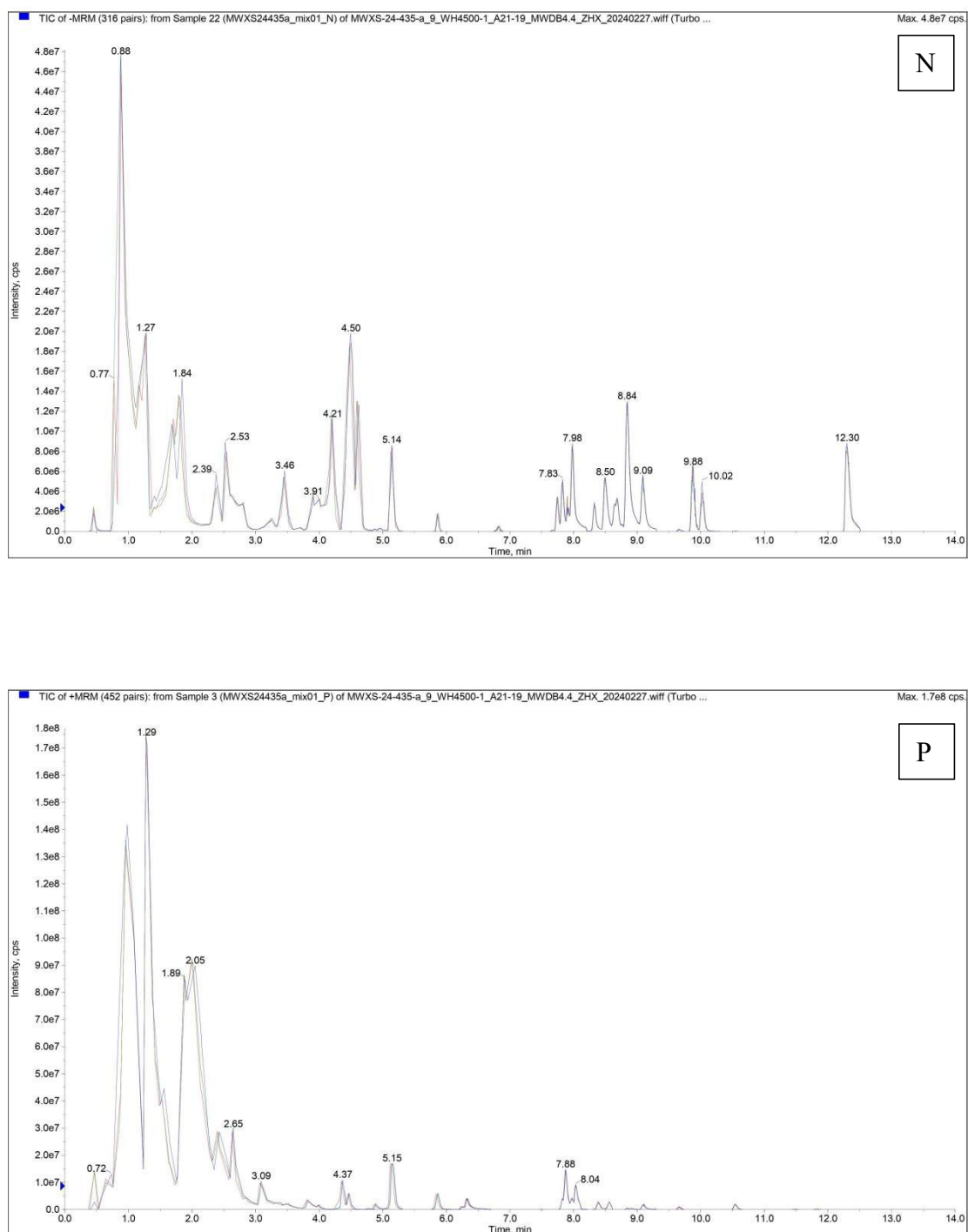


图 3-3 正离子和负离子检测模式下的质控样品

Fig. 3-3 Quality control samples in both positive and negative ion detection modes

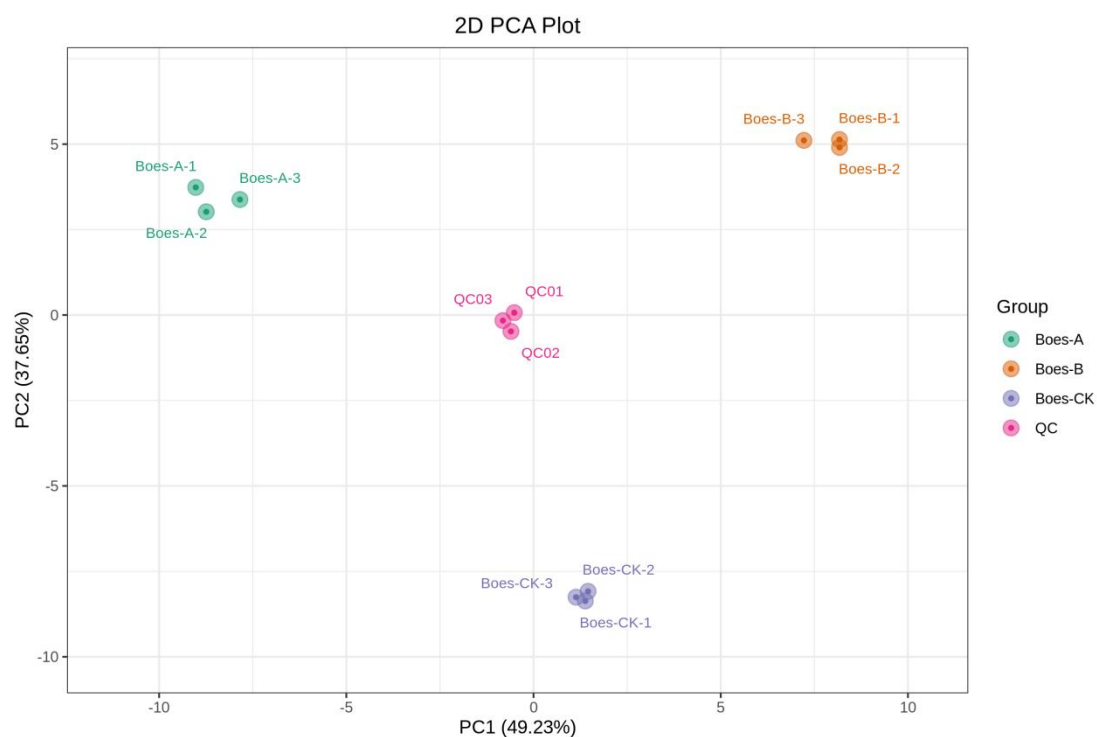


图 3-4 主成分分析结果

Fig. 3-4 The PCA results.

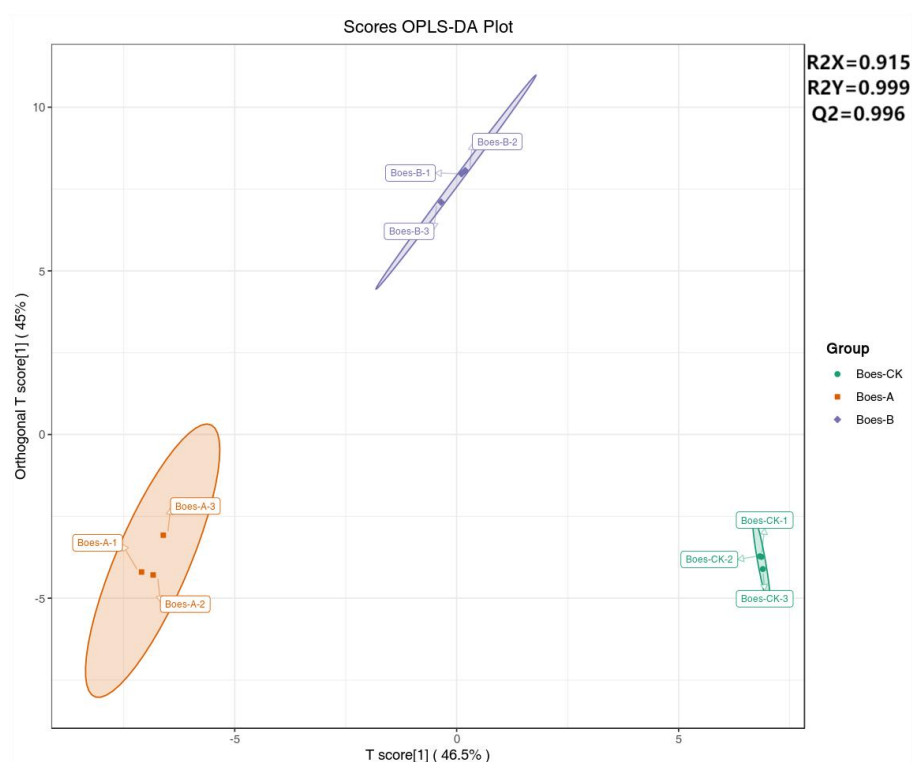


图 3-5 OPLS-DA 得分图

Fig. 3-5 OPLS-DA score plots between the following pairs of groups

3.2.2 西兰花茎中的硫代葡萄糖苷

代谢组学分析显示, 三种热处理组 (Boes-A、Boes-B、Boes-CK) 的西兰花茎中共鉴定到 25 种硫代葡萄糖苷, 包括 18 种脂肪族硫代葡萄糖苷、4 种吲哚族硫代葡萄糖苷及 3 种芳香族硫代葡萄糖苷 (详见表 3-3)。其中脂肪族硫苷以 4-(甲基亚磺酰基)丁基硫苷 (4-(methylsulfinyl) butyl glucosinolate) 占比最高 (约占总硫代葡萄糖苷的 10%), 而吲哚硫代葡萄糖苷中新葡萄糖芸苔素占主导 (49%)。

