

博士（栄養学）学位論文

論文題目

アブラナ科野菜に含まれるグルコシノレートの
調理による消長に関する研究

**Study on Effects of Cooking on Glucosinolate
Content of Brassicaceae Vegetables**

2016 年

指導教員 青 柳 康 夫 教 授

長 田 早 苗

OSADA, Sanae

女 子 栄 養 大 学

目 次

序論	1
第1章 秋から冬に市販される日本産アブラナ科野菜のグルコシノレート組成および含有量	
第1節 緒論	9
第2節 実験方法	10
1. 試料および試料の調製	10
2. グルコシノレートの分析	12
2-1. 試薬	12
2-2. 試料中のグルコシノレートの抽出	12
2-3. グルコシノレート抽出液の精製とデスルホグルコシノレートの調製	13
2-4. LC-MS によるグルコシノレートの同定	13
2-5. デスルホグルコシノレートの HPLC 分析	14
第3節 結果および考察	14
1. アブラナ属に含まれるグルコシノレートおよびその含有量	14
1-1. LC-MS により同定されたアブラナ属のグルコシノレートの種類	14
1-2. アブラナ属のグルコシノレート含有量	15
1-3. ブロッコリーの部位の違いによるグルコシノレート含有量	19
2. ダイコン（ダイコン属）、ロケットサラダ（キバナスズシロ属）、クレソン（オランダカラシ属）に含まれるグルコシノレートおよびその含有量	19

2-1. LC-MS により同定されたダイコン属、キバナスズシロ属 およびオランダカラシ属のグルコシノレートの種類-----	20
2-2. ダイコン属、キバナスズシロ属およびオランダカラシ属の グルコシノレート含有量-----	20
2-3. ダイコンの部位の違い、剥皮の有無によるグルコシノレート 含有量-----	21
3. 解毒酵素誘導および阻害作用物質の前駆体 -----	22
第 4 節 小括 -----	24

第 2 章 大量調理施設衛生管理マニュアルに準拠した温度・湿度管理下 における切裁および保管時のグルコシノレート含有量の経時 変化

第 1 節 切裁した各野菜のグルコシノレート含有量の経時変化-----	26
第 1 項 緒論 -----	26
第 2 項 実験方法-----	27
1. 試料および試料の調製-----	27
2. グルコシノレートの分析 -----	29
3. 統計処理 -----	29
第 3 項 結果および考察 -----	30
1. 切裁によるキャベツのグルコシノレート含有量の変化 -----	30
1-1. 未処理時のグルコシノレート含有量 -----	30
1-2. 経時変化-----	30
2. 切裁によるクレソンのグルコシノレート含有量の変化-----	31
2-1. 未処理時のグルコシノレート含有量 -----	31
2-2. 経時変化-----	32

3. 切裁によるミズナのグルコシノレート含有量の変化-----	33
3-1. 未処理時のグルコシノレート含有量-----	33
3-2. 経時変化-----	33
4. 切裁によるブロッコリーのグルコシノレート含有量の変化	34
4-1. 未処理時のグルコシノレート含有量-----	34
4-2. 経時変化-----	35
5. 切裁によるダイコンのグルコシノレート含有量の変化-----	36
5-1. 未処理時のグルコシノレート含有量-----	36
5-2. 経時変化-----	36
第2節 厚さを変えた切裁によるダイコンのグルコシノレート含有量 の経時変化-----	37
第1項 緒論-----	37
第2項 実験方法-----	37
1. 試料および試料の調製-----	37
2. グルコシノレートの分析-----	38
3. 統計処理-----	38
第3項 結果および考察-----	38
1. 未処理時のグルコシノレート含有量-----	38
2. 経時変化-----	39
第3節 小括-----	41

第3章 アブラナ科野菜の加熱によるグルコシノレート含有量の変化 -----	43
第1節 加熱温度の違いがグルコシノレート含有量へ及ぼす影響--	43
第1項 緒論-----	43

第2項	実験方法	44
1.	試料および試料の調製	44
2.	グルコシノレートの分析	45
第3項	結果および考察	46
第2節	茹で時間の違いがグルコシノレート含有量へ及ぼす影響	49
第1項	緒論	49
第2項	実験方法	50
1.	試料および試料の調製	50
2.	グルコシノレートの分析	51
第3項	結果および考察	52
第3節	茹で水量の違いがグルコシノレート含有量へ及ぼす影響	54
第1項	緒論	54
第2項	実験方法	55
1.	試料および試料の調製	55
2.	グルコシノレートの分析	55
第3項	結果および考察	56
第4節	熱媒体が異なる加熱方法(蒸し加熱、過熱水蒸気による加熱、 真空調理)がグルコシノレート含有量へ及ぼす影響	57
第1項	緒論	58
第2項	実験方法	58
1.	試料および試料の調製	58
2.	グルコシノレートの分析	59
第3項	結果および考察	59
第5節	小括	61

総括	-----	63
----	-------	----

謝辞	-----	69
----	-------	----

参考文献	-----	70
------	-------	----

本文	92 枚（表紙・目次・略記表示一覧を含む）
----	-----------------------

表	32 枚（Table 1－Table 29 ）
---	-------------------------

図	40 枚（Figure 1－Figure 37 ）
---	---------------------------

略記表示一覧

<グルコシノレート>

GSL: Glucosinolate (グルコシノレート)

DS-GSL: Desulfo-glucosinolate (デスルホグルコシノレート)

2H3B-GSL: (2R)-2-Hydroxy-3-butenyl glucosinolate ((2R) - 2 - ヒドロキシ - 3 - ブテニルグルコシノレート)

2P-GSL: 2-Propenyl glucosinolate (2 - プロペニルグルコシノレート)

3MSP-GSL: 3-Methylsulfinylpropyl glucosinolate (3 - メチルスルフィニルプロピルグルコシノレート)

4MSB-GSL: 4-Methylsulfinylbutyl glucosinolate (4 - メチルスルフィニルブチルグルコシノレート)

5MSP-GSL: 5-Methylsulfinylpentyl glucosinolate (5 - メチルスルフィニルペンチルグルコシノレート)

6MSH-GSL: 6-Methylsulfinylhexyl glucosinolate (6 - メチルスルフィニルヘキシルグルコシノレート)

7MSH-GSL: 7-Methylsulfinylheptyl glucosinolate (7 - メチルスルフィニルヘプチルグルコシノレート)

8MSO-GSL: 8-Methylsulfinyloctyl glucosinolate (8 - メチルスルフィニルオクチルグルコシノレート)

4MT3B-GSL: 4-Methylthio-3-butenyl glucosinolate (4 - メチルチオ - 3 - ブテニルグルコシノレート)

6MTH-GSL: 6-Methylthiohexyl glucosinolate (6 - メチルチオヘキシルグルコシノレート)

7MTH-GSL: 7-Methylthioheptyl glucosinolate (7 - メチルチオヘプチルグ

ルコシノレート)

PHE-GSL: Phenethyl glucosinolate (フェネチルグルコシノレート)

2H2P-GSL: (2S)-2-Hydroxy-2-phenethyl glucosinolate ((2S) - 2 - ヒドロキシ - 2 - フェネチルグルコシノレート)

3IM-GSL: 3-Indolylmethyl glucosinolate (3 - インドールメチルグルコシノレート)

1M3IM-GSL: 1-Methoxy-3-indolylmethyl glucosinolate (1 - メトキシ - 3 - インドールメチルグルコシノレート)

4M3IM-GSL: 4-Methoxy-3-indolylmethyl glucosinolate (4 - メトキシ - 3 - インドールメチルグルコシノレート)

<その他>

CV: coefficient of variation (変動係数)

DEAE: diethylaminoethyl (ジエチルアミノエチル)

DW: dry matter (乾燥物)

HPLC: high performance liquid chromatography (高速液体クロマトグラフィー)

HACCP: hazard Analysis Critical Control Point (危害分析重要管理点)

I3C: Indole-3-carbinol (インドール - 3 - カルビノール)

ISO: international organization for standardization (国際標準化機構が出版した国際規格)

ITC: Isothiocyanate (イソチオシアネート)

LC-MS: liquid chromatography mass spectrometry (液体クロマトグラフィー質量分析法)

LC-TOFMS: liquid chromatography time-of-flight mass spectrometry (高速

液体クロマトグラフィー - 飛行時間型質量分析計)

N.D.: not detected (検出限界以下)

PDA: photodiode array (フォトダイオードアレイ検出器)

Rt: retention time (保持時間)

SD: standard deviation (標準偏差)

ST: steam cooking (蒸し加熱)

SS: super-heated steam (過熱水蒸気による加熱)

UV: ultraviolet absorber (紫外線吸収剤)

VC: vacuum cooking (真空パック後に茹で加熱した場合)

特記: 本論文では、国際純正及び応用化学連合 (IUPAC) による表記にすると、日本語名の表現がわかり難い場合があるので、アメリカ化学会系 (CAS) による命名法に準拠し表記した。

序論

平成 27 年 4 月から、食品表示に関する包括的かつ一元的な制度として新しい食品表示法が施行された。食品表示に関する規定は、健康の保持増進に関係した健康増進法、衛生上の危害発生防止に関係した食品衛生法ならびに品質に関する適正な表示に関係した農林物資の規格化及び品質表示の適正化に関する法律（平成 27 年 4 月より農林物資の規格化等に関する法律に改正）において個別に定められていた。新しい食品表示法は、それぞれの法律における食品表示が統合されたもので、消費者が自分の望む食品を適切に選択し易くしたものである。これまでの法律と比較して、食品表示法は栄養成分表示が義務化され、アレルギー表示が改善されるなど、これまで指摘されてきたいくつかの食品表示の問題の解消が図られている¹⁾。

一方、平成 27 年 4 月から新たに機能性表示食品が創設され、保健機能食品へ加えられた。この機能性表示食品の特徴は、企業の責任において機能性表示ができることであり、その表示対象には加工食品のみならず生鮮食品が含まれている。このような法律の改正に伴って、食品の安全性や機能性に対する科学的評価の必要性が高まっている。科学的評価には多くの科学的エビデンスが必要であるが、食品、とくに生鮮食品の機能性成分についてのエビデンスは必ずしも十分に立証されていない。

近年、野菜の機能性成分が注目され、生鮮食品が機能性表示食品として上市されることに注目が置かれている。また、350g の野菜摂取の推奨は、健康日本 21（第二次）の「栄養・食生活に関する生活習慣の改善に関する目標」²⁾ の 1 つにも挙げられている。しかし、日本人 1 人 1 日当たりの野菜摂取量は、その目標値に到達していないのが現状である。

平成 25 年国民健康・栄養調査の結果³⁾では、1 人 1 日当たりの平均野菜摂取量は 271g であり、目標の 350g には及ばない。このような現状において、野菜の機能性成分についてのエビデンスを蓄積し、その成果を公表することは、国民の野菜摂取への意識を高め、その摂取量の目標値達成の一助となり得るものとする。

わが国の野菜栽培に関する規定で奨励している野菜は、以下の通りである。野菜生産出荷安定法（昭和 41 年政令第 224 号）の第 1 条では、「消費量が相対的に多く又は多くなることが見込まれる野菜であって、その種類、通常の出荷時期等により政令で定める種別に属するもの」として 14 種類の野菜を指定野菜と定め、他の野菜と差別化して栽培を奨励している（最終改正：平成 26 年 3 月 31 日農林水産省令第 22 号）⁴⁾。これら指定野菜は、キャベツ、さといも、だいこん、たまねぎ、にんじん、ねぎ、はくさい、ばれいしょ、ほうれんそう、レタス、きゅうり、トマト、なす、ピーマンである。また、野菜生産出荷安定法施行規則（昭和 41 年 7 月 1 日農林省令第 36 号）では、指定野菜に準ずる野菜（特定野菜）として、35 種類の野菜が該当している（最終改正：平成 26 年 3 月 31 日農林水産省令第 22 号）⁴⁾。特定野菜は、アスパラガス、いちご、えだまめ、かぶ、かぼちゃ、カリフラワー、かんしょ、グリーンピース、ごぼう、こまつな、さやいんげん、さやえんどう、しゅんぎく、しょうが、すいか、スイートコーン、セルリー、そらまめ、ちんげんさい、生しいたけ、にら、にんにく、ふき、ブロッコリー、みずな、みつば、メロン、やまのいも、れんこん、ししとうがらし、わけぎ、らっきょう、にがうり、オクラ、みつばである。これらの指定野菜および特定野菜のうち、アブラナ科野菜は、指定野菜には 3 品目、特定野菜には 6 品目も含まれ、他科の野菜と比較して非常に多い。また、平成 22 年度の野菜生産出荷

統計では、代表的なアブラナ科野菜であるキャベツ、ハクサイ、ダイコン、カブ、カリフラワー、ブロッコリーの収穫量は、年間 4,042 千トンであり、日本の野菜収穫量の 31.3%にも達し⁵⁾、アブラナ科野菜は野菜の中で非常に重要な位置を占めている。

アブラナ科 (Brassicaceae) 植物はアブラナ目に属し、375 属 3,200 種類の種類が知られている⁶⁾。これらのアブラナ科植物は、ヒトが野菜として供しているものが多く、Figure 1 にアブラナ科野菜を示した。アブラナ科野菜には、本研究で取り挙げた多種多様な構造のグルコシノレート (glucosinolate、以下 GSL と示す) が含まれており、これまでに 96 種以上の GSL が分離・同定されている⁷⁾。

GSL はイオウを含むグルコース配糖体であり、その構造は β -チオグルコシド - *N*-ヒドロキシスルフェート ((*Z*) - (または *cis*) - *N*-ヒドロキシスルフェートエステル、または *S*-グルコピラノシルチオヒドロキシメイト) であり、置換基やイオウを含む 1-チオ- β -D-グルコピラノースが結合している。置換基には、メチルスルフィニル基 (脂肪族炭化水素)、芳香族炭化水素、インドール環があり、それぞれ脂肪族系、芳香族系、インドール系の 3 つの系の GSL に分類される (Figure 2)。これらの GSL は植物の柔細胞の液胞に存在⁸⁾し、GSL を加水分解するミロシナーゼ (β -チオグルコシダーゼ [EC 3.2.1.147]) は、植物体の篩部にあるミロシン細胞の原形質膜、液胞膜、ミトコンドリア膜、小胞体膜などの膜近傍に存在すると報告⁸⁾されていたが、現在では維管束細胞に隣接して分布するミロシン細胞の液胞に集積することが報告されている⁹⁾。ミロシナーゼは口腔内における咀嚼や調理時の切裁などの組織破壊により、GSL を加水分解する。ミロシナーゼは、GSL のグルコース残基を脱離させ、チオヒドロキサム酸 - *O*-スルホン酸を生成する。こ

れは直ちにロッセン転位を起こし、非酵素的にイソチオシアネート（以下 ITC と示す）と硫酸イオンに開裂する。また、GSL は反応条件あるいは GSL の構造により、ITC 類、ニトリル、チオシアネート、エピチオニトリル、オキサゾリジンなどに変化する¹⁰⁾ (Figure 3)。一方、ある種の腸内細菌にもミロシナーゼ活性が存在し、摂取された GSL は大腸に到達すると腸内細菌による加水分解を受け、ITC、ニトリル、チオシアネートなどを生成する^{11, 12)}。ミロシナーゼによる GSL の加水分解によって生じたこれらの生成物は、様々な生理効果を持つことが知られている。

近年、GSL 分解物は解毒機構の第 1 相および第 2 相解毒酵素に直接的あるいは間接的に関与し、がん抑制作用を発現することが明らかになり、注目されている。薬物や発がん物質などの生体外異物は生体内に取り込まれると、肝臓などの細胞内に存在する第 1 相解毒酵素によって親水性が高められ、第 2 相解毒酵素によって毒性の低い物質に転換され、体外へ排出される¹³⁾。第 1 相解毒酵素は、シトクロム P450 が知られており、生体外異物はこれらの第 1 相解毒酵素群により酸化・還元反応や加水分解により水溶化される。第 2 相解毒酵素は、グルタチオン-S-トランスフェラーゼ、ウリジン二リン酸グルクロノシルトランスフェラーゼ、スルフトランスフェラーゼなどの抱合酵素により、抱合・転移反応や、アルデヒドデヒドロゲナーゼなどによる還元反応によって異物の溶解性が増強され、排泄が促進される。しかし現在では、第 1 相解毒酵素であるシトクロム P450 は、多くの化合物を反応性の高い代謝物に活性化し、毒性や発がん性の発現に関与していることが知られている。従って現在では、生体異物の酸化・水溶化にかかわる第 1 相解毒酵素の活性は誘導せずにむしろ阻害し、生体異物の抱合化に関する第 2 相解毒酵素を誘導することが重要な発がん抑制へのステップであると認識されている。

ると報告されている¹⁴⁾。

GSL の反応生成物である ITC の発がん抑制に関しては、以下の報告が見られる。置換基にメチルスルフィニル基をもつ脂肪族系 GSL の反応生成物である ω - メチルスルフィニル型 ITC は、第 2 相解毒酵素に対して強い誘導能を持つことが明らかになり、発がん抑制効果が期待されている¹⁴⁻¹⁶⁾。例えば、ブロッコリーに含まれる 4 - メチルスルフィニルブチル GSL (慣用名：グルコラファニン、以下 4MSB-GSL と示す) の反応生成物である 4MSB-ITC (慣用名：スルフォラファン) は、第 2 相解毒酵素を誘導し、肺がんを抑制することがマウスの肝がん細胞を用いた *in vitro* 実験により報告されている¹⁷⁾。また、芳香族系 GSL の 1 つであるフェネチル GSL の反応生成物であるフェネチル ITC は、第 1 相解毒酵素を阻害することがマウスの肝がん細胞¹⁸⁾、ラットの大腸がん細胞¹⁹⁾、食道がん細胞^{20,21)}、ラットやマウスの肺がん細胞を用いた *in vitro* 実験²²⁾⁻²⁵⁾ により報告されている。さらに、インドール系 GSL の 3 - インドールメチル GSL (慣用名：グルコブラシシン、以下 3IM-GSL と示す) の反応生成物である、インドール - 3 - カルビノール (以下 I3C と示す) は、前立腺がんの予防効果が認められている^{26, 27)}。また、この I3C は、ヒトの乳房の発がん細胞を用いた実験によって、乳がんの発がん抑制効果が認められ²⁸⁾、がん細胞の増殖抑制や細胞死を誘導するとの報告もある^{29, 30)}。さらに I3C は、子宮頸部表面の異常細胞の増殖を抑制させたとの報告³¹⁾ もある。

しかし一方で、フェネチル ITC や I3C は、動物実験において発がんを促進する可能性も指摘されている^{32, 33)}。さらに、(2R) - 2 - ヒドロキシ - 3 - ブテニル GSL (慣用名：プロゴイトリン、以下 2H3B-GSL と示す) からの反応生成物であるゴイトリンをラットに多量摂取させた場合

は、甲状腺障害を起こす危険が知られている³⁴⁾。

疫学的研究の視点からは、アブラナ科野菜の摂取とがん罹患するリスクとの関連性について、米国人を対象に行った報告がある。アブラナ科野菜であるブロッコリー、芽キャベツ、キャベツを1週間に3サービング（3食分の重量、3カップ程度（1カップ 250mL 容））またはそれ以上摂取した人は、1サービング以下の摂取者と比較して、前立腺がんになる確率が40%減少したことが報告されている³⁵⁾。また、アフリカ系アメリカ人、白人、日本人、中国人を対象とした症例対照試験³⁶⁾やカナダ人における症例対照試験においても、アブラナ科野菜の摂取量が多い対象者（72.9 g/日以上）の摂取）は、前立腺がんのリスクが低いことが報告されている³⁷⁾。大腸がんについては、オランダ人を対象としたコホート調査より、アブラナ科野菜を多く摂取する女性（58 g/日以上）の摂取）に結腸がんになるリスクが軽減されたと報告されている³⁸⁾。肺がんについては、米国人を対象とした試験の解析結果から、1週間にアブラナ科野菜を5サービング以上摂取する女性では、肺がんのリスクが低いことが報告されている³⁹⁾。

このように ITC は、その作用機構が明らかになりつつある成分である。従って、その前駆体である GSL は、今後科学的根拠に立脚した機能性食品因子と期待される。このため、GSL 摂取量を増加させるために、アブラナ科野菜の栽培方法⁴⁰⁻⁴²⁾、収穫時期⁴³⁾、貯蔵方法⁴⁴⁾などが検討されている。最近では、アブラナ科植物のシロイヌナズナから、GSL の生合成を調節する鍵となる新規遺伝子が発見されるまで発展している⁴⁵⁾。

品種改良や遺伝子組み換えなどによる GSL の機能性成分含有量を高める研究は重要であるが、流通、販売、消費に至る過程で GSL 摂取量を強化する最適条件の検討も有意義な研究である。Dekker ら⁴⁶⁾は、アブ

ラナ科野菜が収穫から消費者が摂取するまでの一連のシステムにおいて、「GSL 含有量の変化を推定する予測モデル」(Figure 4)を作成している。その中で彼らは、消費者の調理過程における加熱温度、調理時間、物理的損傷などは、GSL の消長に大きな影響を与えることを示唆しており、GSL 摂取量を推定することは健康の維持・増進に貢献する重要課題であると論じている。従って、調理操作の違いによる GSL 含有量を系統的に検討することは重要な課題であると考ええる。現在、食品の第一次機能である栄養機能の役割を持つ栄養素の含有量は、日本食品成分表 2010 では水さらし、ゆで、油いため、油揚げなどの調理損耗が反映され収載されている。しかし、大量調理による一次機能⁴⁷⁻⁵¹⁾や二次機能である嗜好機能(味、色、香気成分、テクスチャー等)⁴⁹⁻⁵²⁾に関して検討した論文は数少ない。況して、第三次機能である生体調節機能を持つ機能性成分の大量調理における調理損耗について検討した論文は見当たらない。

今日、日本人の食生活を考える上で、飲食店、宿泊施設、社員食堂、病院給食などを含む外食産業の市場規模の増加は著しい。平成 22 年には、営業給食や特定給食の売上総額は前年実績を上回り、全体で 0.5% 増加している⁵³⁾。営業給食のうち飲食店の売上総額は 0.7% 増加、宿泊施設では 0.5% 増加している。特定給食では、学校給食は児童数の減少などから 0.5% 減少したが、事業所給食では社員食堂が 0.7% 増加し、弁当給食は 0.1% 増加、病院給食では 0.2% 増加、保育所給食では園児の増加により 2.2% 増加と、全体的に増加の傾向が続いている。このように、国民が家庭以外で食事をする割合が大きくなる現状で、大量調理された料理に含まれる機能性成分の調理損耗を正確に知ることは、国民の健康の維持・増進にとって重要な意義を持つものと考ええる。

一般に機能性成分の多くは、主にサプリメントなどの健康食品と呼ばれるものからも手軽に摂取することができる。GSL については、マカからの粉碎物または抽出されたエキスから作成されたベンジル GSL や、ブロッコリーの新芽に含まれるスルフォラファン（4MSB-ITC）の前駆体であるグルコラファニン（4MSB-GSL）が存在する。しかし、一般にサプリメントの使用については、副作用やアレルギー、医薬品との相互作用、過剰摂取など、健康被害の発生にもつながる可能性が否定できず、特に病者、小児、妊産婦、高齢者などでは注意が必要である。従って、機能性成分はサプリメントを主として摂取するよりも、野菜などの食品そのものから摂取することが望ましいと考えられている⁵⁴⁾。

以上のことから、本学位論文においては、日本で栽培される野菜の中で多くを占めるアブラナ科野菜に注目し、発がん抑制に効果があると考えられている ITC の前駆体である GSL について、調理科学的な検討を行い、その情報を公表し、国民の健康の保持・増進に寄与することを最終目標とした。そこで、代表的な日本産のアブラナ科野菜を試験物質として、GSL の分布および含有量について調査すると共に、それらの切裁、加熱などによる消長について明らかにすることを試みた。また、本研究では、大量調理における調理作業時間の長さを想定し、GSL の調理による損耗の程度を測定し、アブラナ科野菜から摂取できる GSL 量を推算した。本学位論文は、GSL の損耗が少ない調理方法を提案すると共に、GSL 摂取量を増加させる効果的な食べ方を推奨することを目的とした初めての研究である。

第 1 章

秋から冬に市販される日本産アブラナ科野菜のグルコシノレート組成 および含有量

第1節 緒論

GSL のさまざまな効果が明らかになる中で、各種アブラナ科野菜中に含まれる GSL の構造、組成および含有量について明らかにすることは、アブラナ科野菜の種類、使用量、ひいては調理方法を選択する際に重要であると考えられる。

アブラナ科種子および野菜中の ITC 組成や含有量については、ガスクロマトグラフィーを用いて測定された多くの報告がある。さらに近年では、GSL を直接分析する手法として、スルファターゼによりデスルホ GSL (desulfo-GSL、以下 DS-GSL と示す) に変換後、高速液体クロマトグラフィー (以下 HPLC と示す) で分析する手法が確立され⁵⁵⁾、ISO 取得もされている⁵⁶⁾。GSL の同定は、主に高速液体クロマトグラフ質量分析法 (以下 LC-MS と示す) による解析が行われている。この方法により、キャベツ^{43, 44, 57)}、メキャベツ^{58, 59)}、カリフラワー^{43, 44, 60)}、ブロッコリー^{43, 59-61)} について多くの報告があり、ロケットサラダ^{62, 63)}、ケール⁶⁴⁾、ハクサイ⁶⁵⁻⁶⁷⁾、チンゲンサイ⁶⁵⁾、クレソン^{18, 66)}、ブロッコリースプラウト^{59, 68)} などについても報告がなされている。しかし、これらの論文の多くが主に欧米における研究であり、日本で栽培されているアブラナ科野菜についての分析は、殆んど見当たらない。高畑ら⁶⁹⁾ が日本産アブラナ科野菜について検討を行っているが、GSL の同定までは行われていない。

そこで本章では、我々日本人が日常的に食している日本産アブラナ科

野菜の GSL の組成を LC-MS を用いて明らかにし、さらに、発がん抑制に効果がある第 2 相解毒酵素誘導および第 1 相解毒酵素阻害に寄与する GSL の分布を明らかにすることを目的に行った。

次に、アブラナ科野菜の部位により、GSL の種類や含有量に違いが生じるのかについても検討した。そのために、この実験では上下の形状が不均等な形の野菜を選択した。すなわちアブラナ属からはブロッコリーを、またダイコン属からは、ダイコンを用いて検討した。ブロッコリーは主に、通常食されている花蕾部（分枝を一部含む。以下、花蕾部と示す）、主枝、葉柄、葉身に分けられる。これらを全て分別し、GSL の種類や含有量に差異が認められるか否かを検討した。ダイコンは、葉に近い上部・中部・下部において辛味に違いがある⁷⁰⁾ことが報告されている。従ってダイコンは、上部・中部・下部及び皮を剥く場合・剥かない場合についても、GSL の種類や量に、どの程度の差異が認められるか検討した。

第2節 実験方法

1. 試料および試料の調製

日本において比較的摂取量の多いアブラナ科野菜 4 属 13 種類 15 品目を試料として用いた。これらはすべて日本産のものである。ダイコンやカブ、葉菜類などは地方では在来種が多く存在するが、本研究では都内で日常的に使用される食材をもとに検討した。

アブラナ属 (*Brassica*) からはキャベツ (*B. oleracea* var. *capitata*)、ハクサイ (*B. rapa* var. *pekinensis*)、カブ (*B. rapa* var. *rapa*) 根・葉、コマツナ (*B. rapa* var. *peruviridis*)、チンゲンサイ (*B. rapa* var. *chinensis*)、ミズナ (*B. rapa* var. *lancinifolia*)、ブロッコリー (*B. oleracea* var. *italica*)、

カリフラワー (*B. oleracea* var. *botrytis*)、ナバナ (*B. rapa* var. *nippo-oleifera*)、ターサイ (*B. var. rosularis*)、ブロッコリースプラウトを、ダイコン属 (*Raphanus*) からはダイコン (*R. sativus*) を、キバナスズシロ属 (*Eruca*) からはロケットサラダ (*E. vesicaria*) を、オランダカラシ属 (*Nasturtium*) からはクレソン (*N. officinale*) を試料とした。また指定野菜のうち、キャベツ・ダイコン・ハクサイの収穫量が秋から冬に最も多いこと、他のアブラナ科野菜の旬が秋から冬であることを考慮し、この時期に出回ったものを試料とした。これらの試料は 2008 年 10 月から翌年 2 月、および 2010 年 10 月から翌年 2 月に小売店で購入し、不可食部を除去後、可食部のみを分析に供した (Table 1)。

部位別に調査するための試料は、下記のように調製した。ブロッコリーは、2014 年 8 月に北海道紋別郡上湧別町地区で収穫された、品種ピクセルを用いた。小売店で一度に 29 個購入し、花蕾部、主枝、葉柄、葉身に分別した。分別した各部位から、それぞれ 300g ずつ採取し、GSL の測定に用いた。ダイコンは、2013 年 8 月に北海道 JA「ようてい」で出荷されたダイコン (品種は不明) を小売店で 2 本購入し、各 1 本ずつ皮を剥いたもの、剥かないものとした。皮は、調理用ピーラーを用いて剥皮した。ダイコン 1 本を 3 等分にし、葉に近い 3 分の 1 を上部、最も遠い部位の 3 分の 1 を下部、中間を中部とした。

試料は、不可食部を除去した後、 -45°C 冷凍庫で凍結し、その後凍結乾燥した。得られた乾燥物をフードプロセッサー (スピードカッター MK-K3、松下電工㈱、大阪) を用い、粉末にし、試料缶に入れ、分析に供するまで -30°C で冷凍保存した。この乾燥粉末試料を GSL 測定の試料とした。なお、乾燥粉末試料の水分は、常温加熱乾燥法 (直接法)⁷¹⁾ により測定した。

2. グルコシノレートの分析

2-1. 試薬

実験に使用した試薬や溶媒は、すべて市販の特級品あるいは HPLC グレードのものをを用いた。

スルファターゼ [EC3.1.6.1] は以下のように精製した。70 mg のスルファターゼ (Type H-1、Sigma-Aldorich Japan、東京) を 3 mL のイオン交換水に溶解し、これにエタノール (和光純薬工業㈱、大阪) 3 mL を加え、遠心分離 ($800\times g$ ・10 分間、 -5°C) (冷却小型遠心機 H-60R、㈱コクサン、東京) を行なった。上清を分取し、エタノールを上清の 1.5 倍量 (9 mL) を加え、再度、遠心分離 ($800\times g$ ・10 分間、 -5°C) (同上) を行った。沈殿物を 2 mL のイオン交換水に溶解し、スルファターゼ酵素液とした。これを、実験に使用するまで -30°C で冷凍保存した。

2-2. 試料中のグルコシノレートの抽出

凍結乾燥後の粉末試料の総 GSL 含有量の測定は、GSL の定量・定性分析として一般的に用いられているデスルホ体分析法⁵⁵⁾を用いた。すなわち、乾燥粉末試料 0.1 g を 10 mL 容スピッツ管に精秤し、 75°C の恒温槽に 1 分間静置して酵素を失活させた後、これに 75°C に加温した 80% メタノール 2 mL および内部標準物質として $5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ シニグリン (アシルグルコシノレート一水和物カリウム、東京化成工業㈱、東京) 溶液 0.2 mL を加え攪拌後、加温 (75°C ・10 分間) により GSL を抽出した。抽出液は、遠心分離 (4°C 、 $1,600\times g$ ・5 分間) (冷却小型遠心機 H-60R、㈱コクサン、東京) し、上清を回収した。残った沈殿物に 80% メタノール 1 mL を加え懸濁させ、同様に 2 回抽出を繰り返し、上清液を全て合せて 5 mL に定容し、試料の GSL 抽出液とした。また、内部標準物質を

添加しない試料を作成し、試料中に含有されるシニグリンの有無の確認と定量値の補正を行った。

2-3. グルコシノレート抽出液の精製とデスルホグルコシノレートの調製

0.02 mol・L⁻¹ 酢酸緩衝液 (pH 5.0) で緩衝化した DEAE - セファデックス A-25 (GE ヘルスケア・ジャパン(株)、東京) 約 1.0mL を、先端にガラスウール (東ソー(株)、東京) を詰めた 5 mL のマイクロピペット用チップに入れ、先端に栓をしたミニカラムを作成した。開栓後イオン交換水 1.0 mL を流し洗浄後、GSL 抽出液 1.0 mL を負荷して GSL を吸着させた。イオン交換水 1.0 mL を 2 回、次いで 0.02 mol・L⁻¹ 酢酸緩衝液 (pH5.0) 0.5 mL を 2 回流し、カラムを洗浄した。次に、このカラムにスルファターゼ溶液 75 μ L を負荷し、25°C で 18 時間反応させ脱硫酸処理を行った。その後、カラム下に 2.0 mL チューブを設置し、イオン交換水 0.5 mL を 3 回流して溶出させ、DS-GSL 溶出液とした。これを HPLC および LC-MS 分析に供した。なお、分析に使用するまでは -30°C で冷凍保存した。

2-4. LC-MS によるグルコシノレートの同定

LC-MS は、Allinace 2695 HPLC (日本ウォーターズ(株)、東京)、996 PDA (日本ウォーターズ(株)) を装着した LCT Premier LC-TOFMS (日本ウォーターズ(株)) 装置を使用した。HPLC の測定条件は、カラム: Atlantis[®] dC18 3 μ m (2.1×100 mm) (日本ウォーターズ(株))、カラム温度: 40°C、UV 検出波長: 229 nm、流速: 0.2 mL・min⁻¹、試料注入量: 10 μ L とした。MS 測定条件は、Capillary Voltage: 1,200、Desolvation Temperature: 200°C、Desolvation Gas Flow: 300 L・hr⁻¹ とし、Ion Mode は Positive ion W Optics、

Scanning Mass : 100~1000 m/z、Amu : 3 s · scan⁻¹とした。分析は、A 液 : LC-MS 用蒸留水 (関東化学(株)、東京) と B 液 ; 50% アセトニトリル (関東化学(株)、東京) 水溶液によるグラジエントにより行った。グラジエント条件は、0~5 分まで A 液 100%、5~30 分を直線的グラジエントとし、30 分で B 液 100%とした。その後 10 分間、B 液 100%でさらに溶出した。GSL 含有量は、シニグリンに対するレスポンスファクター (Table 2)⁵⁵⁾ を用いて算出した。GSL の同定は、LC-MS を用いて、マススペクトルの DS-GSL の分子イオン [M+H]⁺ の質量数とそのミリマスによる元素分析の結果および文献の HPLC の保持時間 (以下 Rt と示す) を参照して行った。

2-5. デスルホグルコシノレートの HPLC 分析

LC-MS により GSL 同定後は、GSL 含有量測定の一連の繰り返しを、SHIMADZU Prominence HPLC (株)島津製作所、京都) を用いて行った。HPLC の測定条件は、カラム : Atlantis[®] dC18 5 μm (4.6×150 mm) (日本ウォーターズ(株)、東京)、カラム温度 : 40°C、UV 検出波長 : 229 nm、流速 : 1.0 mL · min⁻¹、試料注入量 : 20 μL とした。GSL の同定は LC-MS の結果を参考にし、それぞれのアブラナ科野菜につき 3 回ずつ行った。

第3節 結果および考察

1. アブラナ属に含まれるグルコシノレートおよびその含有量

1-1. LC-MS により同定されたアブラナ属のグルコシノレートの種類

13 種類 15 品目の日本産アブラナ科野菜に同定された GSL を Table 3 に示した。このうち、12 品目のアブラナ科アブラナ属野菜の中で今回同定された GSL は 16 種類であった。これらを置換基の構造により分類し

たところ、脂肪族系は 11 種類、芳香族系は 1 種類、インドール系は 4 種類であった。

本結果で同定された GSL には、強い第 2 相解毒酵素誘導作用があることが報告されている ω -メチルスルフィニル型 ITC の前駆体である 4MSB-GSL、5 - メチルスルフィニルペンチル GSL (以下 5MSP-GSL と示す) が、また第 1 相解毒酵素阻害および第 2 相解毒酵素誘導作用に寄与するフェネチル ITC の前駆体であるフェネチル GSL (以下 PHE-GSL と示す) が、さらにがん細胞の増殖抑制や細胞死を誘導する I3C の前駆体である 3IM-GSL および 1 - メトキシ - 3 - インドールメチル GSL (以下 1M3IM-GSL と示す) が含まれていた。

1-2. アブラナ属のグルコシノレート含有量

各アブラナ属野菜に含まれる GSL の種類および含有量を Table 4 に示した。また、それらの抽出液の DS-GSL の HPLC クロマトグラムを Figure 5～19 に示した。クロマトグラム中のピーク No.は、Table3 のピーク No.に対応させた。

キャベツの HPLC クロマトグラム (Figure 5) には、含有量の多い順に Rt が 3.98 分、7.28 分、22.72 分、7.09 分に主なピークが認められた。これらは LC-MS の精密質量分析による元素組成ならびに既報^{43, 44, 57)} の HPLC の Rt と照合して、3 - メチルスルフィニルプロピル GSL (1 章では以下 No. 1 と示す)、4MSB-GSL (No. 4)、3IM-GSL (No. 23)、2 - プロペニル GSL (No. 3) であると同定した。Cartea ら⁵⁷⁾ は 26 品種のキャベツを分析し、No. 1、23 が最多または 2 番目に多く、次に No. 3 を含有する品種が多いこと、総 GSL 含有量は $10.9 \sim 26.9 \mu\text{mol} \cdot \text{gDW}^{-1}$ であり、変動幅が大きいことを報告している。本研究においても No. 4 以外はこ

これらの結果に類似しており、総 GSL 含有量も同じ範囲内であった。しかし、No. 4 の含有量はバラツキが大きく、総 GSL 含有量に占める割合が最多のものや、ほとんど含まれないものもあった。No. 4 は第 2 相解毒酵素誘導作用が認められているスルフォラファンの前駆体であり¹⁶⁾、含有の有無は特に注目される場所である。Charron ら⁴³⁾ は、No.3 の割合が多く No. 4 が少ないもの、またその逆であるものなど、品種により違いが見られたことを報告している。廣兼ら⁷²⁾ も春夏キャベツを分析し、No. 4 については品種間で約 40 倍もの違いが見られたことを報告している。本実験では、市販の試料をランダムに選択し実験に供しており、品種が不明である。そのため、No. 4 の含有量の違いについてこれ以上論ずることはできないが、日本で秋から冬に市販されている日本産キャベツは、品種または個体により 4MSB-GSL (No. 4) の含有量には大きな違いが見られることが明らかとなった。

ハクサイ (Figure 6) では、主要な GSL は 4 - ペンテニル GSL (No. 10) 、3 - ブテニル GSL (No. 6)、メトキシインドール - 3 - メチル GSL (No. 24)、2H3B-GSL (No. 2)、No.23、5MSP-GSL (No. 5) であると同定された。韓国産を調査した結果⁶⁷⁾ からは、No.10、6 が多く、本研究と同様の含有量であった。しかし中国産⁶⁵⁾では No.23、シンガポール産⁶⁶⁾では 4 - ヒドロキシインドール - 3 - メチル GSL (No. 22)、1M3IM-GSL (No.25) が多く、生産された国により GSL 組成に違いが見られた。

カブ根 (Figure 7) では、主要な GSL は No. 10、6、PHE-GSL (No. 21)、5 - メチルチオペンチル GSL (No. 16)、No. 22 であり、本実験で測定したアブラナ属野菜の中で最も多種類の GSL が同定された。総 GSL 含有量も比較的多く、 $31.38 \pm 4.62 \mu\text{mol} \cdot \text{gDW}^{-1}$ であり、アブラナ属の中では後

述のブロッコリースプラウト、ナバナの次に多かった。本研究中の No.10、6、21 の含有量は Mattheus ら⁵⁸⁾、Chen ら⁶⁵⁾ の報告と類似した結果であったが、かなり存在すると報告されている No. 2 は 本結果では検出されなかった。

カブ葉 (Figure 8) の主要な GSL は、含有量の多い順に No. 6、10、5、21、16、22 であった。カブ根中に存在した No. 12 は、カブ葉では確認できなかった。しかし、No. 16、21、22 以外の GSL 含有量はカブ葉の方が多く、No. 5 については4倍以上も多い結果となった。総 GSL 含有量は $28.99 \pm 3.34 \mu\text{mol} \cdot \text{gDW}^{-1}$ であり、カブ根の 31.38 ± 4.62 よりも少なかった。

コマツナとミズナの抽出液から検出された DS-GSL の HPLC クロマトグラムを Figure 9 および 10 に示した。コマツナとミズナは、伝統的な日本古来の野菜であり、既報が見当たらない。したがって、LC-MS の精密質量分析による元素組成ならびに他の野菜の HPLC の R_t を参考に GSL の同定を行った。コマツナの主要な GSL は、含有量の多い順に No.10、6、21 であった。 R_t 20.48 分のピーク (No. 9) は、含有量 $0.80 \pm 1.14 \mu\text{mol} \cdot \text{gDW}^{-1}$ とわずかであるが、MS m/z : 296.1168 であることから、ブチル GSL、イソブチル GSL、1-メチルプロピル GSL のいずれかと考えられるが、同定できなかった。一方、ミズナの主要な GSL は、含有量の多い順に、No.6、23 であった。No.6 は 44.1%と最も多くを占めた。しかし、他の野菜で多く見られる No.10 は 5.7%と低かった。

チンゲンサイ (Figure 11) の主要な GSL は、含有量の多い順に、No.6、10 であった。総 GSL 含有量は $6.90 \pm 1.75 \mu\text{mol} \cdot \text{gDW}^{-1}$ であり、本実験で用いた 12 品目の野菜中で最も少ない結果となった。中国産⁶⁵⁾ は本結果と同様に No. 6、10 が多く、シンガポール産⁶⁶⁾ は No. 23、24、25

が多く No. 21 は見られない報告がある。これらの違いは、品種による差異もしくは産地の違いに起因しているものと考えられた。

ブロッコリー (Figure 12) の主要な GSL は、含有量の多い順に、No. 4、23、2、22 であった。これらのピークの中で、がん予防効果が認められているスルフォラファンの前駆体である No. 4¹⁷⁾ は最も多く存在し、総 GSL 含有量の約 56% を占め、この割合は既存^{43,59-61)} の文献と同様であった。その他の GSL の種類および含有量は Charron ら⁴³⁾、および Schonhof ら⁶⁰⁾ の結果とほぼ同値であった。一方、Schonhof らの結果には 3 - メチルスルフィニルプロピル GSL (No.1) が総 GSL 含有量の 1.6 ~ 14.8%、Tian ら⁵⁹⁾ の研究では 6% と報告されているが、本研究では認められなかった。