各组间总硫代葡萄糖苷含量与单体含量均呈现显著差异 ($p < 0.05$)。如表 3-3 所示, Boes-B 组总硫代葡萄糖苷水平最高 (显著高于 Boes-CK 组, $p < 0.05$), Boes-A 组最低。显而易见的是, Boes-A 组因为加热提高了黑芥子酶的活性, 促进了硫代葡萄糖苷的降解。另一方面, 加热本身就会促进硫代葡萄糖苷的分解^[94]。而有关于 Boes-B 组在经过了热处理后总硫代葡萄糖苷的水平反而升高了, 这与 Verkerk 等人的研究结果极为相似。他们研究曾发现微波处理红甘蓝的硫代葡萄糖苷浓度较生鲜样品提升了 60%, 这可能是因为热处理促进了植物组织分解、导致植物内部结构被破坏, 从而释放了细胞壁结合态的硫代葡萄糖苷的机制相关^[95]。

除此之外, 与对照组相比, Boes-B 组的 3-甲基亚磺酰丙基硫苷、7-(甲硫基)己基硫苷、1-羟基吲哚-3-甲基硫苷等六种硫代葡萄糖苷含量均提升两倍以上, 该趋势与萝卜硫素含量变化趋势一致。值得注意的是, Oerlemans^[96]等指出红甘蓝中吲哚族硫代葡萄糖苷的热敏感性高于脂肪族硫代葡萄糖苷, 但本研究发现 Boes-A 组、Boes-B 组下西兰花茎的脂肪族硫代葡萄糖苷热稳定性反而低于吲哚族硫代葡萄糖苷, 提示硫代葡萄糖苷稳定性存在物种特异性, 在不同的蔬菜种类中热稳定性可能不同^[97]。Dekker^[98]等曾报道西兰花中 3-丁烯基硫代葡萄糖苷的热稳定性优于其他十字花科植物, 进一步支持这一推论。

图 3-6 针对三组样品中的硫代葡萄糖苷进行了聚类分析, 颜色越深则代表含量越高。结合表 3-3 列举出的三组样品中所有的硫代葡萄糖苷, 探究它们的含量以及分布情况。其中相对含量最高的十种硫代葡萄糖苷包括七种脂肪族硫代葡萄糖苷和三种吲哚族硫代葡萄糖苷。脂肪族硫代葡萄糖苷包括: 4-(甲基亚磺酰基)丁基芥子油苷、4-甲硫基丁基芥子油苷(葡糖芥酸苷)、3-甲基戊基芥子油苷、萝卜硫素、7-(甲硫基)己基芥子油苷、4-甲硫基-3-丁烯基芥子油苷和 6-羟基己基芥子油苷。吲哚族硫代葡萄糖苷则包括: 1-甲氧基-3-吲哚甲基芥子油苷、4-羟基吲

噪-3-甲基芥子油苷和 1-羟基吲噪-3-甲基芥子油苷。本研究中采用的 50°C 热处理证实了 Ciska 等人的发现, 该发现表明经过热处理后西兰花中 4-羟基葡萄糖芸苔素和 4-甲氧基葡萄糖芸苔素显著减少^[99] ($p < 0.05$)。这些化合物的热稳定性似乎相对有限^[100]。硫代葡萄糖苷在热降解敏感性方面表现出明显的结构特异性, 不同的结构会给硫代葡萄糖苷带来不同的热稳定性。特别是在 Boes-A 和 Boes-B 与 Boes-CK 的对比中, 4-甲基亚磺酰基-3-丁烯基芥子油苷和 4-戊烯基芥子油苷的水平显著降低 ($p < 0.05$), 证实了西兰花茎中这两种硫代葡萄糖苷的热稳定性受到限制的观点。对比分析显示, 脂肪族硫代葡萄糖苷的热稳定性比其他两种硫代葡萄糖苷更差。尽管有发现称甲基硫烷基硫代葡萄糖苷比甲基亚磺酰基硫代葡萄糖苷更容易受到热处理的影响^[101]。然而, 在本研究中, 当加热到 50°C 时, 甲基硫烷基硫代葡萄糖苷的含量比其他脂肪族硫代葡萄糖苷表现出更大的下降。

表 3-3 三个比较组中检出的硫苷类物质

Table 3-3 Glucosides Detected in Three Comparative Groups

ID	Boes-A	Boes-B	Boes-CK	Compounds	Sort
pmn001677	1.9E+07	3.9E+07	2.6E+07	1-Methoxy-3-indolylmethyl glucosinolate	Indol
MWSmce209	2.9E+07	1.2E+07	1.4E+07	Sulforaphane	Aliphatic
Lcln000170	2.7E+06	1.6E+07	5.9E+06	1-hydroxyindole-3-methyl glucosinolate	Indol
Lmnn001273	2.7E+06	1.7E+07	5.7E+06	4-Hydroxyindol-3-ylmethyl glucosinolate	Indol
Lhnn101118	1.5E+06	6.0E+06	5.0E+06	4-(Methylsulfinyl)butyl glucosinolate	Aliphatic
Lmyn002971	2.7E+06	1.3E+05	2.9E+06	3-Methylpentyl glucosinolate	Aliphatic
Lmnn001708	1.2E+06	4.7E+06	1.8E+06	4-Methylthiobutyl glucosinolate	Aliphatic
MWSmce416	3.2E+05	1.2E+06	1.1E+06	4-Methylsulfinylbutyl glucosinolate	Aliphatic
Cmln001498	1.1E+06	5.2E+04	8.3E+05	4-Methylthio-3-butenyl glucosinolate	Aliphatic
Lcln000177	1.0E+06	3.6E+04	7.7E+05	6-hydroxyhexyl glucosinolate	Aliphatic
Lhnn101126	2.1E+05	1.7E+06	6.8E+05	7-(Methylthio)hexyl glucosinolate	Aliphatic
pmf0437	1.4E+05	5.3E+05	4.0E+05	Glucocheirolin	Aliphatic
Cmln001809	1.4E+05	5.2E+05	2.1E+05	3-Methylsulfinylpropyl glucosinolate	Aliphatic
Zmbn001522	1.4E+05	5.2E+05	2.1E+05	2-Phenylethyl glucosinolate	aromatic

ID	Boes-A	Boes-B	Boes-CK	Compounds	Sort
Cmln000620	6.4E+04	1.7E+05	1.5E+05	3-Hydroxy-5-(methylthio)pentyl glucosinolate	Aliphatic
Lhnn101220	2.0E+05	1.7E+05	1.5E+05	8-Nonenyl glucosinolate	Aliphatic
Lmyn003825	5.1E+04	1.1E+04	1.4E+05	4-Methylsulfinyl-3-Butenyl Glucosinolate	Aliphatic
Zmln001381	1.3E+05	1.1E+05	1.4E+05	4-Phenylbutyl glucosinolate	aromatic
Lhnn101212	2.1E+04	1.7E+05	1.3E+05	2-(4-Methoxyphenyl)-2,2-dimethyl ethyl glucosinolate	aromatic
Lcln000174	3.2E+04	5.9E+03	9.1E+04	4-Pentenyl glucosinolate	Aliphatic
Lhnn101128	8.6E+04	5.7E+04	7.3E+04	7-(Methylsulfonyl)heptyl glucosinolate	Aliphatic
Lmnn003857	4.0E+04	1.3E+04	5.8E+04	8-Methylthiooctyl glucosinolate	Aliphatic
Lcln000181	3.8E+04	1.3E+04	5.5E+04	7-Methylthio-3-oxoheptyl Glucosinolate	Aliphatic
Lmyn002727	5.5E+04	6.3E+04	4.9E+04	3-Indolylmethyl glucosinolate	Indol
Lcln000180	1.1E+04	9.8E+03	7.4E+03	3-hydroxypropyl Glucosinolate	Aliphatic
Total GLSs	3.4E+07	8.9E+07	5.2E+07		
Aliphatic	6.4E+06	1.6E+07	1.2E+07		
Indole	2.5E+07	7.3E+07	3.6E+07		
Aromatic	2.9E+06	3.1E+05	3.4E+06		

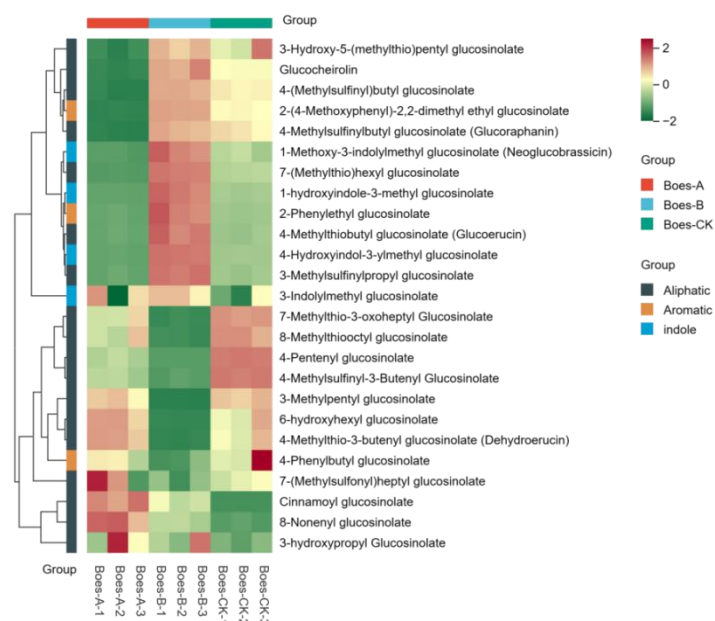


图 3-6 西兰花茎三种不同预处理样品中硫代葡萄糖苷的聚类分析热点图

Fig. 3-6 Heat map of UPLC-MS/MS analysis of glucosinolates by 3 different pretreatments