カリフラワー (Figure 13) の主要な GSL は、含有量の多い順に、No. 1、23、3 と同定され、Schonhof ら⁶⁰⁾ の結果と類似していた。しかし一方では、含有量の多いものは順に No. 23、3、1 との報告^{43,44)} もあり、違いが見られた。

ナバナ (Figure 14) の主要な GSL は、含有量の多い順に、No. 6、10、5、21 であった。No. 6、10 は他のアブラナ科野菜の中で最も多く、総 GSL 含有量もアブラナ属の中ではブロッコリースプラウトの次に多かった。

タアサイ (Figure 15) の主要な GSL は、含有量の多い順に、No. 6、10、21 であった。

ブロッコリースプラウト (Figure 16) の主要な GSL は、含有量の多い順に、No. 4、4 - メチルチオブチル GSL (No. 12)、No. 22、24、23、21 であった。総 GSL 含有量は $185.01 \pm 9.21 \mu\text{mol} \cdot \text{gDW}^{-1}$ と今回測定したアブラナ科野菜の中で最も多い含有量であった。

1-3. ブロッコリーの部位の違いによるグルコシノレート含有量

使用した 29 個のブロッコリーの各部位の内訳は、以下のようであった。全体重量は 12.2 kg、花蕾部 8.2 kg（全体重量の 65.9%）、主枝 1.42 kg（11.4%）、葉柄 2.21 kg（17.8%）、葉身 0.40 kg（3.2%）であった。

花蕾部、主枝、葉柄、葉身に含まれる GSL の種類および含有量を、Table 5 に示した。ブロッコリーの部位の違いによる GSL の種類の違いは認められなかった。いずれの部位も共通して、脂肪族系 GSL は、3-メチルスルフィニルプロピル GSL（慣用名：グルコイベリン、以下 3MSP-GSL と示す）、2H3B-GSL、4MSB-GSL、インドール系 GSL は 3IM-GSL、4-メトキシ-3-インドールメチル GSL（以下 4M3IM-GSL と示す）、1M3IM-GSL が含まれていた。脂肪族系 GSL およびインドール系 GSL 共に最も多く含まれていた部位は花蕾部であり、各々 $9.50 \mu\text{mol/gDW}^{-1}$ 、4.47 であった。次に多い部位は葉身であり、脂肪族系 GSL は 8.75、インドール系 GSL は 4.40 であった。主枝、葉柄の含有量は少なく、主枝の脂肪族系 GSL は 4.83、インドール系 GSL は 1.09、葉柄については各々 4.50、1.31 であった。脂肪族系 GSL は、花蕾部、葉身、主枝および葉柄の順に減少した。特に花蕾部は、主枝の約 2 倍もの含有量であるため、今後、条件を変えて比較実験を行う場合の群分けには、群間に差異が生じないように、花蕾部と主枝を均等に配分することが必要であることが判明した。なお個体中の割合が全体の 3.2% と含有量が少ないが、葉身には花蕾部に匹敵する程の GSL が含まれているため、比較実験に供する場合には、均等に配分もしくは確実に除去する必要性が確認された。

2. ダイコン（ダイコン属）、ロケットサラダ（キバナスズシロ属）、ク

レソン（オランダカラシ属）に含まれるグルコシノレートおよびその含有量

2-1. LC-MS により同定されたダイコン属、キバナスズシロ属およびオランダカラシ属のグルコシノレートの種類

ダイコン（ダイコン属）、ロケットサラダ（キバナスズシロ属）、クレソン（オランダカラシ属）の中で、今回同定された GSL は 16 種類であった（Table 6）。これらを置換基の構造により分類したところ、脂肪族系は 11 種類、芳香族系は 3 種類、インドール系は 2 種類であった。この中には、強い第 2 相解毒酵素誘導作用があることが報告されている ω -メチルスルフィニル型 ITC の前駆体の 4MSB-GSL、5MSP-GSL、6-メチルスルフィニルヘキシル GSL（以下 6MSH-GSL と示す）、7-メチルスルフィニルヘプチル GSL（以下 7MSH-GSL と示す）、8-メチルスルフィニルオクチル GSL（以下 8MSO-GSL と示す）が認められた。また第 1 相解毒酵素阻害および第 2 相解毒酵素誘導作用に寄与するフェネチル ITC の前駆体であるフェネチル GSL および、がん細胞の増殖抑制や細胞死を誘導する I3C の前駆体である 3IM-GSL が含まれていた。

2-2. ダイコン属、キバナスズシロ属およびオランダカラシ属のグルコシノレート含有量

各野菜の GSL の含有量を Table 6 に示した。

指定野菜であるダイコンの抽出液（DS-GSL）の HPLC クロマトグラムには、Rt 22.45 分に主要なピークが認められ（Figure 17）、4MT3B-GSL（No. 13）であると同定された。

キバナスズシロ属のロケットサラダ（Figure 18）の主要な GSL は、含有量の多い順に、No. 12、ジメリック-4-メルカプトブチル GSL

(No. 15)、No. 8、4であった。また少量であるが、4 - (β - D - グルコピラノシルジスルファニル) ブチル GSL (No. 19) も同定され、Kim らの結果⁶³⁾と一致した。

オランダカラシ属であるクレソン (Figure 19) の主要な GSL は、含有量の多い順に No. 21、7MSH-GSL (No. 11)、8MSO-GSL (No. 14)、(2S) - ヒドロキシ - 2 - フェニルエチル GSL (No. 20)、6MSH-GSL (No. 7)、6 - メチルチオヘキシル GSL (No. 17) であった。

2-3. ダイコンの部位の違い、剥皮の有無によるグルコシノレート含有量

部位の違い、剥皮の有無による GSL の種類および含有量を Table 7 に示した。ダイコンは剥皮の有無、部位の違いにより、GSL の含有量に差が認められたが、種類に差は認められなかった。いずれの部位も 4 - メチルチオ - 3 - ブテニル GSL (慣用名：グルコラファサティン、以下 4MT3B-GSL と示す) と 4M3IM-GSL が含まれていた。

辛味成分といわれる 4MT3B-GSL は、剥皮しない場合は下部に最も多く、119.93 $\mu\text{mol/gDW}^{-1}$ であった。次に中部は 34.96、最も少なかったのは上部 23.87 であった。上部は下部の 1/5 の含有量であった。4M3IM-GST は、4MT3B-GSL と比較すると含有量がかなり少ないが、中部・下部に多く含まれ上部の 1.7~1.8 倍の含有量であった。

剥皮したダイコンの 4MT3B-GSL は、皮つきダイコンと同様に下部に最も多く、67.63 $\mu\text{mol} \cdot \text{g DW}^{-1}$ であった。次に中部は 11.80、最少含有量は上部 8.92 であった。皮つきダイコンの含有量に対して剥皮したダイコンは、下部は 56%、中部は 34%、上部は 37%であり、剥皮によってかなり減少した。4-M3IM-GSL についても、剥皮した場合よりも剥皮しな

い場合の方が多かった。

上・中・下部および皮の有無による GSL の種類に違いは見られなかったが、含有量の差は著しく異なることが確認された。今後、条件を変えて比較実験を行う場合の群分けには、群間に差異が生じないように、剥皮の有無を統一し、上・中・下部を均等に配分することが必要であることが判明した。

3. 解毒酵素誘導および阻害作用物質の前駆体

第 2 相解毒酵素誘導作用を持つとされる、4MSB-ITC の前駆体である 4MSB-GSL は、ブロッコリースプラウト、ブロッコリー、キャベツ、ロケットサラダに確認され、それぞれ $111.15 \mu\text{mol} \cdot \text{gDW}^{-1}$ (60.1%：総 GSL に対する存在割合)、10.45 (55.9%)、5.05 (22.7%)、4.15 (17.0%) であった。5MSP-GSL は、12 品目のアブラナ属のうち 8 品目およびオランダカラシ属のクレソンに含まれ、含有量はカブ葉に $2.96 \mu\text{mol} \cdot \text{gDW}^{-1}$ (10.2%)、ナバナ 2.1 (4.5%)、ハクサイ 1.16 (5.5%)、コマツナ 0.89 (4.7%)、チンゲンサイ 0.85 (12.3%)、クレソン 0.77 (0.9%)、カブ根 0.6 (1.9%)、タアサイ 0.52 (5.6%)、ミズナ 0.11 (1.1%) であった。また、6MSH-GSL、7MSH-GSL および 8MSO-GSL は、オランダカラシ属のクレソンにそれぞれ $2.96 \mu\text{mol} \cdot \text{gDW}^{-1}$ (3.4%)、25.08 (29.2%)、4.24 (4.9%) と多く含まれていた。しかし、アブラナ属には確認できなかった。

第 1 相解毒酵素を阻害し、かつ第 2 相解毒酵素であるキノンレダクターゼを誘導することが報告されているフェネチル ITC の前駆体であるフェネチル GSL の含有量は、クレソン $30.03 \mu\text{mol} \cdot \text{gDW}^{-1}$ (35.0%)、カブ根 5.64 (18.0%)、カブ葉 2.42 (8.3%)、ナバナ 1.73 (3.7%)、ブロッ

コリースプラウト 1.47 (0.8%)、コマツナ 1.30 (6.9%)、タアサイ 1.29 (13.8%)、ミズナ 0.75 (7.4%)、ハクサイ 0.73 (3.5%)、チンゲンサイ 0.73 (10.6%) の順であった。

また、がん細胞の増殖抑制や細胞死を誘導すると報告されている I3C の前駆体である 3IM-GSL、1M3IM-GSL の含有量は、ブロッコリースプラウト $6.44 \mu\text{mol} \cdot \text{gDW}^{-1}$ (3.5%)、キャベツ 4.47 (20.1%)、ミズナ 4.07 (40.0%)、ブロッコリー 3.87 (20.7%)、カリフラワー 2.18 (27.4%)、ハクサイ 1.42 (6.8%)、カブ葉 0.95 (3.3%)、クレソン 0.89 (1.0%)、カブ根 0.64 (2.0%)、ナバナ 0.55 (1.1%)、チンゲンサイ 0.54 (7.8%)、コマツナ 0.26 (1.4%)、タアサイ 0.20 (2.2%) の順であった。

ω -メチルスルフィニル基をもつ脂肪族系 GSL は、その存在の多くはオランダカラシ属のクレソンおよびアブラナ属の野菜に見られた。本研究で試料としたアブラナ属の野菜 12 品目のうち 2 品目が指定野菜、また 7 品目が特定野菜とされており、比較的多く栽培され、手に入り易い野菜である。一方、クレソンは、消費量の少ない野菜であるが、GSL の含有量が多いため、良好な GSL の供給源になると考えられる。また、 ω -メチルスルフィニル型 ITC は、炭素数の多い方が第 2 相解毒酵素の誘導効果は高い⁷³⁾と報告されていることより、クレソンは、第 2 相解毒酵素の誘導にも大きく寄与することが期待される。

第 1 相解毒酵素を阻害するとともに、第 2 相解毒酵素であるキノンレダクターゼを誘導する PHE-ITC の前駆体である PHE-GSL は、含有量に違いはあるが、オランダカラシ属のクレソンとカブ根およびカブ葉を含めたアブラナ属の葉物野菜に含有されている。また、がん細胞の増殖抑制や細胞死を誘導する作用を持つとされる I3C の前駆体である 3IM-GSL および 1M3IM-GSL は、ダイコンおよびロケットサラダを除く今回検討

した全てのアブラナ科野菜に含まれることから、これらのアブラナ科野菜を多種類食べることにより、GSL の摂取量の増加を見込むことができると考えられる。

しかし、アブラナ科野菜を摂取する際には、切裁や加熱などの調理工程により GSL の損耗が起こる。切裁ではミロシナーゼの活性化による損耗が起こり^{74, 75)}、調理水などの加熱用熱媒体を用いる場合は、水への溶出などにより減少する⁷⁶⁾。しかし、調理水への溶出量と本体の残存量を合計すると 92% 以上にもなるという報告⁷⁷⁾もあることから、調理水ごとスープとして摂取するなどの工夫により、損耗を最小限に抑えることが可能であると考ええる。

本研究で調査したアブラナ科野菜は、日本で栽培されている全ての品種を網羅するものではなく、また GSL 含有量は、遺伝子（品種）・収穫時期⁴³⁾、土壌成分^{40, 41)}、注水を行う時期⁴²⁾、栽培年・部位・貯蔵の有無⁴⁴⁾の違いなど、様々な要因に影響される。本研究の結果は、事例分析に近いものであるが、日本の秋から冬にかけて市場に出回る標準的な日本産アブラナ科野菜中の GSL の種類および含有量の概要を示すものと考えている。

第4節 小括

本章の目的は、日本の秋から冬に市販されるアブラナ科野菜（4 属 13 種類 15 品目）について、GSL の組成と含有量を明らかにし、さらに第 2 相解毒酵素誘導または第 1 相解毒酵素抑制成分の前駆体である GSL 類（ ω -メチルスルフィニル GSL、PHE-GSL、3IM-GSL、1M3IM-GSL）の分布を調べることである。

検出・同定された DS-GSL は、脂肪族系 18 種類、芳香族系 3 種類、

インドール系 4 種類の合計 25 種類であった。4MSB-GSL はブロッコリースプラウト、ブロッコリー、キャベツ、ロケットサラダに多く見られ、その含有量は各々 $111.15 \pm 15.46 \mu\text{mol} \cdot \text{gDW}^{-1}$ 、 10.45 ± 5.05 、 5.05 ± 5.82 、 4.15 ± 1.83 であった。5MSP-GSL はカブ葉、ナバナに多く見られ、その含有量は各々 2.96 ± 1.39 、 2.10 ± 1.73 であった。6MSH-GSL (2.96 ± 0.98)、7MSH-GSL (25.08 ± 5.20) および 8MSO-GSL (4.24 ± 0.37) はクレソン中に含まれ、他の野菜と比較して含有量は最も多かった。PHE-GSL は、クレソン、カブ根、カブ葉、ナバナ、ブロッコリースプラウト、コマツナに多く含まれており、その含有量は各々 30.03 ± 8.88 、 5.64 ± 1.86 、 2.42 ± 0.17 、 1.73 ± 0.51 、 1.47 ± 0.05 、 1.30 ± 1.12 であった。3IM-GSL および 1M3IM-GSL はダイコン、ロケットサラダを除く全てのアブラナ科野菜に含まれた。

ダイコンおよびブロッコリーの部位の違いによる GSL の種類に違いはなかったが、含有量には差異が認められた。従って、今後、条件を変えて比較実験を行う場合の群分けには、群間に差異が生じないように、ブロッコリーでは花蕾部や葉と主枝や葉柄を、ダイコンでは上・中・下部を均等配分することが必要であることが判明した。

第 2 章

大量調理施設衛生管理マニュアルに準拠した温度・湿度管理下における 切裁および保管時のグルコシノレート含有量の経時変化

第1節 切裁した各野菜のグルコシノレート含有量の経時変化

第1項 緒論

アブラナ科野菜を食べる際は、調理工程として「切る」操作が行われる。切裁により組織の損傷がおこると、加水分解酵素であるミロシナーゼにより GSL の損耗が生じ^{78, 79)}、含有される GSL を全量摂取することができなくなる。特に、外食産業や特定給食施設などでは、供食数が多いために扱う食材料の量が多く、切裁など、いわゆる下処理に要する時間や本調理を行うまでに多くの時間を必要とする⁸⁰⁾。従って、アブラナ科野菜を扱う場合は、切裁以降の調理時間が長くなるほど GSL の損耗量は増大するものと予測される。一方で、下処理後は本調理までに切裁した食材料を冷蔵保管することが多い。大量調理施設、中小規模調理施設等においては、食中毒を予防するために、大量調理施設衛生管理マニュアル（平成 9 年 3 月 24 日付け衛食第 85 号別添、最終改正：平成 25 年 10 月 22 日付け食安発 1022 第 10 号）⁸¹⁾に従って調理作業が行われている。大量調理施設衛生管理マニュアルは、特定給食施設などにおける食中毒を予防するために、HACCP の概念に基づき、調理過程における重要管理事項を設けている。その重要管理事項の中には、①原材料受入れ及び下処理段階における温度管理、②調理室の環境（湿度および温度管理）、③中心温度測定による加熱調理品の十分な加熱、④加熱調理後の食品の温度管理、⑤調理終了後から喫食までの時間などの条件が細かく記載されている。大量調理施設衛生管理マニュアルでは、調理現場は、室温 25℃

以下、湿度 80%以下で作業を行う必要があると定めている。また、調理までに 30 分以上を要する場合は、10℃以下で冷蔵保存をすることが義務付けられている⁸¹⁾。しかし、これらの条件で GSL の消長を検討した報告は未だ見られない。そこで第 2 章では、調理工程における GSL の消長を明らかにするために、5 種類のアブラナ科野菜を実験試料として用い、切裁処理の程度による GSL 含有量への影響ならびに切裁処理後の冷蔵保存中の GSL 含有量の経時変化について検討した。

第2項 実験方法

1. 試料および試料の調製

使用したアブラナ科野菜は、キャベツ、クレソン、ミズナ、ブロッコリー、ダイコンである。これらは年間消費量が比較的多く、ミズナを除いて、特に第 2 相解毒酵素誘導能が強いことが報告されている¹⁴⁾。

試料は、2011 および 2012 年 9 ～11 月に小売店で同一生産地のものを購入し、購入当日に処理を行った。作業は大量調理施設衛生管理マニュアル⁸¹⁾に従い、厨房内の室温は 25℃以下、湿度は 80%以下で行なった。いずれの野菜も、1 個体の使用では、切裁処理の程度による影響ならびに切裁処理後の冷蔵保存中の経時変化を検討するには量が少ないため、複数の個体を用いた。また、個体差や部位による違いを除するため、キャベツとブロッコリーについては、複数の個体から同一部位を切裁し、これらを合わせて、1 回分の実験試料とした。ダイコンについても、複数の個体から部位別に集めた試料を均質化して実験に供した。各試料の大きさおよび保冷時間などは、Table 8 に示した。

なお、本論文で使用する未処理の試料とは、不可食部を除去し、試料調製時に切り分ける以外は切裁しない状態のものを指す。また、切裁時

間はいずれの試料も開始から 10 分以内とし、切り終わった時点の試料を切裁直後（保冷 0 分）の試料とした。

キャベツの切裁方法を Figure 20 に示した。キャベツは 5×5 cm、1×4 cm の短冊切り、4cm×1mm のせん切りとし、それぞれ 2 個ずつ計 6 個のキャベツを使用した。各キャベツは放射状に 6 等分し、2 個のキャベツから 6 分の 1 ずつ均等に採取して 1 つの試料とした。これらの 6 等分の試料を、未処理、切裁直後（保冷 0 分）、切裁後 30 分、60 分、120 分、180 分間保冷した。

クレソンおよびミズナの切裁方法を Figure 21 に示した。クレソンは 1 kg、ミズナは 15 株を用いた。これらを 3 等分し、未処理、1 cm 長さの切裁、4 cm 長さの切裁用にした。次に、切裁試料を、各々 5 等分にし、切裁直後（保冷 0 分）、切裁後 30 分、60 分、120 分、180 分間保冷した。

ブロッコリーの切裁方法を Figure 22 に示した。ブロッコリーは 10 個用い、このうち 5 個については、各ブロッコリーを放射線状に 4 等分し、各個の 4 分の 1 を未処理用として取り分け、残り 4 分の 3 を小房に分け、それを 5 等分にして、切裁直後（保冷 0 分）、切裁後 30 分、60 分、120 分、180 分間保冷した。残りの 5 個についても前述と同一の方法で未処理用を取り分けた後、残り 4 分の 3 をフードプロセッサーにかけ、同様に 5 等分にして、切裁直後（保冷 0 分）、切裁後 30 分、60 分、120 分、180 分間保冷した。

ダイコンの切裁の切裁方法を Figure 23 に示した。ダイコンは、2 cm 幅の銀杏切り、せん切り、すりおろし用切裁試料を調製するために全部で 8 本用いた。ダイコンは葉に近い上部・中部・下部において 4MT3B-GSL 含有量に大きな差があることが報告されている⁷⁰⁾。従って、各試料に上部・中部・下部が均等に含まれるように次のように切裁・分割した。

ダイコン 8 本の皮を剥き、縦に 4 等分に切り、各ダイコンの 4 分の 1 ずつを合わせて、未処理、2 cm 幅銀杏切り、5cm×1mm のせん切り、すりおろしの試料とした。すりおろしは、フードプロセッサーを用いて切裁した。切裁したダイコンは上部・中部・下部が均等配分されるように 5 等分にし、それらを切裁直後（保冷 0 分）、切裁後の 30 分、60 分、120 分、180 分間保冷した。

切裁後のそれぞれの野菜試料は、ポリエチレン製袋に入れ 5℃の冷蔵庫内で所定時間保存後、-30℃の冷凍庫に入れ凍結させ、凍結乾燥機にて乾燥した。これらの実験では、試料をさらに 2 回購入し、合計 3 回の繰り返し実験に供した。凍結乾燥後の試料は、粉砕機（レッチェ[®] グラインドミックス 200、ヴァーダー・サイエンティフィック株、東京）を用い、粉末にし、試料缶に入れ、分析に供するまで-30℃で保存した。なお、乾燥粉末試料の水分は、常温加熱乾燥法（直接法）⁷¹⁾ により測定した。

2. グルコシノレートの分析

試薬、試料中のグルコシノレートの抽出、グルコシノレート抽出液の精製とデスルホグルコシノレートの調製、LC-MS によるグルコシノレートの同定、デスルホグルコシノレートの HPLC 分析は、第 1 章第 2 節の 2 と同じである。

3. 統計処理

GSL 含有量および未処理時の含有量に対する割合（％）を、平均値±標準偏差として表示した。

GSL 含有量に、それぞれ正規性と等分散性が確認できた場合は、未処

理時の含有量を対照としてダネットの検定を行なった。一方、正規性や等分散性が確認できない場合は、フリードマンの検定と多重比較を行った。統計ソフトは SPSS ver.19 を使用し、有意確率 5 %未満を統計的有意とした。

第3項 結果および考察

1. 切裁によるキャベツのグルコシノレート含有量の変化

1-1. 未処理時のグルコシノレート含有量

キャベツを含めた 5 種類のアブラナ科野菜に含まれる未処理時の GSL の種類および含有量を Table 9 に示した。キャベツには脂肪族系 GSL が含有量の多い順に 3MSP-GSL、2 - プロペニル GSL (慣用名：シニグリン、以下 2P-GSL と示す)、4MSB-GSL が含まれており、インドール系 GSL は 3IM-GSL、4M3IM-GSL、1M3IM-GSL が含まれていた。脂肪族系 GSL は総 GSL 含有量の 64.4%、インドール系 GSL は 35.6%であった。今回使用した未処理のキャベツの GSL の種類と含有量は、第 1 章の実験で検出された GSL の種類と比較して、2H3B-GSL が存在せず、4MSB-GSL の含有量が少ないため、総 GSL 含有量が少ない結果であった。

1-2. 経時変化

キャベツを 5×5 cm、4×1 cm、4cm×1mm に切裁後、180 分まで保冷した際の、GSL 含有量の経時変化を Table 10-12 に、またこれらを脂肪族系 GSL とインドール系 GSL に分類し、未処理時に対する含有割合の変化を Figure 24 に示した。

5×5 cm に切裁した試料の脂肪族系 GSL は、未処理との間に有意差は認められなかった。一方、インドール系 GSL では保冷 30 分においての

み有意な増加が認められたが ($p<0.05$)、他の時間では有意差は認められなかった。さらに、インドール系 GSL については増加傾向であった。切裁処理後の保存について、Song らは、4×4 cm 角に切裁したキャベツについて、室温 (12~22℃) で 6 時間放置した時の脂肪族系および芳香族系 GSL 総含有量の損失率が 10%程度に抑えられたと報告している⁷⁴⁾。従って、ある程度の大きさに切裁し、冷蔵保存した場合は、脂肪族系 GSL に変化は見られないことが本実験の結果からも確認された。

4×1 cm に切裁した試料は、脂肪族系 GSL は切裁直後(保冷 0 分)に 90% まで有意に減少したが ($p<0.05$)、その後緩やかに増加し、保冷 180 分では含有率 111% となり、未処理と比較して有意差が認められた ($p<0.05$)。一方、インドール系 GSL は、未処理との間に有意差は認められなかった。

せん切りした脂肪族系 GSL では、保冷 120 分には残存率 69% まで減少し、有意差が認められた ($p<0.01$)。インドール系 GSL は、保冷 30 分で残存率は 77% となり、保冷 180 分では 65% となり、両者に有意差が認められた ($p<0.05$ 、 $p<0.01$)。脂肪族系 GSL、インドール系 GSL とも時間と共に減少する傾向が確認された。

上記結果により、キャベツの切裁調理では、せん切りのように試料が細かく切断されると、時間の経過と共に GSL の減少率は大きくなることが確認された。

2. 切裁によるクレソンのグルコシノレート含有量の変化

2-1. 未処理時のグルコシノレート含有量

クレソンに含まれる未処理時の GSL の種類および含有量を、Table 9 に示した。クレソンには脂肪族系 GSL が含有量の多い順

に 7MSH-GSL、6MSH-GSL、7 - メチルチオヘプチル GSL(以下 7MTH-GSL と示す)、8MSO-GSL、5MSP-GSL、6 - メチルチオヘキシル GSL (以下 6MTH-GSL と示す) であり、芳香族系 GSL は PHE-GSL、(2S) - 2 - ヒドロキシ - 2 - フェネチル GSL (以下 2H2P-GSL と示す) であり、インドール系 GSL は 3IM-GSL、4M3IM-GSL が含まれていた。脂肪族系 GSL は総 GSL 含有量の 60.6%、芳香族系 GSL は 34.2%、インドール系 GSL は 5.1%であった。今回使用した未処理のクレソンの GSL の種類と含有量は、第 1 章の実験で検出された GSL と比較して、種類は同一であったが、5MSP-GSL および 6MSH-GSL を除く GSL の含有量が少なく、総含有量は約 3 割少ない結果であった。

2-2. 経時変化

クレソンを 4 cm および 1 cm に切裁後、180 分まで保冷した際の、GSL 含有量の経時変化を Table 13-14 に、またこれらを脂肪族系、芳香族系、インドール系と GSL の系ごとにまとめ、未処理時に対する含有割合の変化を Figure 25 に示した。

4 cm 長さに切裁した試料は、脂肪族系、芳香族系およびインドール系 GSL のいずれにも、保冷 180 分経過時まで未処理との間に有意差は認められなかった。

1 cm 長さに切裁した試料では、脂肪族系 GSL は切裁直後(保冷 0 分)、保冷 30 分、120 分に有意な減少が認められた ($p<0.05$)。芳香族系 GSL は、切裁直後(保冷 0 分) ($p<0.01$)、保冷 30 分・60 分 ($p<0.001$)、保冷 120 分・180 分 ($p<0.01$) に有意な減少が認められた。脂肪族系、芳香族系 GSL は切裁直後に減少し、その後は残存率が 80~90%で一定の傾向であった。インドール系 GSL は保冷 120 分に一時増加傾向を示したが、い

ずれの保冷時間にも有意差は認められなかった。上記結果よりクレソンは、1 cm と試料が細かく切断されると、切裁直後に減少したが、時間が経過してもその後は変わらなかった。

3. 切裁によるミズナのグルコシノレート含有量の変化

3-1. 未処理時のグルコシノレート含有量

ミズナに含まれる未処理時の GSL の種類および含有量を、Table 9 に示した。ミズナには、脂肪族系 GSL が、含有量が多い順に 3 - ブテニル GSL、5MSP-GSL、4 - ペンテニル GSL であり、芳香族系 GSL は PHE-GSL、インドール系 GSL は 3IM-GSL、4M3IM-GSL、1M3IM-GSL が含まれていた。脂肪族系 GSL は総 GSL 含有量の 72.3%、芳香族系 GSL は 11.5%、インドール系 GSL は 16.2%であった。今回使用した未処理のミズナの GSL の種類と含有量は、第 1 章の実験で検出された GSL と比較して、4H3M-GSL は見られなかった。その他の GSL の種類は同一であったが、3IM-GSL を除く他の GSL の含有量が多く、第 1 章の結果と比較して総 GSL が約 4 割多かった。

3-2. 経時変化

ミズナを 4 cm および 1 cm に切裁後、180 分まで保冷した際の、GSL 含有量の経時変化を Table 15-16 に、またこれらを脂肪族系、芳香族系、インドール系にまとめ、未処理時に対する含有割合の変化を Figure 26 に示した。

4 cm 長さに切裁した試料では、脂肪族系 GSL は保冷 30 分から減少傾向を示し、更に保冷 180 分には残存率 47% まで減少したが、いずれも有意差は認められなかった。芳香族系 GSL は切裁直後（保冷 0 分）から減

少傾向を示し、保冷 180 分には残存率 44%まで減少し、保冷 180 分に有意差が認められた ($p<0.05$)。インドール系 GSL は、保冷 30 分までは未処理時の含有量を維持し、その後減少傾向を示し、保冷 120 分および 180 分には残存率 53~56%となり、保冷 120 分、180 分に有意差が認められた (いずれも $p<0.05$)。

1 cm 長さに切裁した試料の脂肪族系 GSL は、切裁直後 (保冷 0 分) から減少傾向を示し、保冷 30 分には残存率が 39%となり、有意な減少が認められ ($p<0.05$)、その後は一定の傾向が認められた。芳香族系 GSL も切裁直後 (保冷 0 分) から減少傾向を示し、保冷 180 分では残存率 50%となり、有意差が認められた ($p<0.05$)。インドール系 GSL は保冷 30 分後から減少傾向を示し、クレソンと同様に保冷 120 分に一時増加傾向を示したが、保冷 180 分には残存率 53%となり、有意差が認められた ($p<0.05$)。

上記結果より、ミズナはクレソンと異なり、4 cm または 1 cm のどちらの長さの切裁であっても、いずれの系の GSL にも減少傾向または有意な減少が認められた。これはミズナがキャベツやクレソンなどと比較して葉が薄く、茎は細く、調理過程で折れやすかったことから、細胞の損壊の程度が大きいためと考えられた。今回の結果から、ミズナを 4cm の長さの切裁でサラダに用いる場合は、いずれの系の GSL 残存率も 50%程度になることが推察され、GSL の減少しやすい野菜であることが判明した。

4. 切裁によるブロッコリーのグルコシノレート含有量の変化

4-1. 未処理時のグルコシノレート含有量

ブロッコリーに含まれる未処理時の GSL の種類および含有量を、

Table 9 に示した。ブロッコリーには脂肪族系 GSL が含有量の多い順に 4MSB-GSL、2H3B-GSL、インドール系は 1M3IM-GSL、3IM-GSL、4M3IM-GSL、4H3IM-GSL が含まれていた。脂肪族系 GSL は総 GSL 含有量の 33.4%、インドール系 GSL は 66.5% であった。今回使用した未処理のブロッコリーの GSL の種類と含有量は、第 1 章の実験で検出された GSL の種類は同一であったが、含有量は第 1 章よりも約 4 割少ない結果であった。

4-2. 経時変化

ブロッコリーを小房およびフードプロセッサーによりみじんに切裁後、180 分まで冷蔵庫で保冷した際の、GSL 含有量の経時変化を Table 17-18 に、またこれらを脂肪族系 GSL、インドール系 GSL にまとめ、未処理時に対する含有割合の変化を Figure 27 に示した。

小房に切裁した状態では、脂肪族系 GSL は、未処理時の含有量が保持される傾向であり、切裁直後（保冷 0 分）から保冷 180 分まで有意差は認められなかった。一方、インドール系 GSL は、保冷 60 分に一時増加傾向を示し、時間の経過とともに増加する傾向であったが、有意差は認められなかった。

フードプロセッサーを用いて切裁した場合は、切裁直後（保冷 0 分）から脂肪族系およびインドール系 GSL はいずれも残存率 52~53% まで有意に減少し（ $p<0.05$ 、 $p<0.001$ ）、保冷 180 分には更に残存率 35~38% にまで減少した（ $p<0.05$ 、 $p<0.001$ ）。

切裁処理後の保存について、Song らは、小房 10~20 g/個に切裁したブロッコリーやカリフラワーについて、室温（12~22℃）で 6 時間放置した時の脂肪族系および芳香族系 GSL の合計量は 10% の減少であった

と報告している⁷⁴⁾。しかし、本論文のブロッコリーの結果では、ある程度の大きさに切裁する場合は、GSLの減少は抑制された。

上記の結果より、ブロッコリーの切裁では試料が大きいと変化は見られないが、細切によりGSLは減少した。

5. 切裁によるダイコンのグルコシノレート含有量の変化

5-1. 未処理時のグルコシノレート含有量

ダイコンに含まれる未処理時のGSLの種類および含有量を、Table 9に示した。ダイコンには脂肪族系の4MT3B-GSLとインドール系の4M3IM-GSLがそれぞれ95.7%、4.3%含まれていた。今回使用した未処理のダイコンのGSLの種類と含有量は、第1章の実験で検出されたGSLの種類と同一であるが、含有量は約7割多い結果であった。

5-2. 経時変化

剥皮したダイコンを2 cm厚さの銀杏切り、せん切り、すりおろしに切裁後、180分まで保冷した際の、脂肪族系GSLの4MT3B-GSL含有量の経時変化をTable 19-21に、また、未処理時に対するGSLの含有率の変化をFigure 28に示した。

2 cm厚さの銀杏切りでは、保冷60分以外は有意差が認められなかった。しかし、保冷60分には含有率236%となり、有意差が認められた($p<0.001$)。保冷120分には含有率は130%と低下し、保冷180分では、未処理時とほぼ同じ含有量となった。GSLが増加した保冷60分のダイコンは、すりおろしにした場合、辛味が増加するか否かは、非常に興味深い。またなぜ保冷後60分で増加したのか、次節で原因を追究したい。

せん切りでは、切裁直後(保冷0分)から残存率が64%まで減少し、

その後は 64～82%の間であったが、有意差は認められなかった。

すりおろしでは、切裁直後（保冷 0 分）から残存率 9.5%となり、その後は低い残存率を維持し、保冷 0 分、30 分、60 分、120 分、180 分全てにおいて有意差が見られた ($p<0.05$)。

上記の結果より、剥皮したダイコンは、試料が細かく切断されるほど GSL の減少率が大きくなることが確認され、すりおろしでは切裁直後から残存率は約 1 割であった。また、厚さ 2 cm の銀杏切りのダイコンは、60 分経過時に 4MT3B - GSL 含有量がかなり増加するという予想外の結果が得られた。

第2節 厚さを変えた切裁によるダイコンのグルコシノレート含有量の経時変化

第1項 緒論

第 1 節の 5-2 ダイコンを用いた実験において、剥皮した厚さ 2 cm の銀杏切りのダイコンが、60 分経過時に 4MT3B - GSL 含有量がかなり増加するという予想外の結果が得られた。そこで、この現象に関して原因を究明するために、さらに皮の有無、切裁の厚さを変え、検討を行った。

第2項 実験方法

1. 試料および試料の調製

試料は、2012 年 9 ～12 月に小売店で同一生産地のものを購入し、購入当日に処理を行った。作業は大量調理施設衛生管理マニュアル⁸¹⁾に従い、厨房内の室温は 25℃以下、湿度は 80%以内で行なった。

ダイコンは、複数の個体から部位別に集めた試料を均質化して実験に供した。各試料の大きさおよび保冷時間などは、Table 22 に示した。切

裁方法を Figure 29 に示した。ダイコンは全部で 20 本用い、そのうち 10 本は皮つきのまま、残りの 10 本は剥皮し、以下の実験に用いた。ダイコンを縦に 4 等分に切り、各ダイコンの 4 分の 1 を合せて未処理用とした。また、残りのダイコンを全て合せ 5 等分にし、2.5 mm、5 mm、1 cm、2 cm、3 cm 厚さ用の試料とした。さらにこれらを切裁直後（保冷 0 分）、切裁後の 30 分、60 分、120 分、180 分間の保冷後の GSL 含有量の測定用に、上部・中部・下部が均等配分されるように 5 等分にした。この実験では、試料をさらに 2 回購入し、合計 3 回の繰り返し実験に供した。

2. グルコシノレートの分析

試薬、試料中のグルコシノレートの抽出、グルコシノレート抽出液の精製とデスルホグルコシノレートの調製、LC-MS によるグルコシノレートの同定、デスルホグルコシノレートの HPLC 分析は、第 1 章第 2 節の 2 と同じである。

3. 統計処理

統計処理は、第 2 章第 1 節第 2 項の 3.統計処理と同じである。

第3項 結果および考察

1. 未処理時のグルコシノレート含有量

ダイコンに含まれる未処理時の GSL の種類および含有量を、Table 23 に示した。ダイコンには脂肪族系の 4MT3B-GSL とインドール系の 4M3IM-GSL がそれぞれ 98.6～99.5%、0.5～1.4%含まれていた。今回使用した未処理のダイコンの GSL の種類と含有量は、第 1 章第 2 章で得られた値と種類は同一であるが、今回分析した GSL 含有量は 2.5～2.9

倍多い結果であった。

2. 経時変化

剥皮したダイコンおよび皮つきダイコンの厚さを変えて切裁後、180分まで保冷した際の、4MT3B - GSL 含有量の経時変化を Table 23-24 に示した。また、未処理時に対しての GSL の含有割合の変化を Figure 30 に示す。

皮つきダイコンの場合は、2.5 mm 厚さに切裁した試料では、未処理時と比較して有意差は認められなかった。1 cm および 3 cm 厚さに切裁した試料では、切裁直後(保冷 0 分)から増加が認められ($p<0.05$ 、 $p<0.001$)、保冷 180 分では未処理と比較して含有率が各々140%、130%となり、有意な増加が認められた (いずれも $p<0.001$)。また 5 mm および 2 cm 厚さでは、保冷 30 分から増加が認められ (いずれも $p<0.001$)、保冷 180 分では未処理と比較して含有率が各々116%、147%となり、有意な増加が認められた ($p<0.05$ 、 $p<0.001$)。

剥皮したダイコンの場合は、2.5 mm 厚さに切裁した試料では、切裁直後(保冷 0 分)に残存率 27%にまで減少し、その後残存率は 40%程度で一定となり、有意差が認められた ($p<0.05$)。5 mm、1 cm、3 cm 厚さに切裁した試料では、保冷 180 分までほとんど変化がなく、有意差も認められなかった。2 cm 厚さに切裁した試料では、保冷 120 分まで増加し、120 分の含有率が 164%となり、有意差が認められたが ($p<0.05$)、保冷 180 分では、減少した。

第 1 節で、剥皮した厚さ 2 cm の銀杏切りのダイコンは、保存 60 分後に、一時的に GSL 含有量が 2 倍以上に増加するという特異な現象が見られた。この現象について本節では、皮の有無、切裁する厚さを変え、さ

らに詳細に検討した。剥皮した場合、2.5 mm 厚さでのみ GSL 含有量は大幅に減少したが、それ以上の厚さでは、2cm 厚さの保冷 120 分を除いて、変化が見られず、有意差も認められなかった。しかし、2 cm 厚さの保冷 120 分に、GSL 含有量が 164% まで増加し、有意差も認められ、前節の現象が再現された。皮付きは、2.5 mm 厚さではいずれの保冷時間にも有意差は認められなかったが、5 mm 厚さ以上では未処理より有意に増加していた。

GSL は柔細胞中の液胞に、ミロシナーゼはミロシン細胞の液胞に存在し^{8,9)}、いずれも表皮と維管束形成層に多く分布している^{82,83)}。従って、これらの部分がより破壊されると GSL の減少が大きくなると考えられる。剥皮したダイコンは皮つきのものに比べて組織損壊が大きいことが、GSL 減少が大きい第 1 の理由と考えられるが、表皮部分の損壊ということも影響しているものと考えられる。

Verkerk らは、インドール系および脂肪族系 GSL を、切裁後に空気に長期間接触させると、増加することを報告⁸⁴⁾している。彼らの実験では、切裁後 10～23、48 時間、室温で保存をした際に、白キャベツの 4M3IM-GSL および 1M3IM-GSL は 48 時間後に、切裁前の 15 倍、ブロッコリーの 4H3IM-GSL は 3.5 倍、4M3IM-GSL は 2 倍に増加したことを報告⁸⁴⁾している。また、これらの現象は昆虫やナメクジによって細胞が傷つけられた際に起こるアブラナ科野菜のディフェンスのメカニズム^{85, 86)}であり、切裁が引き金となり、GSL がデノボ合成により生成したためと彼らは考察している。

軽度に損壊させたキャベツやダイコンで、何故 GSL が増加したのかについては、本研究では原因は不明であるが、GSL の消長はこのデノボ合成とミロシナーゼによる分解とのバランスに依存していると考えられ

る。軽度な損壊ではデノボ合成が優位であり、損壊が大きくなるとミロシナーゼによる分解が優勢になると考えられた。しかし、その詳細なメカニズムについては更なる検討が必要である。

アブラナ科野菜の GSL 含有量は部位・貯蔵の有無⁴⁴⁾、土壌成分^{40, 41)}など様々な要因に影響されることが報告されており、第 1 章の結果においてもブロッコリーやダイコンのように個体が大きいものでは、部位による分布量が著しく異なった。本実験では、実験の目的上、試料を細断して混合し均一化することが難しく、個体差や分布による誤差を軽減することは困難であった。同一試料の分析における変動係数 (CV 値) が 10 以下になるように分析精度を確保して臨んだ実験であったが、実際は実験値の一部にかなり大きな標準偏差が認められ、今後は何らかの工夫が必要と考えている。

第3節 小括

本章では、下処理時間が比較的長い外食産業および特定給食施設⁸⁰⁾における調理条件を考慮し、大量調理施設衛生管理マニュアル⁸¹⁾に示されている室温 25℃以下・湿度 80%以下の環境下、切裁処理の程度による GSL 含有量への影響、ならびに切裁処理後に 10℃以下の条件で冷蔵保存をした際の GSL 含有量の経時変化について検討を行った。その結果、アブラナ科野菜の切裁調理では、試料が細かく切断されると、GSL 含有量は大きく減少することが確認された。キャベツのせん切りでは、切裁後保冷 120 分後に脂肪族系 GSL の残存率は 69%であり、ブロッコリーのみじん切りの場合は切裁直後（保冷 0 分）で 53%、ダイコンおろしでは切裁直後にわずか 9.5%の残存率であった。また、インドール系 GSL も、みじん切りを行った場合は同様に著しく減少した。ダイコンの

厚さを変えた実験では、皮つきのダイコンでは、どの厚さにおいても減少は認められなかった。しかし、剥皮したダイコンでは 2.5mm 厚さのものは切裁直後に 27% まで減少したが、5mm 以上の厚さでは有意な減少は認められなかった。