3.3 本章小结

本章首先通过高效液相色谱串联质谱对三组样品中的代谢物进行了鉴定，共鉴定到 76 种代谢物，包括 28 种核苷酸及其衍生物、25 种硫代葡萄糖苷、19 种氨基酸及其衍生物、3 种吲哚生物碱以及 1 种异硫氰酸酯。随后对总代谢物进行了主成分分析（PCA），初步揭示了组间代谢谱差异及组内变异程度，发现各组样本聚类良好（组内重复性高），且组间分离显著（ $p < 0.05$ ）。前两个主成分累计贡献率达 86.88%。

之后对本章的主要目的硫苷类物质进行了详细的研究，洞悉了西兰花茎在热处理过后的硫代葡萄糖苷组成及分布情况。发现 Boes-B 组总硫代葡萄糖苷水平最高（显著高于 Boes-CK 组， $p < 0.05$ ），Boes-A 组最低。这很大一部分程度上是因为加热提高了黑芥子酶的活性，促进了硫代葡萄糖苷的降解。随后挑选出三组样品中含量最高的十种硫苷类物质，通过组间比较证实了适当的加热处理会使 4-羟基葡萄糖芸苔素和 4-甲氧基葡萄糖芸苔素的含量显著减少（ $p < 0.05$ ）。

同时，本章研究还发现，与多数十字花科植物相比，西兰花茎中硫代葡萄糖苷组成呈现出明显的不同，具体表现为吲哚族硫代葡萄糖苷占比相对较高。更为重要的是，本研究发现西兰花茎组织中吲哚族硫代葡萄糖苷的热稳定性明显优于

脂肪族硫代葡萄糖苷。这一点与过往人们对其他的十字花科植物的研究有所不同。这一特性表明,西兰花茎的硫代葡萄糖苷在较高加工条件下仍能维持较高保留率,其耐热性可能源于加热后致使西兰花茎组织细胞壁结构被破坏,从而释放了细胞壁结合态的硫代葡萄糖苷,或者是特定硫苷侧链修饰的保护效应。

第 4 章 西兰花酒的研制

我国酒文化历史十分悠久，具有丰厚的历史底蕴，酒是逢年过节招待亲朋好友必不可少的东西。而随着近年来人们对物质生活的美好追求，酒的营养价值成为了人们关注的焦点。于是果酒酿造乘势而起，果酒兼具清香的风味和独特的营养价值。而西兰花因为其硫苷类物质讲解所散发出的独特气味，为部分人所不喜。但西兰花中的生物活性功能物质含量极为丰富^[102]，同时在收货季节大量的西兰花茎被废弃。综上所述利用西兰花茎进行深加工以及果酒开发势在必行。

模糊数学感官评价法是近年来才兴起的一种全新的评价体系，常用来进行简单的饮料工艺优化^[103]或是与响应面实验法结合起来进行较为复杂的发酵工艺优化^[104]。这种方法需要根据实验人所制定的感官指标评价表，再找来 10 名经过专业感官评价培训或者是有过一年以上经验的人来进行感官评价，随后确定评价因素集 U ，对感官指标的评价按三个等级评定，即感官评分标准集 V 。而评价因素权重集则根据实验发起人的意愿进行赋权。随后按照每个感官指标中各等级人数的占比，通过显示排列与组合得到 17 个模糊矩阵 R ，从而获得模糊综合评判总分。

本章实验首先采用模糊数学感官评价法，对不同配比的西兰花酒进行筛选，再通过单因素实验确定后续发酵工艺条件的优化范围，利用响应面实验优化发酵条件，开发出风味独特、营养价值高的西兰花酒。

4.1 材料与方法

4.1.1 实验材料

本实验以品种名为“优秀”的西兰花为实验材料，由安徽云中生态农业开发有限公司提供。芒果与苹果均是在超市同一天购买的同一批次的无明显损伤的水果。

4.1.2 西兰花酒制作工艺

西兰花茎、芒果与苹果洗净去核后打成浆。将西兰花浆分别与芒果浆、苹果浆按照 1:1、2:1、3:1 的比例混合后（每组净含量均为 1 kg），于无菌操作台上

外源添加白砂糖使含糖量变为 22%，接种 2%活化后的酵母菌液（酵母：无菌水为 1：10，在 37℃），在恒温箱中 30℃下发酵 7 天。编号分组如表 4-1 所示。

表 4-1 西兰花酒编号分组表

Table 4-1 Sensory Evaluation Criteria			
编号	西兰花	芒果	苹果
1	1	1	
2	2	1	
3	3	1	
4	1		1
5	2		1
6	3		1

4.1.3 感官评价法

招募 10 名经感官分析培训的评审员组建感官评定小组，按照标准化流程对澄清后的西兰花酒样色泽、香气、味道进行感官评级，每个指标分为 3 个等级梯度甲、乙、丙，具体感官评价标准见表 4-2。

表 4-2 感官评价标准

Table 4-2 Sensory Evaluation Criteria		
指标	等级	评价标准
色泽（30%）	甲	色泽黄，鲜明，明亮
	乙	色泽较黄，较鲜明，较明亮
	丙	色泽较暗，欠亮或浑浊
香气（30%）	甲	西兰花清香，香气纯正
	乙	西兰花清香，无杂气味
	丙	西兰花味淡
味道（40%）	甲	淡西兰花味，酒味适中，清爽
	乙	西兰花味不明显，微涩，较清爽
	丙	无西兰花味，浓涩

4.1.4 单因素实验

根据前期的预实验结果，决定从发酵温度、接种量、含糖量三个维度进行西兰花酒发酵的单因素实验。

4.1.4.1 发酵温度对西兰花酒萝卜硫素含量的影响

依据感官评价的结果选取一个西兰花酒发酵的配比，在接种量 2%、含糖量 22%的条件下分别于 20℃、25℃、30℃、35℃、40℃恒温箱中发酵 7 天，研究发酵温度对西兰花酒萝卜硫素含量的影响。

4.1.4.2 接种量对西兰花酒萝卜硫素含量的影响

依据感官评价的结果选取一个西兰花酒发酵的配比，在 30℃、含糖量 22%的条件下分别接种 0%、1%、2%、3%、4%的酵母菌后于恒温箱中发酵 7 天，研究接种量对西兰花酒萝卜硫素含量的影响。

4.1.4.3 含糖量对西兰花酒萝卜硫素含量的影响

依据感官评价的结果选取一个西兰花酒发酵的配比，在 30℃、接种量 2%的条件下分别调整发酵起始含糖量为 18%、20%、22%、24%、26%，研究含糖量对西兰花酒萝卜硫素含量的影响。

4.1.5 响应面优化工艺

实验设计采用正交设计响应面法，选定含糖量（A）、发酵温度（B）、接种量（C）为核心工艺参数，以萝卜硫素富集量含量为优化目标，通过 Design-Expert 11 软件构建 3 因素 3 水平的正交实验模型，系统考察主效应项与交互作用对目标产物的影响规律。响应面实验的因素与水平见表 4-3，完整实验矩阵及参数组合详见见表 4-4。

表 4-3 响应面实验水平因素表

Table 4-3 Response Surface Experimental Design Factors and Levels

因素	水平		
	-1	0	1
发酵温度（℃）	25	30	35
接种量（%）	1	2	3
含糖量（%）	18	22	26

表 4-4 响应面实验设计方案

Table 4-4 Response Surface Methodology Experimental Design

试验号	A	B	C
1	1	0	-1
2	0	0	0
3	-1	0	1
4	0	-1	-1
5	1	-1	0
6	0	-1	1
7	-1	0	-1
8	0	1	-1
9	0	1	1
10	-1	1	0
11	1	1	0
12	1	0	1
13	-1	-1	0
14	0	0	0
15	0	0	0

4.1.6 萝卜硫素含量的测定

方法同第二章。

4.1.7 数据处理与分析

所有实验均设置 3 组重复，结果以平均值 $\pm$ 标准差表示。采用 SPSS22.0 软件进行数据分析处理；并用 Origin2018 软件进行绘制图表。

4.2 结果与分析

4.2.1 感官评价结果

在收集了感官评价小组分别对 6 款西兰花酒的色泽、香气、味道的评级后，汇总的感官评价结果如表 4-5 所示。编号为 5 号的西兰花酒以感官评分 2.36 分的成绩胜出，即西兰花：苹果为 2:1。后续的单因素实验及响应面优化实验都将以这个比例来展开。

表 4-5 西兰花酒模糊数学法感官评价结果

Table 4-5 Sensory Evaluation Results of Broccoli Wine Based on Fuzzy Mathematics

编号	色泽			香气			味道			评分/ 分
	甲	乙	丙	甲	乙	丙	甲	乙	丙	
1	2	3	5	2	1	7	0	1	9	1.4
2	4	6	0	1	1	8	2	4	4	1.83
3	1	8	1	1	8	1	1	8	1	2
4	4	6	0	1	1	8	2	4	4	1.83
5	8	1	1	1	6	2	7	2	1	2.36
6	2	4	4	8	2	0	2	6	2	2.18

4.2.2 单因素实验结果

4.2.2.1 发酵温度对西兰花酒萝卜硫素含量的影响

由图 4-1 可知，在 20℃时，萝卜硫素含量为 0.40 ± 0.02 mg/100 g，这是由于温度较低时，发酵速度慢，酒精度数低。随着发酵温度逐渐升高，西兰花酒中的萝卜硫素含量先上升后下降，由 0.95 ± 0.03 mg/100 g 增加到 1.48 ± 0.08 mg/100 g 再减少到 0.37 ± 0.03 mg/100 g。可能是因为当发酵温度达到 40℃时，高温会导致酵母菌老化失活甚至死亡，这与郭芳等人在酸枣果酒发酵工艺的优化中得到的结论一致^[105]。基于此，确定 25-35℃温度梯度为后续工艺优化区间。

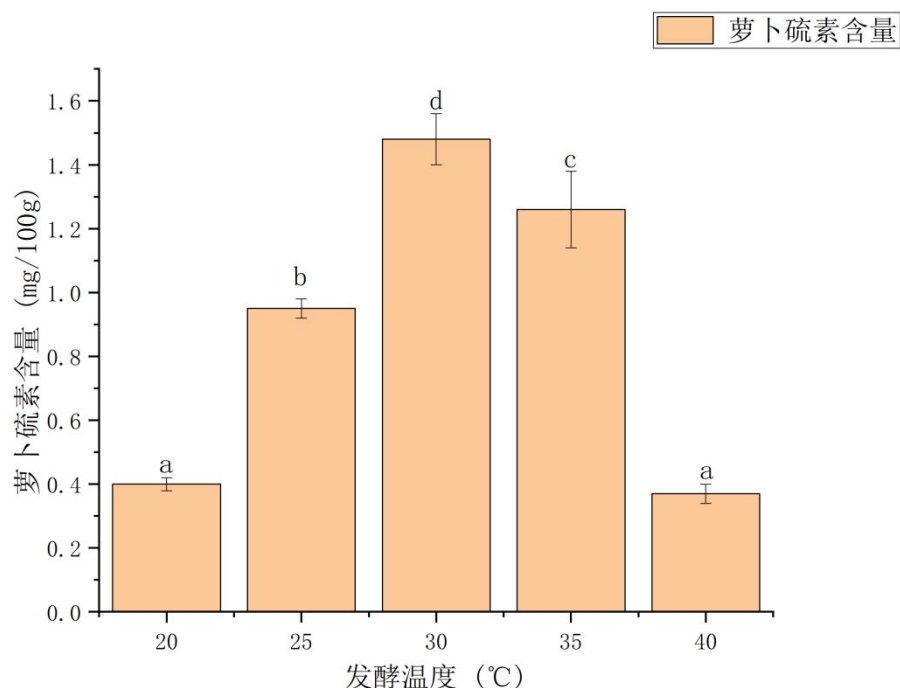


图 4-1 发酵温度对西兰花酒萝卜硫素含量的影响

Fig. 4-1 Effect of Fermentation Temperature on Sulforaphane Content in Broccoli Wine

4.2.2.2 接种量对西兰花酒萝卜硫素含量的影响

实验数据显示（图 4-2），西兰花酒的萝卜硫素含量随酵母接种量呈现动态变化：空白对照组含量为 0.41 ± 0.04 mg/100 g，接种量提升至 2% 时达到峰值 1.34 ± 0.05 mg/100 g，而 4% 接种量时则回落至 0.51 ± 0.04 mg/100 g。这种非线性响应可能与发酵体系营养限制有关——过量接种酵母菌在有限营养条件下会加速进入对数生长期，导致代谢底物过早耗竭并引发菌群衰亡，不利于萝卜硫素的积累。基于此，确定 1-3% 接种量梯度为后续工艺优化区间。

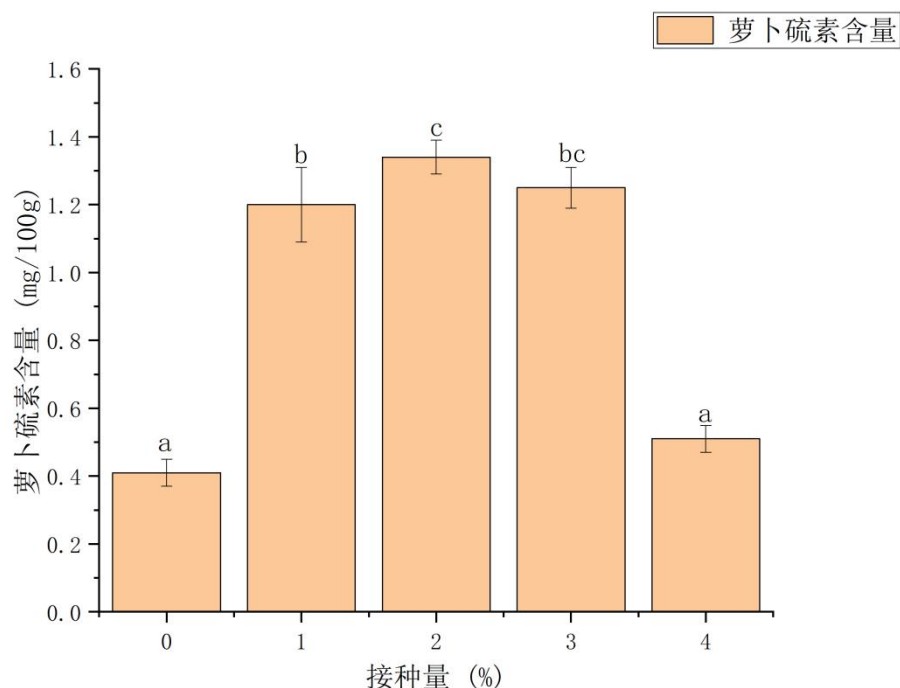


图 4-2 接种量对西兰花酒萝卜硫素含量的影响

Fig. 4-2 Effect of Inoculum Size on Sulforaphane Content in Broccoli Wine

4.2.2.3 含糖量对西兰花酒萝卜硫素含量的影响

由图 4-3 可知，当西兰花酒含糖量为 14% 的时候萝卜硫素的含量最低，为 $0.35 \pm 0.04 \text{ mg/100 g}$ ，这可能是由于营养物质过少会导致酵母菌菌群提前进入衰亡期。含糖量为 22% 时，萝卜硫素的含量最高，为 $1.48 \pm 0.08 \text{ mg/100 g}$ 。当含糖量继续提高到 30% 时，萝卜硫素的含量有明显下降，为 $0.99 \pm 0.04 \text{ mg/100 g}$ 。这可能是因为高糖环境下，部分不耐受的酵母菌细胞渗透压增加，进而导致生长活力降低、细胞周期阻滞、发酵性能减弱，严重时可能会破坏酵母菌骨架结构，导致酵母菌细胞死亡^[106]。基于此，确定 18-26% 含糖量梯度为后续工艺优化区间。

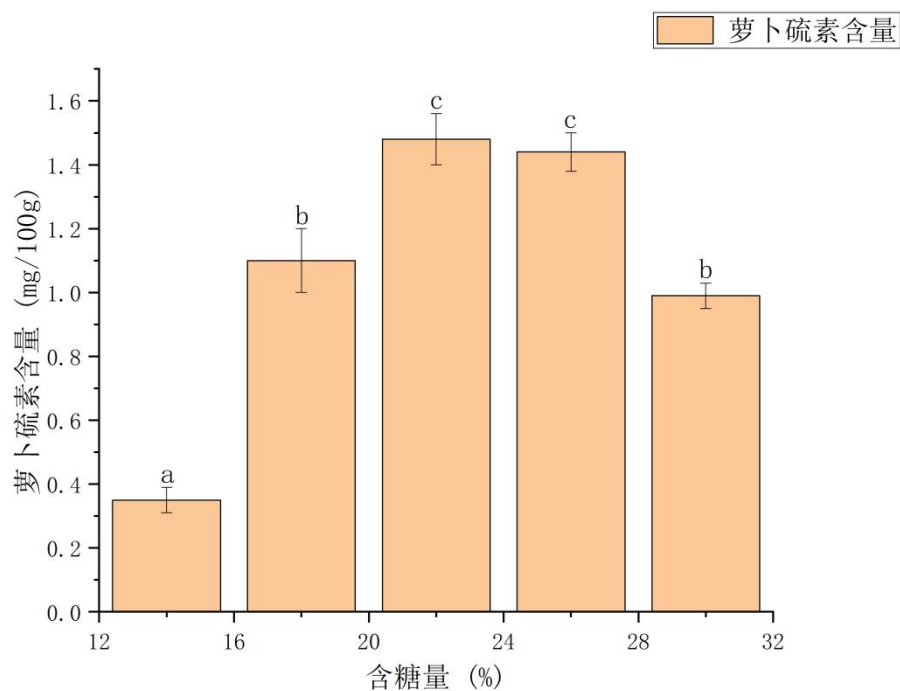


图 4-3 含糖量对西兰花酒萝卜硫素含量的影响

Fig. 4-3 Effect of Sugar Content on Sulforaphane Content in Broccoli Wine

4.3 西兰花酒优化实验结果

响应面实验设计方案下的结果如表 4-6 所示。在所选择的优化条件下，西兰花酒中萝卜硫素的含量变化在 0.43 mg/100 g-1.37 mg/100 g 之间。当发酵温度为 31℃，含糖量为 23.5%，接种量为 2.1%时，西兰花酒中的萝卜硫素含量达到最高。

表 4-6 响应面实验设计方案及结果

Table.4-6 Experimental Design Scheme and Results of Response Surface Methodology

试验号	A	B	C	R 萝卜硫素含量 (mg/100 g)
1	1	0	-1	0.99
2	0	0	0	1.37
3	-1	0	1	0.64
4	0	-1	-1	0.47
5	1	-1	0	0.73
6	0	-1	1	0.55
7	-1	0	-1	0.61
8	0	1	-1	0.86
9	0	1	1	0.83
10	-1	1	0	0.75
11	1	1	0	0.98
12	1	0	1	1.13
13	-1	-1	0	0.43
14	0	0	0	1.34
15	0	0	0	1.22