今回の結果から、せん切り、みじん切り、すりおろしのような大きな組織損壊を与える切裁処理を施した場合は、大量調理施設衛生管理マニュアル⁸¹⁾に従った保存条件では、GSL の保持は困難であるが、比較的軽微な切裁処理では十分保持が可能であることが明らかとなった。ブロッコリーであれば小房程度、キャベツでは 5×5 cm 程度、クレソンでは 4 cm 長さ、ダイコンでは剥皮の有無に関わらず厚さ 5 mm 以上の銀杏型、あるいはこれら以上の大きさに切裁する場合に、保冷 180 分の間は、GSL の減少が認められないことが明らかとなった。一方、組織破壊の程度が大きいものは切裁直後に残存率が小さくなり、保存中も GSL 残存率は低いままであった。GSL の摂取量を多く見込むためには、切裁後保存する場合は、ある程度の大きさに切裁することが望ましい。また、細かく切裁するものでは、供食直前に切裁する必要がある。

第3章

アブラナ科野菜の加熱によるグルコシノレート含有量の変化

第1節 加熱温度の違いがグルコシノレート含有量へ及ぼす影響

第1項 緒論

アブラナ科野菜には生食可能なものもあるが、通常は切裁後に「加熱」調理が行なわれる。加熱による GSL の消長については、キャベツやブロッコリーについて多くの報告がなされている^{74, 87-89)}。加熱温度や時間との関係⁸⁷⁾、茹で・蒸し・電子レンジなどにより加熱したアブラナ科野菜の GSL の消長についてもいくつか報告されている^{74, 88-89)}。しかし、これらの報告の中には、実際に食するには過度な加熱での検討である場合が多く、また、報文ごとに試料の加熱条件が異なるため、GSL 残存率に統一した見解は示されていない。一方で、赤キャベツの凍結乾燥粉末を用い、80℃以上の加熱による GSL の消長を明らかにした報告⁸⁷⁾がある。しかし、野菜を調理する過程では、加熱による細胞膜や細胞壁の破壊、細胞死などが、GSL とミロシナーゼの接触ひいては GSL の消長に影響すると考えられ、生野菜を用いて検討することが必要である。また、細胞中には、DS-GSL スルホトランスフェラーゼなどの GSL 合成に関与する多くの酵素が含まれ⁹⁰⁾、これらの酵素とミロシナーゼのバランスが GSL 含有量に影響を及ぼしていると推定される。

そこで、GSL の分解や合成に関与する酵素活性と温度との関係を明らかにするために、30℃から 90℃または 99℃までの温度帯における、アブラナ科野菜中の GSL 含有量を測定し、その消長について検討した。試料はクレソンおよびブロッコリーを用いて行った。クレソンは、第2相解毒酵素誘導活性が強い ITC 類の前駆体である脂肪族系 GSL

の 5MSP-GSL、6MSH-GSL、7MSH-GSL、8MSO-GSL や、芳香族系 GSL の PHE-GSL ならびにインドール系 GSL が種類・含有量ともに、他のアブラナ科野菜と比較して多い。そこで GSL の系による違いや様々な種類の GSL の加熱による消長を観察できるように、クレソンを試料として選択した。またブロッコリーは、第 2 相解毒酵素誘導活性が強いスルフォラファンの前駆体である 4MSB-GSL を多く含んでおり、生食せずに加熱後に食する野菜であるため、試料として選択した。

第2項 実験方法

1. 試料および試料の調製

クレソンおよびブロッコリーを試料として、30℃から 90℃または 99℃まで温度を変えて 30 分間加熱した場合の、各試料に含まれる GSL 含有量を比較した。ブロッコリーについては、予備実験として中心温度の測定を行った。即ち、予め小房を無作為に 4 個選び分枝の最も太い部分の直径をノギスで測定し、その半分の長さを求めた。袋に真空調理時に中心温度を測定するためのムース（ニチワ電気㈱）を 4 か所装着し、装着した袋の外側から 4 本のセンサーを袋の内側に貫通させ、ブロッコリーの分枝の中心に向け予め求めた長さを刺し込み、中心温度を測定した。温度の測定は、メモリ機能付きハンディタイプ 6 チャンネル計測器（データコレクター、AM- 7002 Type K）、センサー 1 mmφ（いずれも安立計器㈱、東京）を使用した。今回の実験では、ブロッコリーの中心温度が設定温度に到達したのは、いずれの場合も 5 分以内だったことより、その時間は加熱時間に加えなかった。加熱時間 30 分は、通常の加熱時間としては長いが、温度の影響が十分に確認できると考え 30 分間とした。

クレソンは、2011 年 10 月に茨城県奥久慈産のものを生産者より約 3 kg

を購入した。ここから試料を無作為に約 100g ずつ分取し、生鮮物の分析ならびに 7 段階の熱処理の実験を行った。それぞれの実験は、3 回の繰り返しとした。

ブロッコリーは、2014 年 8 月に北海道紋別郡産のものを小売店より約 15 kg 購入した。個体差や部位による違いを除去するために、全てのブロッコリーの可食部を 20～25 g/個の小房に切り、試料とした。そこから生鮮物の分析ならびに 8 段階の熱処理を行うために、無作為に約 300 g ずつ分取し実験を行った。それぞれの実験は、3 回の繰り返しとした。作業は、GSL が切裁時に減少しないことが確認されている条件下にて（第 2 章結果）、厨房内の室温は 25℃以下、湿度は 80%以下、切裁直後から加熱までは 5℃前後の冷蔵保存を行なった。

茹で水への GSL の溶出を防止し、かつ試料への熱伝導率を上げるために、試料は真空パック専用の袋（明和産商(株)、大阪）に入れ、真空パックをした。真空包装機は、BOXER 42（ニチワ電気(株)、東京）を用い、真空度は組織破壊が最小限となる程度とし、VACUUM 45、SEAL 3.0、SOFTAIR 02 の条件で行った。真空パック後の試料を、真空調理用加熱器（電気スーベークッカー、型式 SCW-350H）（ニチワ電気(株)）を用いて、以下の設定温度の温水中に試料を投入後、各 30 分間加熱した。クレソンの加熱温度は、30、40、50、60、70、80、90℃の 7 段階、ブロッコリーの加熱温度は 30、40、50、60、70、80、90、99℃の 8 段階である。各々未加熱の試料を作成し、これを標準とした。試料は、余熱の影響を避けるために、加熱後すぐに真空パック包装のまま、ブラストチラー（ニチワ電気(株)）にて急速冷却を行った。

2. グルコシノレートの分析

試薬、試料中のグルコシノレートの抽出、グルコシノレート抽出液の精製とデスルホグルコシノレートの調製、LC-MS によるグルコシノレートの同定、デスルホグルコシノレートの HPLC 分析は、第 1 章第 2 節の 2 と同じである。

第3項 結果および考察

本研究で用いたクレソンおよびブロッコリーの未加熱試料に含まれる GSL の種類および含有量を Table 25、Table 26 に示した。

クレソンには脂肪族系 GSL が含有量の多い順に、7MSH-GSL、6MSH-GSL、7MTH-GSL、6MTH-GSL、5MSP-GSL、8MSO-GSL、芳香族系 GSL では PHE-GSL、2H2P-GSL、インドール系 GSL では 3IM-GSL、4M3IM-GSL が含まれ、それぞれ総 GSL 含有量の 58%、37%、6%を占めた。本実験で用いたクレソンは、第 1・2 章と比較して、総 GSL 含有量が 2 ～3 割少なかったが、総 GSL に対する各 GSL 含有率は、ほぼ同等であった。

ブロッコリーには脂肪族系 GSL が含有量の多い順に、4MSB-GSL、2H3B-GSL、3MSP-GSL、インドール系 GSL では 3IM-GSL、1M3IM-GSL、4M3IM-GSL が含まれ、それぞれ全体の 59%、41%であった。本実験で用いたブロッコリーの総 GSL 含有量は、第 1 章と同様であったが、第 2 章と比較すると少なく、約 6 割であった。また、総 GSL 含有量に対する脂肪族系 GSL およびインドール系 GSL 含有量は、第 1 章のブロッコリーと同様に脂肪族系 GSL の割合が多く、逆にインドール系 GSL は少なかった。アブラナ科野菜の GSL 含有量は遺伝子（品種）、収穫時期⁴³⁾、栽培年⁴⁴⁾、土壌成分の違い^{40, 41)} など様々な要因に影響されるため、それらのことが GSL 含有量の違いに影響を及ぼしたものと思われた。

次に、クレソンにおける加熱温度の違いによる GSL 含有量の変化を Table 25 に、未加熱時に対する含有割合の変化を Figure 31 に示した。またブロッコリーにおける加熱温度の違いによる GSL 含有量の変化を Table 26 に、未加熱時に対する含有割合の変化を Figure 32 に示した。

クレソンについては、脂肪族系、芳香族系、インドール系 GSL のいずれも、40℃までは殆ど残存率は低下せず、50、60℃で大きく低下し、それ以上の温度帯では高くなった。残存率が最も低下した 50℃では、未加熱と比較して脂肪族系 GSL の残存率は 7.3%、芳香族系 GSL は 3.6%、インドール系 GSL は 24.2%となった。60℃では、脂肪族系 GSL の残存率が 29.6%、芳香族系 GSL は 19.3%、インドール系 GSL は 37.6%となり、70℃以上の温度帯では、脂肪族系 GSL の残存率は 73.0~86.9%、芳香族系 GSL は 70.4~85.2%、インドール系 GSL は 62.4~72.6%であった。インドール系 GSL の残存率は、脂肪族系および芳香族系 GSL の残存率よりも 50℃、60℃では高く、それより高温では低い傾向であった。

ブロッコリーでは、脂肪族系 GSL は未加熱と比較して、30~40℃までは残存率が 77.8~89.7%であったが、50℃では、残存率は 59.8%まで低下し、60℃ではさらに 16.7%まで低下し最低値となった。70℃以上の温度帯では、残存率が 54.4~69.4%となった。一方、インドール系 GSL は、30~50℃の残存率が、78.4~93.1%であったが、60℃では 18.6%まで低下した。70℃以上の温度帯では 32.5~45.7%の残存率であり、インドール系 GSL は脂肪族系 GSL よりも高温加熱時の残存率が低い傾向が見られた。

これらの GSL 含有量の変動は、熱の影響による細胞死やミロシナーゼの活性および失活によるものと考えられる。植物細胞は、52℃以上の熱に接触すると原形質分離がおこり細胞死を起こす⁹¹⁾。細胞死が起こると、

今まで DNA による制御の下に、細胞壁で区切られていた GSL とミロシナーゼが接触可能となり、GSL はミロシナーゼにより加水分解を受け減少する⁴⁶⁾。また、一般に酵素活性は、高温により失活するまでは温度上昇とともに反応速度が高くなる。本結果においてクレソンは 50℃で、またブロッコリーは 60℃で、GSL 残存率が最も低くなったのは、上記の理由によるものと考えられる。すなわち 50～60℃で細胞死が生じるが、クレソンおよびブロッコリー中に含まれるミロシナーゼ活性は高いため、GSL 含有量が最も減少する。さらに高温の加熱では、ミロシナーゼが失活するため、GSL の分解が停止し、残存率が高くなったものと考えられた。

また、本結果ではクレソンとブロッコリー中の GSL 含有量が最も低値となる温度帯が異なった。このような違いが見られたのは、試料の厚みによる熱伝導速度が関与しているものと考えられる。クレソンの茎は細く、食品の中心部まで短時間で設定された加熱温度になりやすいが、ブロッコリーは到達しにくい。また、異なる種類の野菜では、ミロシナーゼの物理化学的性質や活性が若干異なるとの報告がある⁹²⁾。アブラナ科植物には、アブラナ属、ダイコン属、ワサビ属など 375 属もの種類があり、一般に同じグループに属するものは、ミロシナーゼの特性についても類似した特徴を持つ⁹²⁾。しかし、今回実験に供した試料のブロッコリーはアブラナ科アブラナ属であり、クレソンは、アブラナ科オランダカラシ属という異なる属であるため、ミロシナーゼが活性化する温度帯が異なったとも考えられる。

以上のことより、クレソンやブロッコリーを加熱する際に GSL の分解を抑制するには、50～70℃の温度帯を早く通過させることが効果的であることが示唆された。

置換基により 3 つに分けられた脂肪族系、芳香族系およびインドール系 GSL の温度による消長については、脂肪族系と芳香族系は比較的同様な傾向を示した。しかし、インドール系 GSL は高温で加熱した場合に、脂肪族系および芳香族系 GSL よりも GSL の残存率が低い傾向が見られ、熱により分解しやすいものと考えられる。Oerlemans ら⁸⁷⁾ も赤キャベツに含まれるインドール系 GSL は、脂肪族系 GSL と比較して熱により分解しやすく、100℃40 分間の加熱で比較した際の残存率は、脂肪族系では 92 %、インドール系では 62 %であったと報告している。特に 4M3IM-GSL や 4H3IM-GSL の減少率が高いことを報告しており、本研究においても同様の結果となった。この理由についての明確な考察は見当たらないが、両者間の熱に対する安定性あるいは酸化安定性などの化学的性質の違いが、減少率の違いに影響を及ぼしているものと考えられた。

ビタミン C については、低温（70℃）で加熱を行うことにより、アスコルビン酸オキシダーゼやアスコルビン酸パーオキシダーゼが抑制され、ビタミン C が増加したとの報告⁹³⁾がある。そこでは熱ストレスによりビタミン C が積極的に合成されたとの仮説が論じられている。GSL についても低温加熱により、ミロシナーゼによる加水分解を上回る合成が起こるのではないかと温度帯を調べたがそのような現象は認められなかった。

第2節 茹で時間の違いがグルコシノレート含有量へ及ぼす影響

第1項 緒論

次に、ブロッコリーを用いて、茹で加熱をした際の GSL の消長を検討した。既報における残存率の変動は、それぞれ試料の大きさや茹で水の

量、加熱時間などの加熱条件が一定でなかったために生じたと思われる。大量調理では、加熱方法が異なる場合に、調理過程と品質の標準化のため、食品の加熱最終温度を一定として加熱条件を揃えている。そこで我々は、この考え方にに基づき、ブロッコリー小房の重量を 20～25 g /個として、加熱中の試料の中心温度を測定し、一定温度（95℃）になった時点を加熱最終温度の基準と設定した。この加熱条件を基準にしたのは、色などの外観や食べた時の味などが最も好ましいと既に報告した⁴⁸⁾ためである。この基準をもとに、加熱時間の違いによる GSL 残存率を比較し、GSL の損耗が少ない加熱方法について考察した。

第2項 実験方法

1. 試料および試料の調製

茹で加熱の加熱時間が、試料中の GSL 含有量へ与える影響について、ブロッコリーを試料として調べた。

ブロッコリーは、2009 年 8 月に埼玉県産を小売店で約 3 kg 購入後、全てのブロッコリーの可食部分を 20～25 g/個の小房に切り、そこから無作為に約 250 g ずつ分取し、生鮮物の分析ならびに 4 段階の熱処理を行う実験に供した。この実験では、ブロッコリー試料をさらに約 3 kg ずつ 2 回購入し、合計 3 回の繰り返し実験に供した。この 4 段階の熱処理は、中心温度が 95℃になるまで加熱されたものを基準として、95℃に達するまでの時間の 0.5 倍、1 倍、1.5 倍、2 倍の時間加熱を行った。アルミ半寸胴鍋（内径×高さ；210×150 mm、容量；5.1 L）中に、試料の 10 倍量の水を秤量し 100℃になるまで加熱し、ここにブロッコリーを投入して加熱した。加熱は都市ガス（24,000 kcal/h）により行った。加熱中の温度計測は以下のように行った。まず小房を無作為に 4 個選び、予め分枝

の最も太い部分の直径をノギスで測定し、その半分の長さを求めた。4本のセンサーを、分枝の中心に向けて予め求めた長さを刺し込み、中心温度を測定した。加熱後は、早急にブロッコリーと茹で水を分け、それぞれ冷却処理を行った。温度計および冷却機器は、第3章第1節で用いたものと同一である。茹で水の GSL 含有量の測定は、Ciska らの方法⁹⁴⁾を参考に行った。即ち、茹で水は冷却後に水量を測定し、ニトロセルロース・メンブレンフィルター 0.22 μm GSWP (メルク株、東京) でろ過した後、1 L 容ナスフラスコに入れ、冷却水循環装置(クールエース CA-1112 型、EYELA 東京理化器械株、東京) を装着したロータリーバキュームエバポレーター (N - N シリーズ、EYELA 東京理化器械株、東京) を用いて少量まで濃縮し、これを蒸留水で溶解して、25 mL 容に定容した。これを茹で汁の GSL 抽出液とした。

2. グルコシノレートの分析

分析方法は、全て第1章第2節の2.グルコシノレートの分析と同じである。ただし茹で汁中の GSL のスルファターゼ処理については、以下の方法で行った。0.02 mol $\cdot$ L⁻¹ 酢酸緩衝液 (pH 5.0) で緩衝化した DEAE - セファデックス A - 25 (GE ヘルスケア・ジャパン株、東京) 約 1.0 mL を、先端にガラスウール (東ソー株、東京) を詰めた 5 mL のマイクロピペット用チップに入れ、先端に栓をしたミニカラムを作成し、開栓後イオン交換水 1.0 mL を注入して洗浄し、そこへ茹で汁中の GSL 抽出液 1.0 mL を負荷して GSL を吸着させた。この茹で汁中の GSL 抽出液 1.0 mL には、固形試料中の GSL 抽出液 1.0 mL 中の含有量と同量の 5 mmol シニグリン溶液 40 μL を混合した。その後の方法は、第1章第2節と同一である。

第3項 結果および考察

本実験で用いたブロッコリーの総 GSL 含有量は、第 1・2 章で測定した含有量と比較して少なく、特に脂肪族系 GSL 含有量が少なかった。これらの理由は、第 1 節 (p.46) に記載した理由と同様に、アブラナ科野菜の GSL 含有量は遺伝子 (品種)⁴³⁾、収穫時期⁴³⁾、栽培年⁴⁴⁾、土壌成分の違い^{40, 41)} など様々な要因に影響されるためと思われる。

ブロッコリーを、中心温度が 95℃になるまでの時間を基準とし、その時間の 0.5 倍、1 倍、1.5 倍、2 倍の加熱時間で茹でた場合の、GSL 残存量を Table 27 に、また未加熱時の含有量に対する残存率を Figure 33 に示した。ブロッコリー分枝部の中心温度が 95℃となる時間は、沸騰中に試料を投入後 176 秒 (B: Base) であった。したがって比較する他の加熱時間は、この基準をもとに 88 秒 (0.5 B)、176 秒 (B)、264 秒 (1.5 B)、352 秒 (2 B) と設定し、加熱後のブロッコリーおよび茹で水中に残存する GSL 含有量を測定した。

脂肪族系 GSL である 4MSB-GSL については、0.5 B の残存率は未加熱とほぼ同様であった。B、1.5 B および 2 B では、未加熱と比較して加熱時間が長くなるほど GSL の残存率が低くなり、それぞれ 77.1%、66.7%、64.5% と低下した。一方、茹で水中にも GSL が含まれていた。0.5 B、B、1.5 B、2 B の茹で水中には GSL がそれぞれ、未加熱試料の 5.5%、7.4%、6.1%、5.8% 含まれており、加熱時間の長さによる規則性は見られなかった。

インドール系 GSL である 3IM-GSL および 1M3IM-GSL の残存率は、0.5 B から低下し始め、それぞれ 61.6%、41.4% であった。B における残存率は、それぞれ 49.8%、23.8% であり、1.5B ではそれぞれ 40.6%、15.6%、2B ではそれぞれ 29.1%、14.1% だった。これらは加

加熱時間が長くなるほど残存率は低下した。4M3IM-GSL では、0.5 B の残存率は 84.3%であり、3IM-GSL や 1M3IM-GSL に比べると減少の程度は少ないが、加熱時間が長くなるほど低下し、B、1.5B、2B では 72.9%、52.6%、30.5%だった。中心温度 95℃まで加熱（B）したブロッコリーの状態は、水っぽい感じがなく、丁度良い硬さであった。この時の GSL 残存率は、3IM-GSL は約 50 %、4M3IM-GSL は約 75%、1M3IM-GSL は約 20%であったが、スルフォラファンの前駆体である 4MSB-GSL は約 80%まで残存していた。一方、茹で水中におけるインドール系 GSL 含有量は、3IM-GSL、4M3IM-GSL および 1M3IM-GSL の 0.5 B では、それぞれ 6.3 %、5.7 %、9.1 %であったが、B では 17.4%、20.2%、18.9%となり、それ以上加熱時間が延長しても残存率は変化しなかった。Ciska らの報告⁹⁴⁾においても茹で水中のインドール系 GSL は、脂肪族系 GSL の 3.5~4 倍の割合で存在することが報告されており、本研究も同様な結果となった。

以上の結果より、中心温度 95℃になるまでの加熱時間（B）では、脂肪族系 GSL である 4MSB-GSL の約 8 割はブロッコリー中に残存し、それ以上の長い加熱時間であっても 7 割強は残存した。しかし、インドール系 GSL の茹で加熱による減少率は高く、1.5 B においては、未加熱時の半分以下にまで減少した。特に 1M3IM-GSL の減少が大きかった。