4.3.1 回归模型的建立与显著性分析

运用 Design-Exper 11 软件对含糖量(A)，发酵温度(B)，接种量(C)进行软件拟合，得到二次多项回归方程如下：

$$R = -22.20281 + 0.637188 * A + 0.96425 * B + 1.06625 * C - 0.000875 * AB + 0.006875 * A^2 - 0.005500 * BC - 0.013203 * A^2 - 0.015050 * B^2 - 0.256250 * C^2。$$

对回归方程进一步分析，所得方差结果如表 4-7 所示，该模型的 p 值为 0.0014，说明该模型的差异显著（ $p < 0.05$ ），本研究的 R^2 为 0.9768，表明实验结果与数学模型拟合程度较高，此模型可以用来分析和预测西兰花酒发酵工艺条件，由 F 检验可知三个因素对萝卜硫素影响程度的排序是含糖量（ $p = 0.0014$ ， $p < 0.05$ ）> 发酵温度（ $p = 0.0024$ ， $p < 0.05$ ）> 接种量（ $p = 0.3621$ ， $p > 0.05$ ），即 $A > B$

>C, 发酵起始的含糖量对萝卜硫素含量的影响最为明显。

表 4-7 回归模型方差分析

Table.4-7 Analysis of Variance of Regression Equation

来源	总和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	1.27	9	0.1409	23.41	0.0014
A 含糖量	0.2450	1	0.2450	40.70	0.0014
B 发酵温度	0.1922	1	0.1922	31.93	0.0024
C 接种量	0.0060	1	0.0060	1.00	0.3621
AB	0.0012	1	0.0012	0.2035	0.6708
AC	0.0030	1	0.0030	0.5025	0.5101
BC	0.0030	1	0.0030	0.5025	0.5101
A ²	0.1648	1	0.1648	27.37	0.0034
B ²	0.5227	1	0.5227	86.83	0.0002
C ²	0.2425	1	0.2425	40.27	0.0014
Residual	0.0301	5	0.0060		
失拟项	0.0175	3	0.0058	0.9259	0.5567
纯误差	0.0126	2	0.0063		
总误差	1.30	14			

注: ** $p < 0.01$, 差异极显著, * $p < 0.05$, 差异显著。

4.3.2 响应面交互作用分析

由图 4-4 (A) 可知, 当含糖量为 22% 时, 西兰花酒中的萝卜硫素含量随温度升高而增大, 而当发酵温度一定时, 西兰花酒中的萝卜硫素含量随含糖量的升高, 先增大后减小。由图 4-4 (B) 可知, 当含糖量一定时, 西兰花酒中的萝卜硫素含量随接种量的升高, 先增大后减小, 而当接种量为 2% 时, 西兰花酒中的萝卜硫素含量随含糖量的增大逐渐减小。由图 4-4 (C) 可知, 当发酵温度一定时, 接种量对西兰花酒中的萝卜硫素含量基本无影响, 而当接种量一定时, 西兰花酒中的萝卜硫素含量随发酵温度的升高先上升后下降。交互作用分析的结果是, 在实验优化的范围内, 接种量对西兰花酒中的萝卜硫素含量影响并不显著 ($p > 0.05$), 而含糖量和发酵温度在另一个因素确定的情况下, 对西兰花中萝卜硫

素含量的影响都是先上升后下降。这一结论与表 4-7 所体现出来的数据相符合。

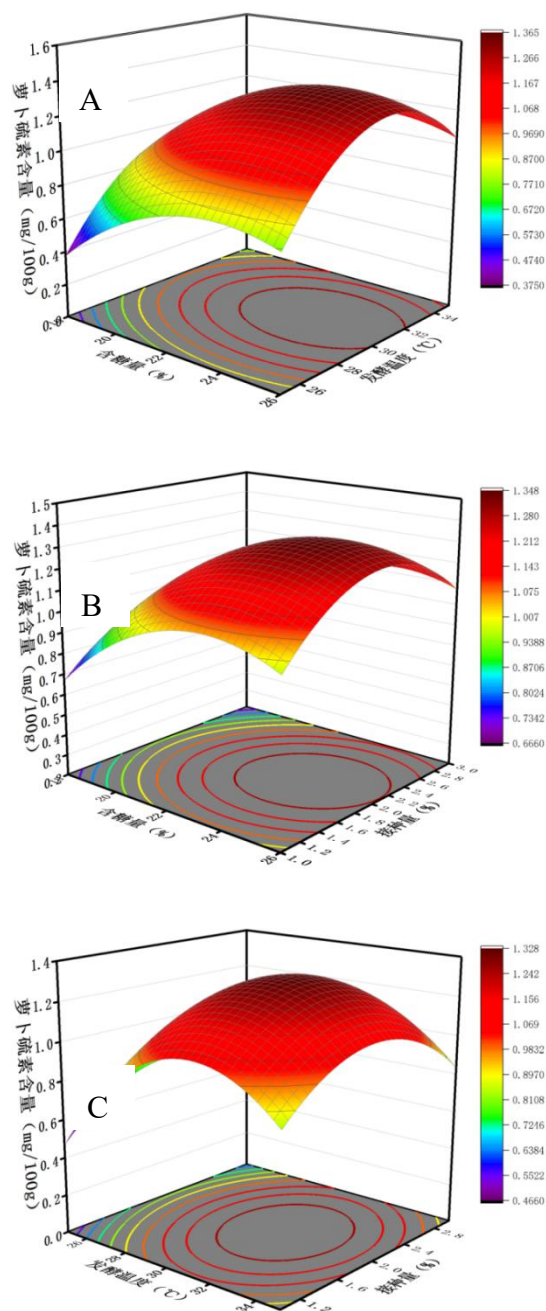


图 4-4 各因素交互作用对萝卜硫素含量影响的响应面和等高线图：(A)含糖量和发酵温度；

(B)含糖量和接种量；(C)发酵温度和接种量

Fig. 4-4 Effect of Sugar Content on Sulforaphane Content in Broccoli Wine: (A) sugar content and fermentation temperature; (B) sugar content and inoculation amount; (C) fermentation temperature and inoculation amount

4.3.3 最佳工艺的确定与验证

由 Design-Exper 11 的响应面实验处理结果可知, 在西兰花浆与苹果浆 2:1 的配比下, 西兰花酒的最佳工艺条件是含糖量 23.5%、发酵温度 31℃、接种量 2.1%, 萝卜硫素含量的预测结果为 1.36 mg/100 g。对响应面模型的可靠性进行验证, 并重复 3 次, 因萝卜硫素测定过程中存在不稳定性, 因此每个样品也需要重复 3 次所得萝卜硫素含量如表 4-8 所示, 最终得到验证后的西兰花酒萝卜硫素含量为 1.39 ± 0.08 mg/100 g, 符合预测结果, 证明响应面模型是可靠的, 且利用响应面来优化西兰花酒的发酵工艺是可行的。

表 4-8 验证实验结果表

Table.4-7 The Results of Verification Experiment

实验次数	1	2	3
萝卜硫素 (mg/100 g)	1.32 ± 0.08	1.44 ± 0.12	1.42 ± 0.06

4.4 本章小结

本章立足于西兰花茎的精深加工, 目标是西兰花酒的相关产品开发, 具体结果如下:

(1) 运用模糊数学感官评价法, 找来 10 个经过专业感官评价培训的人员对 6 组澄清过后的西兰花复合果酒, 进行感官评价, 最终编号为 5, 西兰花浆与苹果浆 2:1 的西兰花复合型果酒以 2.36 分脱颖而出, 用于后续的单因素实验以及响应面实验。

(2) 针对编号为 5, 西兰花浆与苹果浆 2:1 的西兰花复合型果酒进行单因素实验, 选取了含糖量、发酵温度以及接种量 3 个因素、5 个水平, 用控制变量法看这 3 个因素分别对西兰花酒中萝卜硫素含量的影响, 以此来确定响应面实验中三个因素的水平范围。根据单因素实验结果, 确定了 3 个含糖量 18%、22%、26%, 3 个发酵温度 25℃、30℃、35℃, 3 个接种量 1%、2%、3%。

(3) 在设计好了响应面实验方案后, 将方案对应的结果带入 Design-Exper 11 软件, 对含糖量(A), 发酵温度(B), 接种量(C)进行软件拟合, 得到二次多项回归方程。在软件拟合的回归方程中, 所预测的西兰花酒中萝卜硫素的含量变化在 0.43 mg/100 g-1.37 mg/100 g 之间。当发酵温度为 31℃, 含糖量为 23.5%, 接种量为 2.1%时, 西兰花酒中的萝卜硫素含量达到最高。对回归方程进行进一步分

析,可以得到回归模型方差分析表,由此可知三个因素对萝卜硫素影响程度的排序是含糖量>发酵温度>接种量。最后对所设计的响应面模型的可靠性进行了检验,检验过程中的到的西兰花酒萝卜硫素含量为 $1.39 \pm 0.08 \text{ mg/100 g}$,符合预测结果,证明响应面模型是可靠的。

第5章 结论与展望

5.1 结论

(1) 在三种针对西兰花茎不同的预处理中, 温度处理对于西兰花茎中萝卜硫素含量影响最为明显, 其中 50°C 的处理使得加热 1 h 的西兰花茎中萝卜硫素的含量达到最高值, 为 4.157 ± 0.282 mg/100 g, 是空白对照组 3.72 的倍, 同条件下对照组的 2.73 倍; 80°C 及 95°C 组的萝卜硫素含量都是随时间增加先上升后下降, 最高值为 2.69 ± 0.048 mg/100 g, 最低值为 1.529 ± 0.063 mg/100 g。同时, 硫酸型溶液浸泡组和抗坏血酸溶液浸泡组都表现出了对西兰花中硫代葡萄糖苷降解成异硫氰酸盐的促进作用。其中硫酸锌溶液处理的峰值在 1.0 mmol/L 条件下浸泡 1 h, 为 3.235 ± 0.062 mg/100 g, 是对照组 1.525 ± 0.056 mg/100 g 的 2.12 倍, 而抗坏血酸的峰值仅在 2.144 ± 0.045 mg/100 g, 较对照组来说萝卜硫素的含量仅提高了 40%。三种预处理情况下的西兰花茎中的黑芥子酶活性基本保持与西兰花茎中萝卜硫素含量的一致。不同的是, 80°C 及 90°C 组在加热 30 min 后, 其西兰花茎中的黑芥子酶活性显著低于对照组 ($p < 0.05$), 这是由于黑芥子酶受热变性失活所导致的。除热处理组对西兰花中总酚含量以及可溶性蛋白含量的影响较对照组有明显差异之外, 其余两种预处理对西兰花中总酚含量以及可溶性蛋白含量的影响不大。其中总酚含量的峰值是在 50°C 条件处理 1 min 后, 最高值是同等处理条件下对照组的 1.54 倍; 可溶性蛋白的最小值是在 80°C 条件下处理 30 min 后, 最小值是同等处理条件下对照组的 70%。

(2) 在第二章中首先采用高效液相色谱-串联质谱 (HPLC-MS/MS) 对第一章中筛选出的三组样本进行代谢组学分析, 共鉴定出 76 种代谢物, 涵盖五大类物质: 硫代葡萄糖苷 (25 种)、异硫氰酸酯 (1 种)、核苷酸及其衍生物 (28 种)、氨基酸及其衍生物 (19 种) 以及吲哚生物碱 (3 种)。通过主成分分析 (PCA) 发现, 各组样本在代谢谱上呈现明显的分离 (前两主成分累计方差贡献率 86.88%), 且组内样本高度聚集, 表明实验重复性良好。

针对核心研究对象硫代葡萄糖苷, 本研究系统解析了热处理对西兰花茎硫代

葡萄糖苷组成的影响规律。值得注意的是, Boes-B 组(80℃下加热 1 h)总硫代葡萄糖苷含量显著高于未处理组 Boes-CK, 而 Boes-A 组(50℃下加热 1 h)含量最低。这种差异可能与热处理激活黑芥子酶活性、加速硫苷酶解转化有关。进一步对丰度前十的硫苷类物质进行定量分析, 发现适度热处理可显著降低 4-羟基葡萄糖芸苔素和 4-甲氧基葡萄糖芸苔素的含量。

值得注意的是, 西兰花茎硫代葡萄糖苷组成具有物种特异性: 相较于常见十字花科植物, 西兰花茎中吲哚族硫代葡萄糖苷占比明显更高。更为特殊的是, 本研究发现吲哚族硫代葡萄糖苷在热处理过程中表现出较脂肪族硫代葡萄糖苷更强的热稳定性, 这一现象与多数十字花科植物的热敏特性形成鲜明对比。通过查找文献发现, 其耐热特性可能与以下因素相关: ①热处理导致细胞壁结构崩解, 释放壁结合态硫代葡萄糖苷; ②硫代葡萄糖苷中特定 R-侧链结构(如吲哚环的 $\pi-\pi$ 共轭体系)通过空间位阻效应抑制热降解。这一发现为西兰花茎加工工艺优化提供了理论依据。

(3) 基于模糊数学感官评价体系, 组织 10 名经专业培训的感官评价员对 6 组澄清型西兰花复合果酒进行多维度感官评估。结果表明, 采用西兰花浆与苹果浆按 2:1 比例复配的 5 号样品(综合得分 2.36 分)在色泽、香气、滋味等感官指标上综合表现最优, 故选定其为后续单因素及响应面优化实验的基础配方。

在工艺参数优化阶段, 首先通过单因素实验探究含糖量(18%-26%)、发酵温度(25-35℃)和接种量(1%-3%)对目标活性物质萝卜硫素含量的影响规律。基于剂量效应曲线, 确定响应面实验的关键参数区间为含糖量 18%、22%、26%、发酵温度 25℃、30℃、35℃、接种量 1%、2%、3%。继而采用 Box-Behnken 设计构建三因素三水平响应面模型, 利用 Design-Expert 11 软件对实验数据进行二次多项式回归分析。模型预测显示, 萝卜硫素含量在 0.43-1.37 mg/100 g 范围内呈显著工艺依赖性, 其最优工艺组合为含糖量 23.5%、发酵温度 31℃、接种量 2.1%, 此时理论含量达峰值。方差分析揭示三因素影响强度依次为含糖量>发酵温度>接种量。模型验证实验中实测萝卜硫素含量为 1.39 ± 0.08 mg/100 g, 与预测值相对误差 $\leq 1.5\%$, 证实该响应面模型具有工程应用可靠性。

5.2 创新

(1) 首次在西兰花茎中运用代谢组学技术分析其在热处理过程中的代谢物

变化情况和硫代葡萄糖苷的组成及分布情况,探究了西兰花茎与别的十字花科植物所不同的地方。

(2) 开创性的将西兰花与果酒相结合,既可以掩盖西兰花中硫代葡萄糖苷降解成为异硫氰酸盐之后所散发的刺鼻的气味,又可以很大程度上保留西兰花中以萝卜硫素为主的生物活性功能成分。

5.3 展望

(1) 代谢组学仅仅只研究了不同温度相同时间条件下的西兰花茎中硫代葡萄糖苷的分布和含量变化情况,而没有研究相同温度不同时间的,可以从这方面入手更加系统的阐述造成西兰花茎中硫代葡萄糖苷差异性的原因。

(2) 目前只是揭示了西兰花茎中代谢物变化情况和硫代葡萄糖苷的组成及分布情况,对于转录组学、蛋白质组学以及基因组学都没有涉及。比如可以利用多组学手段来探究西兰花茎为什么会和其它十字花科植物的耐热性有所差异。

参考文献

- [1] 杨东文, 陈爽. 西兰花栽培技术研究进展 [J]. 现代农业科学, 2008, 56-58.
- [2] 丁云花, 何洪巨, 宋曙辉, 等. 不同西兰花品种中硫代葡萄糖苷的组分与含量分析 [J]. 长江蔬菜, 2015, 70-74.
- [3] MARTINEZ-ZAMORA L, CASTILLEJO N, ARTES-HERNANDEZ F. Postharvest UV-B and UV-C radiation enhanced the biosynthesis of glucosinolates and isothiocyanates in *Brassicaceae* sprouts [J]. Postharvest Biology and Technology, 2021, 181.
- [4] 杨文婷, 楼晟豪, 李媛媛, 等. 台州市西兰花茎叶废弃物的利用现状及对策分析 [J]. 种子科技, 2023, 41: 136-138.
- [5] 任亚丽. 高原夏菜西兰花丰产栽培技术措施 [J]. 河北农机, 2023, (22): 97-99.
- [6] 龚祎康. 基于西兰花幼苗茎秆生物力学特性的夹持损伤研究 [D]; 浙江科技大学, 2025.
- [7] 魏丽娟, 冯毓琴, 李长亮, 等. 保鲜剂结合不同硅窗面积气调包装对西兰花贮藏品质的影响 [J]. 寒旱农业科学, 2024, 3: 650-654.
- [8] 杨静兰, 蔡燕雪, 王弘, 等. 超声波-微波处理条件对西兰花泥总酚含量及其品质的影响 [J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14: 287-294.
- [9] 张思瑶, 王冰清, 陈妍蕾, 等. 西兰花苏打饼干的制作工艺及品质分析 [J]. 安徽农学通报, 2024, 30: 95-102.
- [10] 梁慧光, 王工程, 王亚兰, 等. 西兰花膳食纤维饼干的研制 [J]. 食品研究与开发, 2023, 44: 98-104.
- [11] 张歆炎. 乳酸菌发酵对西兰花萝卜硫素的影响及其饮料的开发 [D]; 南京农业大学, 2019.
- [12] 李坤林, 魏光强, 董文明, 等. 西兰花乳清发酵饮料工艺优化及其抗氧化活性研究 [J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12: 6146-6152.
- [13] 侯菲翔, 蔡燕雪, 肖珊, 等. 乳酸菌发酵西兰花的代谢组学分析及其对萝卜硫素含量的影响 [J]. 食品与发酵工业, 2024, 50: 88-93.

- [14] 尹立冬, 李桂明, 张亨, 等. 尾菜饲料化开发及其在动物生产中的应用 [J]. 动物营养学报, 2025,37(03):1516-1526.
- [15] 屈为栋, 何道根, 苏英京. 台州市西兰花产业现状、存在问题及发展对策 [J]. 浙江农业科学, 2009, (06): 1062-1065.
- [16] 李晨, 薛峰, 缪文华, 等. 硫甙葡萄糖苷降解研究进展 [J]. 食品科学, 2010, 31: 313-317.
- [17] 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: 292-303.
- [18] 马小丽. 小菜蛾 GSS 和 SUMF 解毒寄主植物硫苷分子研究 [D]; 福建农林大学, 2017.
- [19] CHHAJED S, MOSTAFA I, HE Y, etc. Glucosinolate Biosynthesis and the Glucosinolate–Myrosinase System in Plant Defense [J]. Agronomy, 2020, 10(11): 1786.
- [20] 王萌, 解红娥, 王凌云, 等. 高硫苷油菜对甘薯茎线虫病的防治效果 [J]. 江苏农业科学, 2022, 50: 119-123.
- [21] CALABRESE E J, KOZUMBO W J. The phytoprotective agent sulforaphane prevents inflammatory degenerative diseases and age-related pathologies via Nrf2-mediated hormesis [J]. Pharmacological Research, 2021, 163.
- [22] 张睿, 于建丽, 宋璇, 等. 西兰花萝卜硫苷提取物的抑菌及体外免疫活性探究 [J]. 食品研究与开发, 2021, 42: 1-7.
- [23] WEN Y, LI W, SU R, etc. Multi-Target Antibacterial Mechanism of Moringin From *Moringa oleifera* Seeds Against *Listeria monocytogenes* [J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13.
- [24] KAISER A E, BANIASADI M, GIANIRACUSA D, etc. Sulforaphane: A Broccoli Bioactive Phytochemical with Cancer Preventive Potential [J]. Cancers, 2021, 13(19).
- [25] SUN W, SUN J, HU W, etc. Sulforaphane inhibits multiple myeloma cell-induced osteoclast differentiation and macrophage proliferation by elevating ferroportin1 [J]. Cancer Chemotherapy and Pharmacology, 2025, 95(1).