Cieslik ら⁸⁹⁾ はブロッコリーやキャベツなどのアブラナ科野菜を加熱した際の GSL の損耗率は、湯通し（約 3 分）よりも長く加熱する茹で加熱（10~15 分）の方が高く、特にインドール系 GSL は脂肪族系 GSL と比較して損耗率が高く、熱に不安定な物質であると報告している。また Ciska ら⁹⁴⁾ は、キャベツに含まれる GSL を未加熱から茹で時間 30 分まで 5 分ごとに測定し、5 分加熱時の GSL 残存率は未加熱と比較して脂肪

族系およびインドール系ともに 66%であったが、10 分後にはそれぞれ 53.8%、48.0%となり、インドール系 GSL の残存率の方が低値であったことを報告している。

加熱後のブロッコリーおよび茹で水中に残存する GSL は、合計しても未加熱に対して 100%とはならなかった。Ciska ら⁹⁴⁾ や、Wennberg ら⁹⁵⁾ も同様な結果となり、試料および茹で水中に含まれる GSL は損失されたと論じている。Hanschen ら⁹⁶⁾ は、ブロッコリースプラウトから作成された粉末 2~3 mg を水浴中で加熱し、GSL およびその分解物であるニトリルの消長を調べた結果、加熱時間が長くなるほど 4MSB-GSL 含有率が低くなり、ニトリルの含有率が高くなると報告している。これらの報告から、ブロッコリーに含まれる GSL は、本実験においても加熱により茹で水中に溶出され、またその一部は、熱によりニトリルなどに分解され、損失されたものとする。この熱による損失は、脂肪族系 GSL よりもインドール系 GSL の方が大きい傾向であった。しかし、茹で水中に含まれる GSL 含有量の割合は、インドール系 GSL の方が大きい。これは Ciska ら⁹⁴⁾ も同様な結果であった。このような現象がなぜおこるのかについては、本実験では説明できなかった。

第3節 茹で水量の違いがグルコシノレート含有量へ及ぼす影響

第1項 緒論

次に、ブロッコリー小房の重量を 20~25 g /個として、加熱中の試料の中心温度を測定し、一定温度（95℃）になった時点を加熱終了とし、茹で水量の違いによる GSL 残存率を比較し、GSL の損耗が少ない加熱方法について検討を行った。

第2項 実験方法

1. 試料および試料の調製

茹で加熱について、茹で水量が試料中の GSL 含有量へ与える影響を、ブロッコリーを試料として調べた。ブロッコリーと茹で水量の割合は、ブロッコリーが茹で水に十分浸漬する割合とするために 1:10、1:5（いずれも重量比）とした。ブロッコリーは、2009 年 6 月に埼玉県産を小売店で約 2.5 kg 購入後、購入当日に処理を行った。全てのブロッコリーの可食部分を 20~25 g/個の小房に切り、そこから無作為に生鮮物の分析用に 300 g を、また 2 段階の熱処理を行うために 300 g（茹で水 10 倍量で加熱用）、500 g（茹で水 5 倍量用）ずつ分取し実験に供した。この実験では、ブロッコリー試料は約 2.5 kg ずつさらに 2 回購入し、合計 3 回の繰り返し実験に供した。アルミ寸胴鍋に水を 3 L 入れ、100℃になるまで加熱し、そこへブロッコリーを投入し、分枝部の中心温度が 95℃になるまで加熱した。沸騰水の対流熱を等しくするために、茹で水量を均一にした。加熱に使用したアルミ寸胴鍋、都市ガスの火力および中心温度の測定方法は第 3 章第 2 節と同一である。中心温度の測定で用いた温度計および加熱後の冷却処理で用いた冷却機器は、第 3 章第 1 節で用いたものと同一である。

2. グルコシノレートの分析

試薬、試料中のグルコシノレートの抽出、グルコシノレート抽出液の精製とデスルホグルコシノレートの調製、LC-MS によるグルコシノレートの同定、デスルホグルコシノレートの HPLC 分析は、第 1 章第 2 節の 2 と同じである。

第3項 結果および考察

本実験で用いたブロッコリーの総 GSL 含有量は、第 1・2 章および第 3 章第 1・2 節で測定した含有量と比較して最も少なく、最も多い第 2 章で使ったブロッコリーの 3 割程度であった。特に脂肪族系 GSL 含有量が少なかった。GSL の組成は、第 1 章や第 3 章第 1 節で使ったブロッコリーと同様にインドール系 GSL よりも脂肪族系 GSL の割合が大きかった。

試料の 10 倍量、5 倍量の沸騰水で茹で加熱を行った場合の、ブロッコリーにおける GSL 含有量を Table 28 に、また未加熱時に対する残存率を Figure 34 に示した。4MSB-GSL の残存率は、未加熱に対して、10 倍量の湯で茹でたブロッコリー（10 倍量）では 77.0%、5 倍量では 67.6%となり、茹で水が少ないほど、残存率は低くなった。インドール系 GSL の 4M3IM-GSL についても同様の傾向を示したが、その減少率は脂肪族系 GSL と比較して大きく、10 倍量および 5 倍量の残存率はそれぞれ、46.4%、35.7%であった。さらに 1M3IM-GSL は 28.0%、28.7%となり、ほぼ同値であった。

各条件で茹で加熱をした時の中心温度の履歴を、Figure 35 に示した。ブロッコリーを 5 倍、10 倍量の沸騰水に投入した場合、試料の中心温度が 95℃となるには、10 倍量の沸騰水に投入した場合は 2 分 20 秒、5 倍量では 3 分要した。また、50～70℃を通過した時間は 10 倍量では 25 秒、5 倍量では 30 秒であった。

茹で加熱をする場合は、沸騰水に食材を投入すると茹で水の温度は一度低下する。この温度低下は、沸騰水に対して試料の投入量が多くなるほど大きく、再沸騰までの温度上昇速度も遅くなる⁹⁷⁾。そのため、内部温度の上昇が遅いものは、50～60℃あたりの温度帯の通過時間が長くな

り GSL の減少が大きくなるのではないかと予測した。本実験で行ったような家庭調理レベルでの分量では、あまり大きな差異は認められなかったが、大量調理施設の回転釜で行うような 1 回の茹で水量 10～100 kg 程度で行う場合は、茹で水の温度低下が少量調理よりも大きく⁹⁷⁾、かつ再沸騰までの時間も長くなるため、本実験とは異なる結果が得られると考えられる。

Dekker ら⁴⁶⁾は、茹で水への GSL の溶出は、水量による影響が大きく、水量が多いほど溶出量が多いと報告している。さらに 150 g のブロッコリーを、水量を変えて茹でた時の総 GSL 残存率のモデルを示し、ブロッコリー：沸騰水を 1：1（重量比）で加熱した場合は、ブロッコリーに含まれる総 GSL の 52% は残存するが、1：2（重量比）や 1：4 で加熱した場合にはそれぞれ 33%、18% しか残存しないと計算上推定している⁴⁶⁾。しかし今回の実験では、ブロッコリーを同重量の水で加熱しても十分に浸漬しないため、ブロッコリーを茹でることができなかった。等量の水での茹で加熱は、ブロッコリーの一部は水中に浸るが、浸らない部分は水蒸気による加熱となり、茹で条件の比較にはならないと思われる。また、Dekker ら⁴⁶⁾の推定値は、本研究の結果よりもかなり低値であった。これは、本研究の加熱条件は分枝部の中心温度が 95℃になるまでとしたが、加熱条件が異なるためと考えた。

以上の結果より、茹で水量の違いによる GSL 含有量への影響について検討したところ、水量が試料重量の 5 倍、10 倍程度では影響は少なく、家庭調理レベルの分量では、あまり大きな差異は認められなかった。

第4節 熱媒体が異なる加熱方法（蒸し加熱、過熱水蒸気による加熱、真空調理）がグルコシノレート含有量へ及ぼす影響

第1項 緒論

ブロッコリーについては、茹でる以外に蒸すなどの加熱をして食することが多い。そこで、大量調理で頻繁に用いられるスチームコンベクションオーブンによる蒸し加熱、過熱水蒸気による加熱、真空調理による加熱について、分枝部の中心温度が 95℃になるまで加熱し、ブロッコリー中の GSL 含有量を測定し、その消長を比較検討した。

第2項 実験方法

1. 試料および試料の調製

大量調理で使用する 3 種類の調理方法（蒸し加熱、過熱水蒸気による加熱、真空調理）を行い、加熱後の各試料中に含まれる GSL 含有量を測定した。ブロッコリーは、2009 年 8 月に埼玉県産を小売店で約 7 kg 購入後、全てのブロッコリーの可食部分を 20～25 g/個の小房に切り、そこから生鮮物の分析用に無作為に 500 g を、また 3 種類の加熱を行うために 1,000 g ずつ分取し実験に供した。この実験では、ブロッコリー試料を約 7 kg さらに 2 回購入し、合計 3 回の繰り返し実験に供した。3 種類の加熱方法は、下記に記載したとおりである。

①蒸し加熱：スチームコンベクションオーブン（FCCP 101 G、(株)フジマック、東京）、440×640×760 mm（トレイ10段）、ガス消費量 36,980 kcal/h：スチーム 100℃。

②過熱水蒸気による加熱⁹⁸⁾：アクアガス加熱装置（タイヨー製作所、北海道）、420×605×461 mm（トレイ5段）、消費電力 10.63 kW：加熱チャンバー内処理温度 115℃、湿度 100%、チャンバー内酸素濃度 0.2%による加熱。蒸し加熱および過熱水蒸気による加熱に用いたブロッコリーは、重ならないようにトレイを 2 段に、それぞれに 500 g ずつ並べた。①②

の機器が設定温度になっていることを確認後投入した。

③真空調理：ブロッコリー330g を水 30 ccと共に 230mm×330mm の真空パック専用袋（明和産商㈱、大阪）に入れたものを 3 袋調製し、真空パックした。使用した真空包装器、真空度は、第 3 章第 1 節と同一である。加熱は①と同一のスチームコンベクションオーブンで行った。

いずれの加熱方法も、ブロッコリー分枝部の中心が 95℃に達するまで加熱した。中心温度の測定方法は、蒸し加熱および過熱水蒸気による加熱は第 3 章第 2 節、真空調理は第 3 章第 1 節と同一である。加熱後の冷却処理は第 3 章第 1 節と同一である。

2. グルコシノレートの分析

試薬、試料中のグルコシノレートの抽出、グルコシノレート抽出液の精製とデスルホグルコシノレートの調製、LC-MS によるグルコシノレートの同定、デスルホグルコシノレートの HPLC 分析は、第 1 章第 2 節の 2 と同じである。

第3項 結果および考察

熱媒体が異なるいくつかの加熱機器を用いてブロッコリーを中心温度 95℃となるまで加熱した際の、GSL 含有量について、Table 29 に、また未加熱時に対する GSL 含有率について、Figure 36 に示した。

本実験で用いた未加熱のブロッコリーの総 GSL 含有量は、本章の第 1 項で用いたもののほぼ同様であった。しかし組成については脂肪族系とインドール系 GSL の割合がほぼ同値であった。

4MSB-GSL については、スチームコンベクションオーブンを用いた蒸し加熱（以下 ST と示す）の含有率は、未加熱に対して 138.7%、過熱水

蒸気による加熱（以下 SS と示す）では 152.0%、真空パック後に蒸し加熱した場合（以下 VC と示す）は 140.0%となった。3IM-GSL については、ST は 149.0%、SS では 140.3%、VC では 128.5%となった。4M3IM-GSL については、ST は 120.0%、SS は 120.0%、VC は 98.2%となった。1M3IM-GSL については、ST は 161.9%、SS は 154.9%、VC は 110.5%となった。

また、加熱の際に測定した中心温度の履歴を Figure 37 に示した。中心温度 95℃になるまで、ST では 4 分 30 秒、SS では 3 分 50 秒、VC では 5 分 20 秒であった。また、50～70℃を通過するのに要した時間は ST では 35 秒、SS では 27 秒、VC では 50 秒であった。

以上の結果より、蒸し加熱、過熱水蒸気による加熱、真空調理により中心温度 95℃まで加熱した場合には、GSL 含有率の低下は見られないことが明らかになった。

GSL は水溶性であり、ST では水蒸気（100℃）が、SS では ST よりも微細で高温（115℃）な水滴が試料表面に付着し熱伝達が行われる⁹⁸⁾が、本研究では加熱後の減少が見られなかったため、これらによる GSL の損耗は殆どないものと考えられる。また、ST および SS による加熱は、試料の中心温度上昇速度が比較的速いため、ミロシナーゼ活性の高い 50～70℃を短時間で通過し、GSL の損耗を抑制したと考えられる。VC は加えた水と真空パック専用袋の影響により試料の中心温度上昇速度が、蒸し加熱や過熱水蒸気による加熱よりも遅くなったものと考えた。

本実験で用いた 3 つの調理法では、加熱後のブロッコリーに含まれる GSL 含有量は、未加熱と比較していずれも増加した。Verkerk ら⁹⁹⁾ が赤キャベツを用いて行った実験においても、同様な結果が報告され、赤キャベツを電子レンジ 180 ワットで 200 kJ 加熱した時の総 GSL 含有率

は、未加熱と比較すると 175%まで上昇した。特に 3IM-GSL の増加率は大きく、180 ワット 194.4 kJ で 200%、540 ワット 129 kJ で 300%、900 ワット 129.6kJ で 340%であった。一方 Song ら⁷⁴⁾ は、蒸し加熱を 0～20 分間、電子レンジ加熱を 0～3 分間、炒め加熱を 0～5 分間行った結果、未加熱と比較して有意な減少は認められなかったと報告している。本実験で示された「未加熱試料と比較して、加熱後に GSL 含有量が増加する現象」の要因については明らかではないが、Verkerk ら⁹⁹⁾ は、加熱により GSL の抽出が亢進したための現象であると報告している。しかし、本実験で適用した抽出法がこれらの要因で抽出率に変化が生じたとは考えにくく、加熱昇温過程でのこれら化合物の生合成が惹起されたと考えることが自然であると思われる。第 2 章で、調理操作中に GSL が増加する現象について、小房に分けたブロッコリーのインドール系 GSL や厚切りしたダイコンの 4MT3B-GSL 含有量で報告している。これらに何か統一されたメカニズムが存在するのかどうか興味深く、今後の課題としたい。

第5節 小括

本研究では、加熱処理がアブラナ科野菜中の GSL 含有量へ及ぼす影響を検討した。加熱温度については、クレソンおよびブロッコリーを用いて行った。また茹で時間および茹で水量の違い、更に大量調理で用いられる蒸し加熱、過熱水蒸気による加熱、真空調理を行った際の GSL の消長についてはブロッコリーを用いて比較検討し、以下の結果を得た。

GSL は、50～60℃の加熱で最も損失し、クレソンでは 50℃、ブロッコリーでは 60℃の通過時間を短縮することにより、GSL 含有量の調理損耗を抑制できた。中心温度 95℃まで加熱したブロッコリーの脂肪族系 GSL

の残存率は約 80%であり、一方、インドール系 GSL の残存率は、GSL の種類により約 25～75%と幅があった。茹で加熱後のブロッコリーに含まれる GSL 残存率は、脂肪族系およびインドール系ともに、加熱時間が長いほど減少したが、茹で水中には一定量しか残存せず、中心温度 95℃まで加熱した時の脂肪族系では約 7%、インドール系では約 17～20%であった。茹で水量の違いによる GSL 含有量への影響については、家庭調理レベルでの分量では、あまり大きな差異は見られなかった。しかし大量調理では、1 回の茹で水量が多く、そのため茹で水の温度低下が少量調理よりも大きく、かつ再沸騰までの時間も長くなるため⁹⁷⁾、本実験とは異なる結果が得られると考えられる。蒸し加熱、過熱水蒸気による加熱、真空調理により中心温度 95℃まで加熱した場合には、GSL 含有率の低下は見られなかった。

総括

本学位論文で焦点をあてた GSL は、第 2 相解毒酵素の誘導ならびに第 1 相解毒酵素の阻害を介して、様々ながんに対し発がん抑制効果を発現すると考えられている ITC の前駆体である。本研究では、わが国で栽培されている野菜の多くを占めるアブラナ科野菜を試験物質として、それらに含まれる GSL について調理科学的な検討を行った。具体的には、アブラナ科野菜における GSL の種類や含有量ならびに調理・加工過程における GSL の損傷、消長、他の物質への変換などについての基礎的な検討を行い、健康の保持・増進に寄与する情報を蓄積した。

まず第 1 章では、日常生活において入手し易く、摂取頻度の高い日本産アブラナ科野菜 4 属 13 種類 15 品目を対象として GSL の種類および含有量について検討した。その結果、25 種類の GSL の存在が確認できた。その中には、発がん抑制効果の報告¹⁴⁻³¹⁾されている ω -メチルスルフィニル型 GSL やフェネチル GSL、3IM-GSL などが含まれていた。 ω -メチルスルフィニル型 GSL はオランダカラシ属のクレソンやアブラナ属のブロッコリーに特に多く含まれ、フェネチル GSL はクレソンやカブ根、カブ葉を含めたアブラナ属の葉物野菜に存在し、3IM-GSL および 1M3IM-GSL はダイコンおよびロケットサラダを除く全てのアブラナ科野菜に含まれていた。

15 品目のアブラナ科野菜中に含まれる GSL 含有量を測定した結果、含有量の少ないチンゲンサイでは $6.90 \pm 1.75 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{gDW}^{-1}$ から、多いブロッコリースプラウトでは $185.01 \pm 9.21 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{gDW}^{-1}$ 含まれていた。アブラナ科野菜の全体的な含有量は $20 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{gDW}^{-1}$ 前後に集約していた。従って、私たちが多種類のアブラナ科野菜を日常から食べることによ

て、GSL の摂取量の増加を見込むことができるものとする。

第 2 章では、食材の下処理時間が比較的長い外食産業および特定給食施設における調理条件を考慮し、アブラナ科野菜に含まれる GSL 含有量の調理・加工過程における消長を調べた。外食産業や給食を提供するような大量調理施設においては、平成 8 年に発生した O157 の食中毒事故をきっかけに、それを予防するために平成 9 年に大量調理施設衛生管理マニュアル⁸¹⁾が作成され、温度や時間管理が厳密に行われている。大量調理の場合は、作業部屋の温度および湿度についても厳密に決められ、室温は 25℃以下、湿度は 80%以下と定められている。野菜を含む食材は、下処理ならびに下処理後の本調理に入るまでに長時間を要するため、その間は 10℃以下の冷蔵庫で保管される。また、出来上がった料理は 2 時間以内に喫食することが望ましいとされている。

そこで、切裁が主となる下調理では、調理損耗が大きいことを想定し、キャベツ、クレソン、ミズナ、ブロッコリー、ダイコンを試料として、室温 25℃以下、湿度 80%以下の条件で切裁を行い、切裁直後から 180 分間まで 5℃で保冷した時の GSL 含有量の変化について調べた。その結果、ブロッコリーであれば小房程度、キャベツでは 5×5 cm 程度、クレソンでは 4 cm 長さ、ダイコンでは剥皮の有無に関わらず厚さ 5 mm 以上の銀杏型に切裁した場合に、180 分間保冷を行っても、切裁による有意な減少が認められないことが明らかとなった。組織破壊の少ない食品であれば、大量調理における条件下であっても、GSL の大きな損耗はないものと考えられる。しかし、組織破壊が大きい場合には、GSL の残存率が小さくなり、せん切り（切裁後保冷 120 分のキャベツ）では約 30%、みじん切り（切裁直後のブロッコリー）では約 50%、すりおろし（切裁直後のダイコン）では約 90%が損耗することが観察された。従って、組

組織破壊が大きくさらに数時間保存した食材では、GSL 含有量の大幅な減少は避けられないことが明らかになった。また、ミズナは茎と葉のどちらも折れやすく、折れると細胞中に含まれる GSL はミロシナーゼと容易に反応すると思われることから、切裁前の扱いにも注意が必要であることが判明した。GSL の摂取量をできるだけ多くするためには、切裁後保存する野菜については、ある程度の大きさを保ち切裁することが望ましく、また細かく切裁するものでは、供食直前に処理する必要があることが本研究で明らかになった。

第 3 章では、基礎的調理法である加熱による GSL の調理損耗について検討を行った。はじめに、加熱温度が GSL に与える影響を調べるため、クレソンおよび小房に切裁したブロッコリーを 30℃から 90℃または 99℃まで一定温度で 30 分間加熱し、GSL 含有量に与える影響を観察した。次に、茹で加熱時間が GSL 残存率に与える影響を調べるため、ブロッコリーの加熱時間を変えて検討した。また、茹で水量の影響について調べるために、ブロッコリーの茹で水量を変えて検討した。さらに、大量調理用機器を用いて、蒸し加熱、過熱水蒸気による加熱および真空調理を行い、ブロッコリー中の GSL 含有量の消長について検討した。他の研究者らの報告では、アブラナ科野菜を実際に食するには過度の加熱での検討であったり、論文ごとに試料の加熱条件が異なるために、GSL 残存率に統一した見解は示されていない。これらの矛盾点を解消するために、本研究においては加熱の最終ポイントを、中心温度 95℃に揃えて実験を行った。

その結果、GSL 含有量は、50～60℃の加熱で最も損失が大きくなることが判明した。このため、クレソンでは 50℃、ブロッコリーでは 60℃の加熱温度の通過時間を短縮することにより、GSL 含有量の調理損耗を

抑制できることが明らかとなった。また、ブロッコリーの中心温度を 95℃まで加熱した時の脂肪族系 GSL の残存率は約 80%であったのに対し、インドール系 GSL の残存率はその種類により約 25～75%と幅があった。また、脂肪族系およびインドール系のどちらとも加熱時間が長いほど減少した。しかし、茹で水中には GSL 含有量は一定量しか残存せず、脂肪族系 GSL では約 7%、インドール系 GSL では約 17～20%に過ぎなかった。茹で水量の違いによる試料中の GSL 含有量は、家庭における調理の分量では、あまり大きな差異は観察されなかった。大量調理で頻繁に用いられる蒸し加熱、過熱水蒸気による加熱および真空調理によって中心温度 95℃まで加熱した場合にも、試料中の GSL 残存率の低下は観察されなかった。

以上の結果より、わが国において一般に流通しているアブラナ科野菜に含まれる GSL の種類および含有量は、「切る」および「加熱する」という 2 つの基本的な調理操作によって変化することが明らかとなった。当初、「切裁」および「加熱」の調理操作は、両者とも GSL の調理損耗が大きくなることを想定していたが、切裁後保存する場合はある程度の大きさに切裁し、細かく切裁するものでは供食直前に切裁すること、加熱は 50～60℃の通過時間を短縮させ、加熱時間を短くするなどの調理方法を工夫することによって GSL の損耗を抑制できることが明らかになった。

厚生労働省では毎年、9 月 1 日～9 月 30 日までを「食生活改善普及運動月間」と定めており、平成 27 年度の食生活改善普及運動月間は、「野菜の摂取量増加」に関する効果的な運動が全国的に展開できるよう、様々な場面で利用可能な『毎日プラス一皿の野菜』啓発ツールが作成された。「食生活改善普及運動月間」は、平成 25 年度から開始している「健

健康日本 21（第二次）」において、健康寿命の延伸とともに、健康格差の縮小を掲げ、あらゆる世代の健やかな暮らしを支える良好な社会環境を構築することにより、地域などによる集団間の健康状態の差の縮小を実現することを目指している。「健康日本 21（第二次）」では、高血圧の改善に係る目標設定の一環として栄養（減塩、野菜・果物の摂取増加、肥満者の減少）に係る目標が設定されている。このうち、野菜については摂取量の増加を目標としており、1 日当たりあと 70g の増加により 350g の摂取を目指すこととしている。平成 27 年度の食生活改善普及運動は「毎日プラス 1 皿の野菜」を目標とした取り組みが重点的に実施されてきた¹⁰⁰⁾。

厚生労働省から公表されている「日本人における野菜の摂取量ランキング」によると、上位 20 位までにダイコン、キャベツ、ハクサイ、ブロッコリー、コマツナ、カブ、チンゲンサイと 7 種類のアブラナ科野菜が含まれている。また、「日本人における野菜の摂取者数ランキング」においても、ダイコン、キャベツ、ハクサイ、ブロッコリー、コマツナが上位に入り、野菜消費量に占めるアブラナ科野菜の割合は非常に高い。いずれのアブラナ科野菜にも、第 2 相解毒酵素誘導作用が報告されている ω -メチルスルフィニル型 ITC の前駆体である ω -メチルスルフィニル型 GSL¹⁴⁻¹⁸⁾、第 1 相解毒酵素阻害および第 2 相解毒酵素誘導作用に寄与するフェネチル ITC の前駆体であるフェネチル GSL¹⁸⁻²⁵⁾ならびにがん細胞の増殖抑制や細胞死を誘導する I3C の前駆体である 3IM-GSL²⁶⁻³¹⁾ および 1M3IM-GSL が含まれていることを本研究では確認している。

1 サービング（約 70g）の野菜をプラスして摂取する際に、「あまり小さく切裁しない」「加熱時間は短く」「野菜の中心の温度上昇を早める加熱方法を選択する」「茹でるよりも蒸し加熱や過熱水蒸気による加熱、

真空調理による加熱を選択する」「茹でる場合は、茹で水も摂取できる料理を選択する」などが、GSL 摂取量を増やす効果的な方法であると考ええる。

本研究では、アブラナ科野菜の「切裁」および「加熱」の調理過程において、未処理時よりも GSL 含有量が増加する現象が観察された。この現象がどのような条件で起こるのか、本研究では解明することができなかったもので、これについては今後の検討課題にしたいと考えている。

アブラナ科野菜の GSL 含有量は、遺伝(系統)⁴³⁾、野菜が育つ環境⁴⁰⁻⁴²⁾、収穫後の加工⁷⁹⁾、調理上の多種多様な条件などによって変動するので、わが国で消費されている収穫時期や栽培場所が異なるアブラナ科野菜の GSL 含有量を一括して論じることはいできない。しかし、今回使用したアブラナ科野菜は、野菜の中でも比較的多く摂取されているものであり、また市場に広く出回っているものである。したがって、アブラナ科野菜に含まれる GSL の種類や含有量、ならびに「切裁」や「加熱」などの調理・加工による GSL の消長などの概要については本研究によって明らかにできたものと考ええる。しかし、野菜の調理・加工には、本研究で示した「切裁」や「加熱」の他にも、油を用いた炒め調理や揚げ調理などもある。さらには、調味料の影響も考えられ、これらについては今後さらに検討すべき課題である。今後は、日常の食生活における適切な摂取量の決定、ならびにそれを確保するための様々な調理・加工方法などの調理科学的な検討を行い、その情報を公表し、国民の健康の保持・増進に資するよう邁進したい。

謝辞

本研究を遂行し学位論文をまとめるにあたり、多大なるご支援とご指導を賜りました、指導教官である女子栄養大学教授 青柳康夫先生に深甚の謝意を表します。

本論文の執筆についてご指導を賜りました女子栄養大学短期大学部教授 春日敦子先生に深謝申し上げます。

大量調理についてご指導を賜りました女子栄養大学名誉教授 殿塚婦美子先生に深謝申し上げます。

統計解析についてご指導、ご助言を賜りました女子栄養大学教授 川村堅先生に心より感謝申し上げます。

LC-MS 操作方法のご指導を賜りました東京聖栄大学 大内和美先生に心より感謝申し上げます。

本研究をまとめるにあたり、終始温かく見守っていただくとともに、多くのご支援を賜りました坂戸・食品化学研究室の実験実習助手 下川紗智子様と研究室の皆様にご心より感謝申し上げます。また、今回の学位申請にあたり、多くのご支援を賜りました給食管理研究室教授 三好恵子先生をはじめ、研究室の皆様にご心より感謝申し上げます。

また、ここに記すことができないほど多くの先生方や皆様に支えていただきました。すべての先生方や皆様をここに記して御礼申し上げることができないことを本当に申し訳なく存じます。この場をお借りして深謝申し上げます。

参考文献

- 1) 消費者庁，食品表示基準の概要，食品表示，
http://www.caa.go.jp/foods/pdf/150331_kijyun-gaiyo.pdf
- 2) 厚生労働省，国民の健康の増進の総合的な推進を図るための基本的な方針の全部改正について，健康日本 21（第二次），
http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/dl/kenkounippon21_01.pdf
- 3) 厚生労働省健康局がん対策・健康増進課栄養指導室栄養調査係，
平成 25 年「国民健康・栄養調査」の結果，厚生労働省，
<http://www.mhlw.go.jp/stf/houdou/0000067890.html>
- 4) 野菜生産出荷安定法施行規則（最終改正：平成 26 年 3 月 31 日 農
林水産省令第 22 号），
<http://law.e-gov.go.jp/htmldata/S41/S41F00601000036.html>
- 5) 農林水産大臣官房統計部（平成 23 年 12 月 28 日公表），平成 22
年度野菜生産出荷統計，農林水産省，
<http://www.e-stat.go.jp/SG1/estat/List.do?lid=000001085177>
- 6) 木苗直秀（2008），アブラナ科野菜（イソチオシアネート）の生
理活性 - 概説：食品機能性の科学（食品機能性の科学編集会，西川研
次郎監修），p 233. ㈱産業技術サービスセンター，東京.
- 7) Fahey, J. W., Zalcmann, A. T. and Talalay, P. (2001), The chemical
diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among
plants, *Phytochemistry*, **56**, 5-51.
- 8) Luthy, B. and Matile, P. (1984), The mustard oil bomb: rectified
analysis of the subcellular organization of the myrosinase system, *Biochem.
Physiol. Pflanzen*, **179**, 5-12.

- 9) 三村徹郎, 西村いくこ, 深城英弘, 七條千津子(2011), 環境感覚を支える植物液胞動態とその適応機構, ニュースレター第1号, 7-8.
http://esplant.net/newsletter/contents/2011_3/News%20Letter1_3.pdf
- 10) 宇田清, 橋本啓 (2008), イソチオシアネートなどの組成と性質: 食品機能性の科学 (食品機能性の科学編集会, 西川研次郎監修), p 237-238. (株)産業技術サービスセンター, 東京.
- 11) Krul, C., Humblot, C., Philippe, C., Vermeulen, M., Nuenen, M. V., Havenaar, R. and Rabot, S. (2002), Metabolism of sinigrin (2-propenyl glucosinolate) by the human colonic microflora in a dynamic in vitro large-intestinal model, *Carcinogenesis*, **23**, 1009-1016.
- 12) Rouzaud, G., Rabot, S., Ratcliffe, B. and Duncan, A. J. (2003), Influence of plant and bacterial myrosinase activity on the metabolic fate of glucosinolates in gnotobiotic rats, *Br. J. Nutr.*, **90**, 395-404.
- 13) 巖佐庸, 倉谷滋, 斎藤成也, 塚谷裕一編集: 岩波生物学事典 (2013), p 300. 岩波書店, 東京.
- 14) 森光康次郎, 内田浩二 (2003), イソチオシアネート類の第二相解毒酵素誘導による発癌抑制: 医学のあゆみ, **204**, p 80-84. 医歯薬出版(株), 東京.
- 15) Kurilich A. C., Jeffery E. H., Juvik J. A., Walig M. A. and Klein B. P. (2003), Broccoli extracts protect against reactive oxygen species in HepG2 cells, *J. Nutraceut Functional Med. Food*, **4**, 5-16.
- 16) 中村宜督 (2008), アブラナ科野菜からのがん予防剤の開発: 「食品機能性の科学」 (食品機能性の科学編集会, 西川研次郎監修), pp.245-247. (株)産業技術サービスセンター, 東京.
- 17) Zhang, Y., Talalay, P., Cho, C. G. and Posner, G. H. (1992), A major

- inducer of anticarcinogenic protective enzymes from broccoli : Isolation and elucidation of structure, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **89**, 2399-2403.
- 18) Rose, P., Faulkner, K., Williamson, G. and Mithen, R. (2000), 7-Methylsulfinylheptyl and 8-methylsulfinyloctyl isothiocyanates from watercress are potent inducers of phase II enzymes, *Carcinogenesis*, **21**, 1983-1988.
 - 19) Chung, F. L., Conaway, C. C., Rao, C. V. and Reddy, B. S. (2000), Chemoprevention of colonic aberrant crypt foci in Fischer rats by sulforaphane and phenethyl isothiocyanate, *Carcinogenesis*, **21**, 2287-2291.
 - 20) Morse, M. A., Zu, H., Galati, A. J., Schmidt, C. J. and Stoner, G. D. (1993), Dose-related inhibition by dietary phenethyl isothiocyanate of esophageal tumorigenesis and DNA methylation induced by N-nitrosomethylbenzylamine in rats, *Cancer Lett.*, **72**, 103-110.
 - 21) Stoner, G. D., Morrissey, D. T., Heur, Y. H., Daniel, E. M., Galati, A. J. and Wagner, S. A. (1991), Inhibitory effects of phenethyl isothiocyanate on N-nitrosobenzylmethylamine carcinogenesis in the rat esophagus, *Cancer Res.*, **51**, 2063-2068.
 - 22) Hecht, S. S., Isaacs, S. and Trushin, N. (1994), Lung tumor induction in A/J mice by the tobacco smoke carcinogens 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone and benzo[a]pyrene: a potentially useful model for evaluation of chemopreventive agents, *Carcinogenesis*, **15**, 2721-2725.
 - 23) Morse, M. A., Wang, C. X., Stoner, G. D., Mandal, S., Conran, P. B., Amin, S. G., Hecht, S. S. and Chung, F. L. (1989), Inhibition

- of 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone-induced DNA adduct formation and tumorigenicity in the lung of F344 rats by dietary phenethyl isothiocyanate, *Cancer Res.*, **49**, 549-553.
- 24) Jiao, D., Eklind, K. I., Choi, C. I., Desai, D. H., Amin, S. G. and Chung, F. L. (1994), Structure-activity relationships of isothiocyanates as mechanism-based inhibitors of 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone-induced lung tumorigenesis in A/J mice, *Cancer Res.*, **54**, 4327-4333.
- 25) Hecht, S. S. (2002), Cigarette smoking and lung cancer: chemical mechanisms and approaches to prevention, *The Lancet Oncology*, **3**, 461-469.
- 26) Sarkar, F. H. and Li, Y. (2004), Indole-3-carbinol and prostate cancer, *J. Nutr.*, **134**, 3493S-3498S.
- 27) 大森圭, 竹下久美子, 奥村太輔, 直江道夫, 富士幸蔵, 小川良雄, 石崎良太郎, 吉田英機 (2007), Indole-3-carbinol (I3C) がヒト前立腺癌細胞株 (LNCaP) に与える影響, 西日本泌尿器科, **69**, 135-141.
- 28) Telang, N. T., Katdare, M., Bradlow, H. L., Osborne, M. P. and Fishman, J. (1997), Inhibition of proliferation and modulation of estradiol metabolism: novel mechanisms for breast cancer prevention by the phytochemical indole-3-carbinol, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **216**, 246-252.
- 29) 中村吉隆, 与五沢真吾, 渡部公綱, 安田周祐, 泉谷泰行, 酒井敏行 (2009), インドール-3-カルビノールとゲニステイン併用による細胞死増強効果とそのメカニズム: 日本衛生学会学術総会第 79 回大会講演要旨集, p 391.
- 30) 大東肇 (2008), 食によるがん予防を目指して, 日本補完代替医

療学会誌, **5**, 19-26.

- 31) Bell, M. C., Crowley-Nowick, P., Bradlow, H. L., Sepkovic, D. W., Schmidt-Grimminger, D., Howell, P., Mayeaux, E. J., Tucker, A., Turbat-Herrera, E. A. and Mathis, J. M. (2000), Placebo-controlled trial of indole-3-carbinol in the treatment of CIN, *Gynecol. Oncol.*, **78**, 123-129.
- 32) Akagi, K., Sano, M., Ogawa, K., Hirose, M., Goshima, H. and Shirai, T. (2003), Involvement of toxicity as an early event in urinary bladder carcinogenesis induced by phenethyl isothiocyanate, benzyl isothiocyanate, and analogues in F344 rats, *Toxicol. Pathol.*, **31**, 388-396.
- 33) Lee, B. M. and Park, K. K. (2003), Beneficial and adverse effects of chemopreventive agents, *Mutat. Res.*, **523-529**, 265-278.
- 34) 林国興, 秋葉征夫, 松本達郎 (1972), 白ネズミに対するゴイトリンの影響, 栄養と食糧, **25**, 72-78.
- 35) Cohen, J. H., Kristal, A. R. and Stanford, J. L. (2000), Fruit and vegetable intakes and prostate cancer risk, *J. Natl. Cancer Inst.*, **92**, 61-68.
- 36) Kolonel, L. N., Hankin, J. H., Whittemore, A. S., Wu, A. H., Gallagher, R. P., Wilkens, L. R., Dreon, D. M., West, D. W. and Paffenbarger, R. S. Jr. (2015), Vegetables, Fruits, Legumes and prostate cancer: a multiethnic case-control study, *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, **9**, 795-804.
- 37) Jain, M. G., Hislop, G. T., Howe, G. R. and Ghadirian, P. (1999), Plant food, antioxidants, and prostate cancer risk: findings from case-control studies in Canada, *Nutr. Cancer*, **34**, 173-184.
- 38) Voorrips, L. E., Goldbohm, R. A., Poppel, G. V., Sturmans, F., Hermus, R. J. J. and Brandt, P. A. V. D. (2000), Vegetable and fruit consumption and risks of colon and rectal cancer in a prospective cohort study, *Am. J.*

- Epidemiol.*, **152**, 1081-1092.
- 39) Feskanich, D., Ziegler, R. G., Michaud, D. S., Giovannucci, E. L., Speizer, F. E., Willett, W. C. and Colditz, G. A. (2000), Prospective study of fruit and vegetable consumption and risk of lung cancer among men and women, *J. Natl. Cancer Inst.*, **92**, 1812-1823.
- 40) 石井現相, 西條了康 (1988) , ダイコンの全グルコシノレート含有量に及ぼす硫酸イオン濃度と窒素濃度の影響, 日本土壌肥料学雑誌, **59**, 99-102.
- 41) Vallejo, F., Tomas-Barberan, F. A., Benavente-Garcia, A. G. and Garcia-Viguera, C. (2003), Total and individual glucosinolate contents in inflorescences of eight broccoli cultivars grown under various climatic and fertilisation conditions. *J. Sci. Food Agric.*, **83**, 307-313.
- 42) Radovich, T. J. K., Kleinhenz, M. D. and Streeter, J. G. (2005), Irrigation timing relative to head development influences yield components, sugar levels, and glucosinolate concentrations in cabbage, *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **130**, 943-949.
- 43) Charron, C. S., Saxton, A. M. and Sams, C. E. (2005), Relationship of climate and genotype to seasonal variation in the glucosinolate-myrosinase system. 1. Glucosinolate content in ten cultivars of *Brassica oleracea* grown in fall and spring seasons, *J. Sci. Food Agric.*, **85**, 671-681.
- 44) Nilsson, J., Olsson, K., Engqvist, G., Ekvall, J., Olsson, M., Nyman M. and Akesson, B. (2006), Variation in the content of glucosinolates, hydroxycinnamic acids, carotenoids, total antioxidant capacity and low-molecular-weight carbohydrates in *Brassica* vegetables, *J. Sci. Food Agric.*, **86**, 528-538.

- 45) 独立行政法人理化学研究所, 財団法人かずさ DNA 研究所, 60 秒でわかるプレリリース, がん予防成分をアブラナ科野菜に作らせる新規遺伝子を発見—健康機能性の高い野菜の開発に新たな道— (2007.4.10) ,
http://www.riken.jp/~media/riken/pr/press/2007/20070410_1/20070410_1.pdf
- 46) Dekker, M., Verkerk, R. and Jongen, W. M. F. (2000), Predictive modelling of health aspects in the food production chain: a case study on glucosinolates in cabbage, *Food Sci. Technol.*, **11**, 174-181.
- 47) 木村美恵子, 糸川嘉則 (1990), 食事中ミネラルの調理損耗の実態と基礎実験, 日本栄養・食糧学会誌, **43**, 31-42.
- 48) 殿塚婦美子, 長田早苗, 谷武子, 根岸由紀子, 奥崎政美, 香川芳子 (2005), アクアガス加熱食材の基礎的調理加工特性に関する研究 (第 1 報) —ブロッコリーについて—, 日本食生活学会誌, 16, 42-48.
- 49) 長田早苗, 殿塚婦美子, 谷武子, 根岸由紀子, 奥崎政美, 香川芳子 (2007), アクアガス加熱食材の基礎的調理加工特性に関する研究 (第 3 報) —だいこんについて—, 日本食生活学会誌, 18, 223-230.
- 50) 殿塚婦美子, 長田早苗, 谷武子, 根岸由紀子, 奥崎政美, 香川芳子 (2008), アクアガス加熱食材の基礎的調理加工特性に関する研究 (第 4 報) —さといもについて—, 日本食生活学会誌, 19, 214 - 223.
- 51) 長田早苗, 殿塚婦美子, 谷武子, 根岸由紀子, 奥崎政美, 香川芳子 (2008), アクアガス加熱食材の基礎的調理加工特性に関する研究 (第 5 報) —にんじんについて—, 日本食生活学会誌, 19, 239-246.
- 52) 殿塚婦美子, 長田早苗, 谷武子, 根岸由紀子, 奥崎政美, 香川芳子 (2007), アクアガス加熱食材の基礎的調理加工特性に関する研

- 究（第2報）— 枝豆の加熱法・加熱時間による物性および色調について—, 日本食生活学会誌, 18, 254-264.
- 53) 平成22年外食産業市場規模推計について, (財)食の安全・安心財団 附属機関外食産業総合調査研究センター, 平成23年5月,
<http://anan-zaidan.or.jp/data/c2011-1-1.pdf>
- 54) 厚生労働省, 日本医師会, (独)国立健康・栄養研究所, 健康食品による健康被害の未然防止と拡大防止に向けて.
<http://www.caa.go.jp/foods/pdf/syokuhin366.pdf>
- 55) 石田正彦(2008), グルコシノレートとイソチオシアネート: 食品機能性の科学(食品機能性の科学編集会, 西川研次郎監修), p 1099-1103. (株)産業技術サービスセンター, 東京.
- 56) INTERNATIONAL STANDARD ISO 9167-1 (1992-07-01),
Rapeseed-Determination of glucosinolates content Part 1 : Method using high-performance liquid chromatography. First edition.
- 57) Cartea, M. E., Velasco, P., Obregon, S. and Padilla, G., Antonio de Haro (2008), Seasonal variation in glucosinolate content in Brassica oleracea crops grown in northwestern Spain. *Phytochemistry*, **69**, 403-410.
- 58) Matthaus, B. and Luftmann, H. (2000), Glucosinolates in members of the family brassicaceae. Separation and identification by LC/ESI-MS-MS, *J Agric. Food Chem.*, **48**, 2234-2239.
- 59) Tian, Q., Rosselot, R. A. and Schwartz, S. J. (2005), Quantitative determination of intact glucosinolates in broccoli, broccoli sprout, Brussels sprouts, and cauliflower by high-performance liquid chromatography—electrospray ionization—tandem mass spectrometry, *Anal. Biochem.*, **343**, 93-99.