- [26] 任子怡, 郭丹悦, 冯丹琦, 等. 萝卜硫素通过激活 p53 信号通路抑制胰腺癌 PANC-1 细胞活性 [J/OL]. 食品工业科技, 1-12[2025-3-10].
- [27] 缪蒙爱, 郑楠, 杨敏. 萝卜硫素通过 AMPK/SIRT1/NF- κ B 通路改善糖尿病小鼠肾损伤 [J]. 健康研究, 2024, 44(05): 553-557+601.
- [28] MATUSHESKI N V, JUVIK J A, JEFFERY E H. Heating decreases epithiospecifier protein activity and increases sulforaphane formation in broccoli [J]. *Phytochemistry*, 2004, 65(9): 1273-1281.
- [29] 张瑾. 西兰花芽萝卜硫素的富集调控及芽粉品质的研究 [D]; 江南大学, 2024.
- [30] 郭紫玉, 戴辰, 解静, 等. 异硫氰酸酯的活性功能与生物合成研究进展[J/OL]. 现代食品科技, 1-14[2025-3-10].
- [31] LÜTHY B, MATILE P. The mustard oil bomb: Rectified analysis of the subcellular organisation of the myrosinase system [J]. *Biochemie Und Physiologie Der Pflanzen*, 1984, 179(1-2): 5-12.
- [32] 吴琪, 银慧兰, 赵韬, 等. 十字花科蔬菜中萝卜硫素合成及外源调控研究进展 [J]. 中国蔬菜, 2025, 34-43.
- [33] GROB K, MATILE P. Compartmentation of Ascorbic Acid in Vacuoles of Horseradish Root Cells. Note on Vacuolar Peroxidase [J]. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*, 1980, 98(3): 235–243.
- [34] BONES A, SLUPPHAUG G. Purification, Characterization and Partial Amino Acid Sequencing of β -thioglucosidase from *Brassica napus* L [J]. *Journal of Plant Physiology*, 1989, 134(6): 722-729.
- [35] WANG J, JIANG H, CHEN S, etc. Strategy for preparing of glucosinolate derivatives with outstanding functional activities based on myrosinase [J]. *Food Chemistry*, 2025, 479: 143778-143778.
- [36] GAO R, LIU P, BI J, etc. The Effects of Different Thiol-Containing Compounds on the Degradation of Sulforaphane [J]. *Molecules*, 2024, 29(18).

-
- [37] VOLDEN J, BORGE G I A, BENGTSSON G B, etc. Effect of thermal treatment on glucosinolates and antioxidant-related parameters in red cabbage (*Brassica oleracea* L. ssp. capitata f. rubra) [J]. Food Chemistry, 2008, 109(3): 595-605.
- [38] MACLEOD A J, ROSSITER J T. Non-enzymic degradation of 2-hydroxybut-3-enylglucosinolate (progoitrin) [J]. Phytochemistry, 1986, 25(4): 855-858.
- [39] SADOWSKA-RODZIEK A, DONIEC J, KUSZNIEREWICZ B, etc. The Influence of Different Hydrothermal Processes Used in the Preparation of Brussels Sprouts on the Availability of Glucosinolates to Humans [J]. Foods, 2024, 13(18).
- [40] EUN-SUN H, LEE S. Comparative study on the bioactive compound contents and antioxidant activity of broccoli cooked with different methods [J]. Food Science and Preservation, 2024, 31(4): 579-589.
- [41] MARTINEZ-ZAMORA L, CASTILLEJO N, ARTES-HERNANDEZ F. Ultrasound and microwave treatments preserved quality of a pepper-based hummus enriched in mustard sprouts [J]. Lwt-Food Science and Technology, 2023, 185.
- [42] OERLEMANS K, BARRETT D M, SUADES C B, etc. Thermal degradation of glucosinolates in red cabbage - ScienceDirect [J]. Food Chemistry, 2006, 95(1): 19-29.
- [43] OLSEN O, SØRENSEN H. Recent advances in the analysis of glucosinolates [J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 1981, 58.
- [44] TIAN M, YU P, LI Z, etc. Effects and mechanism of metal ions on the stability of glucosinolates in aqueous solution [J]. Food Chemistry, 2024, 448.
- [45] HANSCHEN F S. Acidification and tissue disruption affect glucosinolate and S-methyl-L-cysteine sulfoxide hydrolysis and formation of amines, isothiocyanates and other organosulfur compounds in red cabbage (*Brassica oleracea* var. capitata f. rubra) [J]. Food Research International, 2024, 178.

-
- [46] DONIEC J, TOPOLSKA K, FLORKIEWICZ A, etc. Is the Sous-vide method more beneficial than other techniques for *Brassica* vegetables thermal processing? - safety and nutritional concern [J]. Food Reviews International, 2024, 40(7): 2055-2078.
- [47] NIU Y, ROGIEWICZ A, WAN C, etc. Effect of Microwave Treatment on the Efficacy of Expeller Pressing of *Brassica napus* Rapeseed and *Brassica juncea* Mustard Seeds [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2015, 63(12): 3078-3084.
- [48] HERR I, BUECHLER M W. Dietary constituents of broccoli and other cruciferous vegetables: Implications for prevention and therapy of cancer [J]. Cancer Treatment Reviews, 2010, 36(5): 377-383.
- [49] RENZ M. Impact of Different Plant Constituents on the Thermal Stability of Glucosinolates [M]. 2024.
- [50] KANG D, ZENG J, LU D, etc. Melatonin maintains postharvest quality by modulating the metabolisms of cell wall and sugar in flowering Chinese cabbage [J]. Scientific Reports, 2025, 15(1).
- [51] HUANG Y-X, ZHANG B-Y, LOU J-S, etc. Exogenous allyl isothiocyanate mitigates the drought stress by regulating the stomatal characteristic, antioxidant capacity, and glucosinolate metabolism in pakchoi [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2024, 217.
- [52] GUO F, ZHOU H, HU H, etc. Green LED irradiation promotes the quality of cabbage through delaying senescence and regulating glucosinolate metabolism [J]. Food Quality and Safety, 2024, 8.
- [53] LIANG X, NIU C, JIANG C, etc. Characterization of Myrosinase-Mediated Glucosinolate Degradation Pathways in *Lactiplantibacillus plantarum* ZUST49 [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2025.
- [54] WU Q, LIU D, ZHANG J, etc. Enhancing the formation of functional glucosinolate degradation products in fermented broccoli stalk by-product with lactic acid bacteria [J]. Food Chemistry, 2025, 464.

- [55] SUMNER L W, MENDES P, DIXON R A. Plant metabolomics: large-scale phytochemistry in the functional genomics era [J]. *Phytochemistry*, 2003, 62(6): 817-836.
- [56] WANG J, YANG E, CHAURAND P, etc. Visualizing the distribution of strawberry plant metabolites at different maturity stages by MALDI-TOF imaging mass spectrometry [J]. *Food Chemistry*, 2021, 345: 128838.
- [57] CHEN W, GAO Y, XIE W, etc. Genome-wide association analyses provide genetic and biochemical insights into natural variation in rice metabolism [J]. *Nature Genetics*, 2014.
- [58] LUO P, YIN P, ZHANG W, etc. Optimization of large-scale pseudotargeted metabolomics method based on liquid chromatography-mass spectrometry [J]. *Journal of Chromatography A*, 2016, 1437: 127-136.
- [59] CHEN W, GONG L, GUO Z, etc. A Novel Integrated Method for Large-Scale Detection, Identification, and Quantification of Widely Targeted Metabolites: Application in the Study of Rice Metabolomics [J]. *Molecular Plant*, 2013, 6(006): 1769-1780.
- [60] 张凡忠, 刘小红, 章初龙, 等. 植物响应病原真菌的代谢组学研究进展 [J]. *中国细胞生物学学报*, 2016, 38: 434-440.
- [61] 庄红梅, 王燕, 陈先知, 等. 新疆芜菁肉质根不同发育期代谢组成分鉴定与差异分析 [J/OL]. *分子植物育种*, 1-26.
- [62] 庄红梅, 赵家芬, 王燕, 等. 环塔里木盆地 2 个芦笋品种的代谢组学分析 [J]. *新疆农业科学*, 2024, 61: 2408-2416.
- [63] 符梅, 李桂花, 罗文龙, 等. 基于广泛靶向代谢组学的芋头代谢物和抗氧化酶活性的差异分析 [J]. *中国农学通报*, 2025, 41: 118-125.
- [64] 田洁, 周倩怡, 铁原毓, 等. 干旱胁迫下大蒜幼苗的代谢组学分析 [J]. *园艺学报*, 2024, 51: 133-144.
- [65] 王颀. 我国果汁和果酒加工业发展现状及发展趋势 [J]. *中国食物与营养*, 2003, (05): 33-35.
- [66] 时伟. 发酵型莲藕酒工艺研究 [D]; 齐鲁工业大学, 2013.

- [67] 刘超琦, 王晓丹, 周润锋, 等. 果酒及果酒酿造工艺的研究进展 [J]. 中国酿造, 2023, 42: 22-27.
- [68] 严鑫, 胡陆军, 邹永芳, 等. 果酒的澄清度与色泽稳定性研究进展 [J/OL]. 酿酒科技, 1-12[2025-3-10].
- [69] 高清山. 果酒的酿造工艺及其生理功能研究进展 [J]. 食品安全导刊, 2023, (08): 154-156+163.
- [70] 黄星源, 黄星才, 谢永巧, 等. 一种发酵型无核黄皮青梅果酒的研制 [J]. 酿酒, 2025, 52: 125-129.
- [71] 赵春杰, 任凤林, 罗晓宇, 等. 模糊数学感官评价结合响应面法优化野生蓝莓—蔓越莓复合果酒发酵工艺 [J/OL]. 内蒙古农业大学学报(自然科学版), 1-11[2025-3-10].
- [72] 周书来, 吴丽, 王琪, 等. 富含番茄红素的复合果蔬酒酿造工艺优化及抗氧化活性分析 [J]. 中国酿造, 2024, 43: 242-248.
- [73] FAHEY J W, ZALCMANN A T, TALALAY P. The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants [J]. *Phytochemistry*, 2001, 56(1): 5-51.
- [74] LIANQING, SHEN, GUANGYAO, etc. Endogenous and exogenous enzymolysis of vegetable-sourced glucosinolates and influencing factors [J]. *Food Chemistry*, 2010, 119(3): 987-994.
- [75] KONG F-H, YANG C-X, FANG C-R, etc. Determination of sulforaphane in cruciferous vegetables by HPLC [J]. *Food and Fermentation Industries*. 2021, 47(8): 218-223.
- [76] 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: 218-223.
- [77] 李峥宏. 外源油菜素内酯调控青稞种子萌发的生理代谢及褪黑素富集机理研究 [D]; 安徽工程大学, 2024.
- [78] 郭玉峰. 外源糖对发芽青稞 β -葡聚糖的影响及其蛋白质组学研究 [D]; 安徽工程大学, 2024.

- [79] KATO M, IMAYOSHI Y, IWABUCHI H, etc. Kinetic Changes in Glucosinolate-Derived Volatiles by Heat-Treatment and Myrosinase Activity in Nakajimana (*Brassica rapa* L. cv. *nakajimana*) [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59(20): 11034-11039.
- [80] JIN Y, WANG M F, ROSEN R T, etc. Thermal degradation of sulforaphane in aqueous solution [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1999, 47(8): 3121-3123.
- [81] 李丽倩. 胁迫处理和乳酸发酵西兰花过程中异硫氰酸盐富集工艺研究 [D]; 南京农业大学, 2015.
- [82] 王忠英 王向阳. 硫代葡萄糖苷及其降解产物异硫代氰酸盐 [J]. 生命的化学, 2005, 342-344.
- [83] 杨嘉琪, 赵玲艳, 邓雪盈, 等. 产黑芥子酶乳酸菌的筛选与鉴定及产酶条件的优化 [J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2024, 50: 43-53.
- [84] MEDINA-MARROQUÍN L A, YUCRA-CONDORI H R, GÁRATE J, etc. Effect of heat processing on bioactive compounds of dehydrated (lyophilized) purple mashua (*Tropaeolum tuberosum*) [J]. Scientia Agropecuaria, 2023, 14(3): 321-333.
- [85] 赵子璇, 刘光敏, 何洪巨, 等. 硫酸锌处理对西兰花芽苗关键活性成分影响及硫苷变化分子机制初步探讨 [J]. 食品工业科技, 2024, 45: 27-36.
- [86] 初婷, 彭畅, 郭丽萍. MgSO₄ 处理对西兰花芽苗菜生理活性物质和抗氧化能力的影响 [J]. 食品科学, 2018, 39(11): 53-59.
- [87] 金伟. 基于射频-热风的苦瓜和苹果联合干燥研究 [D]; 江南大学, 2024.
- [88] BOSETTI C, FILOMENO M, RISO P, etc. Cruciferous vegetables and cancer risk in a network of case-control studies [J]. Annals of Oncology, 2012, 23(8): 2198-2203.
- [89] WITTSTOCK U, HALKIER B A. Glucosinolate research in the Arabidopsis era [J]. Trends in plant science, 2002, 7(6): 263-270.
- [90] AGERBIRK N, OLSEN C E. Glucosinolate structures in evolution (vol 77, pg 16, 2012) [J]. Phytochemistry, 2013, 96: 466-467.

-
- [91] BLAZEVIC I, MONTAUT S, BURCUL F, etc. Glucosinolate structural diversity, identification, chemical synthesis and metabolism in plants [J]. *Phytochemistry*, 2020, 169.
- [92] BYLESJö M, RANTALAINEN M, CLOAREC O, etc. OPLS discriminant analysis: combining the strengths of PLS-DA and SIMCA classification [J]. *Journal of Chemometrics: A Journal of the Chemometrics Society*, 2006, 20(8-10): 341-351.
- [93] THEVENOT E A, ROUX A, XU Y, etc. Analysis of the Human Adult Urinary Metabolome Variations with Age, Body Mass Index, and Gender by Implementing a Comprehensive Workflow for Univariate and OPLS Statistical Analyses [J]. *Journal of Proteome Research*, 2015, 14(8): 3322-3335.
- [94] 郭尊奕, 刘嘉超, 陈长明, 等. 十字花科蔬菜中硫代葡萄糖苷含量、稳定性及提取工艺研究进展 [J]. *中国瓜菜*, 1-16.
- [95] VERKERK R, SCHREINER M, KRUMBEIN A, etc. Glucosinolates in Brassica vegetables: the influence of the food supply chain on intake, bioavailability and human health [J]. *Molecular nutrition & food research*, 2009, 53 Suppl 2: S219-S219.
- [96] OERLEMANS K, BARRETT D M, SUADES C B, etc. Thermal degradation of glucosinolates in red cabbage [J]. *Food Chemistry*, 2006, 95(1): 19-29.
- [97] VERKERK R, DEKKER M. Glucosinolates and myrosinase activity in red cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *Capitata* f. *rubra* DC.) after various microwave treatments [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2004, 52(24): 7318-7323.
- [98] DEKKER M, HENNIG K, VERKERK R. Differences in thermal stability of glucosinolates in five Brassica vegetables [J]. *Czech Journal of Food Science*, 2009, 27(Special Issue): S85-S88.
- [99] CISKA E, DRABINSKA N, HONKE J, etc. Boiled Brussels sprouts: A rich source of glucosinolates and the corresponding nitriles [J]. *Journal of Functional Foods*, 2015, 19: 91-99.

- [100]ROSA E A, HEANEY R K. The effect of cooking and processing on the glucosinolate content: studies on four varieties of Portuguese cabbage and hybrid white cabbage [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1993, 62(3): 259-265.
- [101]HANSCHEN F S, BRUEGGEMANN N, BRODEHL A, etc. Characterization of Products from the Reaction of Glucosinolate-Derived Isothiocyanates with Cysteine and Lysine Derivatives Formed in Either Model Systems or Broccoli Sprouts [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60(31): 7735-7745.
- [102]付贵, 曹杰, 朱峰志, 等. 芽苗菜的营养价值与功能特性以及安全性研究进展 [J/OL]. 食品科学, 1-15[2025-3-10].
- [103]张瑞博, 闫小娟, 张海悦. 基于模糊数学感官评价法优化黄精益智仁固体饮料的配方工艺 [J]. 中国调味品, 2025, 50: 141-146.
- [104] 樊亮, 叶文斌, 胡文斌, 等. 响应面结合模糊数学感官评价法优化油橄榄果渣曲奇饼干的配方及其品质测定 [J]. 甘肃农业大学学报, 2024, 59: 282-295.
- [105]郭芳, 王瑞, 冯彩平, 等. 酸枣果酒发酵的工艺优化 [J]. 农产品加工, 2024, 46-49+53.
- [106]刘安, 王丹阳, 王振, 等. 高耐受性酿酒酵母的适应性驯化选育与发酵 [J]. 微生物学通报, 2024, 51: 1018-1032.

攻读硕士学位期间发表的学术论文

- [1] Zhang Y-H, **Liao X-Y**, Li Z-H, et al. Insight into the Sulforaphane Content and Glucosinolate Profile of Broccoli Stems After Heat Treatment. Horticulturae. 2025,11(4),383. (SCI 二区, IF=3.1)

致谢

时光荏苒，行文至此，我的学生生涯已近尾声。回望这段旅程，感慨万千。求学之路虽充满挑战，但幸得良师益友相伴，方能在学术与人生的双重探索中稳步前行。值此论文完成之际，谨以最诚挚的谢意，向所有给予我支持与帮助的人致以最深切的感激。

首先，衷心感谢我的导师张国强教授。从论文选题、框架设计到逐字修改，您始终以渊博的学识、严谨的治学态度和诲人不倦的精神为我指明方向。每当研究陷入瓶颈，您总能以独到的见解拨云见日；每当文稿疏漏频现，您又以细致的批注助我精益求精。您不仅是学术道路上的引路人，更是为人处世的楷模。师恩如山，铭记于心，唯愿未来以勤勉与成长回报您的期许

树高千尺不忘根深沃土。感谢我的父母，二十余载求学路，你们以无条件的爱与包容为我筑起避风港，让我心无旁骛地追求理想。你们的理解与陪伴是我疲惫时的慰藉，迷茫时的灯塔。愿未来岁月，我能以寸草之心，回报三春之晖

论文虽已付梓，学术之路未止。我将以此刻为起点，秉持“知不足而奋进，望远山而力行”的信念，在专业领域继续深耕。愿所有曾照亮我前行之路的师长、亲友，岁月静好，万事胜意。