- 60) Schonhof, I., Krumbein, A. and Bruckner, B. (2004), Genotypic effects on glucosinolates and sensory properties of broccoli and cauliflower, *Nahrung/Food*, **48**, 25-33.
- 61) Barbieri, G., Pernice, R., Maggio, A., Pascale, S. D. and Fogliano, V. (2008), Glucosinolates profile of *Brassica rapa* L. subsp. *Sylvestris* L. Janch. var. *esculenta* Hort, *Food Chem.*, **107**, 1687-1691.
- 62) Kim, S. J. and Ishii, G. (2006), Glucosinolate profiles in the seeds, leaves and roots of rocket salad (*Eruca sativa* Mill.) and anti-oxidative activities of intact plant powder and purified 4-methoxyglucobrassicin, *Soil Sci. Plant Nutr.*, **52**, 394-400.
- 63) Kim, S. J., Jin, S. and Ishii, G. (2004), Isolation and structural elucidation of 4-(β -D-glucopyranosyldisulfanyl) butyl glucosinolate from leaves of rocket salad (*Eruca sativa* L.) and its antioxidative activity, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **68**, 2444-2450.
- 64) Velasco, P., Cartea M. E., Gonzalez, C., Vilar, M. and Ordas, A. (2007), Factors affecting the glucosinolate content of kale (*Brassica oleracea acephala* group), *J. Agric. Food Chem.*, **55**, 955-962.
- 65) Chen, X., Zhu, Z., Gerendas, J. and Zimmermann, N. (2008), Glucosinolates in Chinese *Brassica campestris* vegetables: Chinese cabbage, purple cai-tai, choysum, pakchoi, and turnip, *Hort Sci.*, **43**, 571-574.
- 66) Hecht, S. S., Carmella, S. G., Kenney, P. M. J., Low, S. H, Arakawa, K. and Yu, M. C. (2004), Effects of Cruciferous vegetable consumption on urinary metabolites of the tobacco-specific lung carcinogen 4-(methylnitrosoamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone in Singapore Chinese,

Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev., **13**, 997-1004.

- 67) Kim, Y. K., Ishii, G. and Kim, G. H. (2004), Isolation and identification of glucosinolates in edible parts of Chinese cabbages (*Brassica campestris* L. ssp. *Peckinensis*), *Food Sci. Technol. Res.*, **10**, 469-473.
- 68) Bellostas, N., Kachlicki, P., Sorensen, J. C., Sorensen, H. (2007), Glucosinolate profiling of seeds and sprouts of *B. oleracea* varieties used for food. *Scientia Horticulturae*, **2749**, 1-9.
- 69) 高畑良雄, 渡辺正巳, 渡邊幸雄 (2006), アブラナ科野菜のグルコシノレート組成及び含有率, 食と緑の科学, **60**, 63-66.
- 70) 江崎秀男, 小野崎博通 (1982), 大根おろし辛味成分の消長について, 家政学雑誌, **33**, 513-520
- 71) 日本食品科学工学会, 新・食品分析法編集委員会編: 新・食品分析法 (1996), p 6-9. 光琳, 東京.
- 72) 廣兼久子, 浦上敦子, 徳田進一, 佐藤文生, 森光康次郎, 加藤藍, 東尾久雄 (2006), キャベツにおけるグルコシノレート組成・含有量及び解毒酵素誘導活性の品質間差異: 平成 18 年度園芸学会春季大会講演要旨集, p 425.
- 73) 福家洋子 (2008) アブラナ科野菜によるがん抑制活性: 食品機能性の科学 (食品機能性の科学編集会, 西川研次郎監修), p 235. (株)産業技術サービスセンター, 東京.
- 74) Song, L. and Thornalley, P. J. (2007), Effect of storage, processing and cooking on glucosinolate content of *Brassica* vegetables, *Food Chem. Toxicol.*, **45**, 216-224.
- 75) Verkerk, R., Dekker, M. and Jongen, W. M. F. (2001), Post-harvest

- increase of indolyl glucosinolates in response to chopping and storage of *Brassica* vegetables, *J. Sci. Food Agric.*, **81**, 953-958.
- 76) Ciska, E., Kozłowska, H. (2001), The effect of cooking on the glucosinolates content in white cabbage, *Eur. Food Res. Technol.*, **212**, 582-587.
- 77) Rosa, E. A. S. and Heaney, R. K. (1993), The effect of cooking and processing on the glucosinolate content: Studies on four varieties of Portuguese cabbage and hybrid white cabbage, *J. Sci. Food Agric.*, **62**, 259-265.
- 78) Verkerk, R., Gaag, M. S. V. D., Dekker, M. and Jongen, W. M. F. (1997), Effects of processing conditions on glucosinolates in cruciferous vegetables, *Cancer Lett.*, **114**, 193-194.
- 79) Jeffery, E. H., Brown, A. F., Kurilich, A. C., Keck, A. S., Matusheski, N., Klein, B. P. and Juvik, J. A. (2003), Variation in content of bioactive components in broccoli, *J. Food Composition and Anal.*, **16**, 323-330.
- 80) 佐保井美紀, 井上麻衣子, 宇都真由美, 坂口有美, 竹田千重乃 (2001), 給食管理実習と病院給食における大量調理の作業時間について, 鹿児島純心女子短期大学研究紀要, **31**, 121-136
- 81) 厚生労働省(平成 25 年 10 月 22 日), 大量調理施設衛生管理マニュアル、食安発第 1022 第 10 号,
http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/iyaku/syoku-anzen/gyousei/dl/131106_02.pdf
- 82) 原正和, 久保井徹, 衛藤英男 (2003), アブラナ科作物における二次代謝の制御: *FFI Journal*, **208**, p 594-600. 三栄源エフ・エフ・アイ(株), 大阪.

- 83) Nakamura, Y., Nakamura, K., Asai, Y., Wada, T., Tanaka, K., Matsuo, T., Okamoto, S., Meijer, J., Kitamura, Y., Nishikawa, A., Park, E. Y., Sato, K., and Ohtsuki, K. (2008), Comparison of the glucosinolate-mirosinase systems among Daikon (*Raphanus sativus*, Japanese white radish) varieties, *J. Agric. Food Chem.*, **56**, 2702-2707.
- 84) Verkerk, R., Dekker, M. and Jongen, W. M. F. (2001), Post-harvest increase of indolyl glucosinolates in response to chopping and storage of *Brassica* vegetables, *J. Sci. Food Agric.*, **81**, 953-958.
- 85) Birch, A. N. E., Griffiths, D. W., Hopkins, R. J., Smith, W. H. M. and McKinlay, R. G. (1992), Glucosinolate responses of swede, kale, forage and oilseed rape to root damage by turnip root fly (*Delia floralis*) larvae, *J. Sci. Food Agric.*, **60**, 1-9.
- 86) Koritsas, V. M., Lewis, J. A. and Fenwick, G. R. (1991), Glucosinolate responses of oilseed rape, mustard and kale to mechanical wounding and infestation by cabbage stem flea beetle (*Psylliodes chrysocephala*), *Ann. Appl. Biol.*, **118**, 209-221.
- 87) Oerlemans, K., Barrett, D. M., Suades, C. B., Verkerk, R. and Dekker, M. (2006), Thermal degradation of glucosinolates in red cabbage, *Food Chem.*, **95**, 19-29.
- 88) Gliszczyńska-Swigło, A., Ciska, E., Pawlak-Lemanska, K. and Chmielewski, J., Borkowski, T., and Tyrakowska, B. (2006), Changes in the content of health-promoting compounds and antioxidant activity of broccoli after domestic processing, *Food Addit. Contam.*, **23**, 1088-1098.
- 89) Cieslik, E., Leszczyńska, T., Filipiak-Florkiewicz, A., Sikora, E. and Pisulewski, P. M. (2007), Effects of some technological processes on

- glucosinolate contents in cruciferous vegetables, *Food Chem.*, **105**, 976-981.
- 90) 木苗直秀, 小嶋操, 古郡三千代 (2006), 6. ワサビの辛味成分イソチオシアネート: ワサビのすべて, p 71-73. 学会出版センター, 東京.
- 91) Daniell, J. W., Chappell, W. E., and Couch, H. B. (1969), Effect of Sublethal and lethal temperatures on plant cells, *Plant Physiol.*, **44**, 1684-1689.
- 92) 木苗直秀, 小嶋操, 古郡三千代 (2006), 6. ワサビの辛味成分イソチオシアネート: ワサビのすべて, p 60-64. 学会出版センター, 東京.
- 93) 山崎貴子, 伊藤直子, 岩森大, 堀田康雄, 村山篤子 (2008), 低温スチーミング調理による植物性食品の成分と食味の変化, 日本食生活学会誌, **19**, 193-201.
- 94) Ciska, E. and Kozłowska, H. (2001), The effect of cooking on the glucosinolates content in white cabbage, *Eur. Food Res. Technol.*, **212**, 582-587.
- 95) Wennberg, M., Ekvall, J., Olsson, K. and Nyman, M. (2006), Changes in carbohydrate and glucosinolate composition in white cabbage (*Brassica oleracea var. capitata*) during blanching and treatment with acetic acid, *Food Chem.*, **95**, 226-236.
- 96) Hanschen, F. S., Platz, S., Mewis, I., Schreiner, M., Rohn, S. and Kroh, L. W. (2012), Thermally induced degradation of sulfur-containing aliphatic glucosinolates in broccoli sprouts (*Brassica oleracea var. italica*) and model systems, *J. Agric. Food Chem.*, **60**, 2231-2241.
- 97) 殿塚婦美子 (1995), 調理過程の入力条件と品質との関係及び品

- 質制御, 日本調理科学会誌, **28**, 129-135.
- 98) 五十部誠一郎 (2006), アクアガスの加熱機構と農産加工への応用, 日本食生活学会誌, **17**, 193-197.
- 99) Verkerk, R. and Dekker, M. (2004), Glucosinolates and myrosinase activity in red cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* f. *rubra* DC.) after various microwave treatments, *J. Agric. Food Chem.*, **52**, 7318-7323.
- 100) 厚生労働省 健康局がん対策・健康増進課栄養指導室 (2015), 日本人がたくさん食べている野菜は?—食生活改善普及運動を機に「毎日プラス1皿の野菜」!—,
<http://www.mhlw.go.jp/stf/houdou/0000096138.html>

Tables

- Table 1.** District of production and picking season for the 15 Brassicaceae vegetable samples investigated.
- Table 2.** Response factor of desulfo-glucosinolate.
- Table 3.** Glucosinolates identified in 15 samples of 13 kinds of Brassicaceae vegetables.
- Table 4.** Glucosinolate profiles in the *Brassica* vegetables harvested in Japan.
- Table 5.** Glucosinolate concentration in broccoli (differences in concentrations within plant parts).
- Table 6.** Glucosinolate profiles in the *Raphanus*, *Eruca*, and *Nasturtium* vegetables harvested in Japan.
- Table 7.** Glucosinolate concentration in peeled and unpeeled Japanese radish (differences in concentrations within plant parts).
- Table 8.** Sample dimension and cold storage time after cutting.
- Table 9.** Glucosinolates identified in unprocessed Brassicaceae vegetables.
- Table 10.** Glucosinolate concentration in cabbage (5×5 cm) stored at 5°C for up to 180 min.
- Table 11.** Glucosinolate concentration in cabbage (4×1 cm) stored at 5°C for up to 180 min.
- Table 12.** Glucosinolate concentration in cabbage (4 cm×1 mm) stored at 5°C for up to 180 min.
- Table 13.** Glucosinolate concentration in watercress (4 cm long) stored at 5°C for up to 180 min.

- Table 14.** Glucosinolate concentration in watercress (1 cm long) stored at 5°C for up to 180 min.
- Table 15.** Glucosinolate concentration in potherb mustard (mizuna) (4 cm long) stored at 5°C for up to 180 min.
- Table 16.** Glucosinolate concentration in potherb mustard (mizuna) (1 cm long) stored at 5°C for up to 180 min.
- Table 17.** Glucosinolate concentration in broccoli (florets) stored at 5°C for up to 180 min.
- Table 18.** Glucosinolate concentration in broccoli (finely-chopped) stored at 5°C for up to 180 min.
- Table 19.** Glucosinolate concentration in Japanese radish [quarter (2 cm slices)] stored at 5°C for up to 180 min.
- Table 20.** Glucosinolate concentration in Japanese radish (5 cm × 1 mm) stored at 5°C for up to 180 min.
- Table 21.** Glucosinolate concentration in Japanese radish (grated) stored at 5°C for up to 180 min.
- Table 22.** Sample dimension and cold storage time after cutting.
- Table 23.** Glucosinolate concentration in unpeeled Japanese radish cut into pieces with different thickness stored at 5°C for up to 180 min.
- Table 24.** Glucosinolate concentration in peeled Japanese radish cut into pieces with different thickness stored at 5°C for up to 180 min.
- Table 25.** Glucosinolate concentration in watercress heated for 30 minutes at different heating temperatures.
- Table 26.** Glucosinolate concentration in broccoli (florets) heated for 30 minutes at different heating temperatures.

Table 27. Glucosinolate concentration in cooked broccoli and cooked water, boiled for four different durations.

Table 28. Glucosinolate concentration in broccoli boiled in two different volumes of hot water.

Table 29. Glucosinolate concentration in broccoli cooked by three types of heating methods.

Table 1. District of production and picking season for the 15 Brassicaceae vegetable samples investigated .

Vegetables	Japanese name	District of production (picking season)
Cabbage	Kyabetsu	Saitama (Nov. 2008), Chiba (Nov. 2010), Aichi (Feb. 2011)
Chinese cabbage	Hakusai	Ibaraki (Nov. 2008, Nov. 2010, Feb. 2011)
Turnip rapa and leaf	Kabu-ne, Kabu-ha	Chiba (Nov. 2008, Nov. 2010)
Komatsuna	Komatsuna	Tokyo (Oct. 2008), Saitama (Oct. 2010, Feb. 2011)
Qing-geng-cai	Chin-gen-sai	Ibaraki (Oct. 2008, Oct. 2010), Gunma (Feb. 2011)
Potherb mustard	Mizuna	Ibaraki (Oct. 2008, Oct. 2010, Feb. 2011)
Broccoli	Burokkorî	Saitama (Nov. 2008, Nov. 2011), Aichi (Feb. 2009)
Cauliflower	Karifurawâ	Aichi (Nov. 2008), Ibaraki (Nov. 2010, Feb. 2011)
Field mustard	Nabana	Fukushima (Dec. 2008, Dec. 2010), Kagawa (Feb. 2011)
Ta-sai	Tâsai	Ibaraki (Nov. 2008, Feb. 2009, Feb. 2011)
Broccoli sprout	Burokkorî shinme	Chiba (Oct. 2008, Oct. 2010, Feb. 2011)
Japanese radish	Daikon	Aomori (Oct. 2008, Nov. 2010), Sizuoka (Feb. 2011)
Rocket salad	Rukkora	Ibaraki (Nov. 2008, Feb. 2009, Feb. 2011)
Watercress	Kureson	Ibaraki (Oct. 2008), Tochigi (Oct. 2010, Feb. 2011)

Table 2. Response factor of desulfo-glucosinolate.

No.	Desulfo-glucosinolate names	Response factors
1	Desulfo-glucoiberin	1.07
2	Desulfo-progoitrin	1.09
3	Desulfo-epi-progoitrin	1.09
4	Desulfo-sinigrin	1.00
5	Desulfo-glucoraphanin	1.07
6	Desulfo-gluconapoleiferin	1.00
7	Desulfo-glucoalyssin	1.07
8	Desulfo-gluconapin	1.11
9	Desulfo-4-hydroxyglucobrassicin	0.28
10	Desulfo-glucobrassicinapin	1.15
11	Desulfo-glucotropaeolin	0.95
12	Desulfo-glucobrassicin	0.29
13	Desulfo-gluconasturtin	0.95
14	Desulfo-4-methoxyglucobrassicin	0.25
15	Desulfo-neoglucobrassicin	0.20
16	Other desulfo-glucosinolates	1.00

石田正彦: グルコシノレートとイソチオシアネート, 食品機能性の科学, 食品機能性の科学編集会, 西川研次郎 監修, (株)産業技術サービスセンター, 東京, p.1102 (2008).
より引用.

Table 3. Glucosinolates identified in 15 samples of 13 kinds of Brassicaceae vegetables.

Class	No.	Compounds		DS-GSL [M+H] ⁺	DS-GSL Retention time (min.)
		Glucosinolate side chain	Glucosinolate (Trivial name)		
Aliphatic	1	3-Methylsulfinylpropyl	Glucoiberin	344.0838	3.92-3.98
	2	(2R)-2-Hydroxy-3-butenyl	Progoitrin	310.0960	5.05-5.32
	3	2-Propenyl	Sinigrin	280.0855	6.88
	4	4-Methylsulfinylbutyl	Glucoraphanin	358.0994	7.28
	5	5-Methylsulfinylpentyl	Glucoalyssin	372.1151	17.92-18.05
	6	3-Butenyl	Gluconapin	294.1011	18.25-18.48
	7	6-Methylsulfinylhexyl	Glucohesperalin	386.1307	19.95
	8	3-Methylthiopropyl	Glucoibervirin	328.0889	20.38
	9	Butyl	Glucocapparisflexuosain	296.1168	20.48
		Isobutyl	Glucoconringianin		
		1-Methylpropyl	Glucocochlearin		
	10	4-Pentenyl	Glucobrassicinapin	308.1168	21.52-21.62
	11	7-Methylsulfinylheptyl	Glucoarabidopsithalianin	400.1464	21.55
	12	4-Methylthiobutyl	Glucoerucin	342.1045	21.95-21.98
	13	4-Methylthio-3-butenyl	Glucoraphasatin	340.0889	22.45
	14	8-Methylsulfinyloctyl	Glucohirsutin	414.1620	23.18
	15	Dimeric 4-mercaptobutyl	—	653.1542	23.75
	16	5-Methylthiopentyl	Glucoberteroin	356.1202	23.95-24.1
	17	6-Methylthiohexyl	Glucoarabidophthalianin	370.1358	27.5
	18	7-Methylthioheptyl	Glucoarabishirsutain	384.1515	28.28
Aromatic	19	4-(β-D-glucopyranosyl disulfanyl) butyl	Diglucothiobeinin	522.1137	19.82
	20	(2S)-2-Hydroxy-2-phenylethyl	Glucobarbarin	360.1117	20.32
	21	Phenethyl	Gluconasturtiin	344.1168	23.92-24.1
Indolyl	22	4-Hydroxy-3-indolylmethyl	4-Hydroxyglucobrassicin	385.1069	18.98-19.25
	23	3-Indolylmethyl	Glucobrassicin	369.1120	22.62-22.75
	24	4-Methoxy-3-indolylmethyl	4-Methoxyglucobrassicin	399.1226	23.92-24.1
	25	1-Methoxy-3-indolylmethyl	Neoglucobrassicin	399.1216	25.98-26.08

Table 4. Glucosinolate profiles in the *Brassica* vegetables harvested in Japan.

μmol•g DW⁻¹ (%)

No.*1)	Designated vegetables*2)		Vegetables which followed designated vegetables								Others	
			Root crops		cormophyte							
	Cabbage	Chinese Cabbage	Turnip rapa	Turnip leaf	Komatsuna	Qing-geng cai	Potherb mustard (Mizuna)	Broccoli	Cauliflower	Field mustard	Ta-sai	Broccoli sprouts
1	7.45±2.82 (33.5)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	2.73±3.80 (34.3)	ND	ND	ND
2	0.76±1.03 (3.4)	1.21±0.41 (5.8)	ND	ND	ND	ND	ND	2.22±0.73 (11.9)	ND	ND	ND	ND
3	3.86±1.99 (17.4)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.75±0.65 (22.0)	ND	ND	ND
4	5.05±5.82 (22.7)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	10.45±5.05 (55.9)	ND	ND	ND	111.15±15.46 (60.1)
5	ND	1.16±0.50 (5.5)	0.60±0.11 (1.9)	2.96±1.39 (10.2)	0.89±0.02 (4.7)	0.85±0.56 (12.3)	0.11±0.03 (1.1)	ND	ND	2.10±1.73 (4.5)	0.52±0.24 (5.6)	ND
6	ND	5.15±3.87 (24.6)	7.66±0.84 (24.4)	9.94±1.61 (34.3)	5.33±3.56 (28.3)	3.06±0.69 (44.3)	4.49±2.66 (44.1)	ND	ND	23.21±8.06 (49.7)	3.58±1.71 (38.4)	ND
8	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.73±0.62 (9.2)	ND	ND	ND
9	ND	ND	ND	ND	0.80±1.14 (4.3)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
10	ND	8.96±5.48 (42.8)	7.74±1.78 (24.7)	9.91±3.15 (34.2)	10.02±2.97 (53.3)	1.51±0.82 (21.9)	0.58±0.10 (5.7)	ND	ND	18.55±4.59 (39.7)	3.55±0.92 (38.1)	ND
12	ND	ND	0.95±0.38 (3.0)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	53.09±26.13 (28.7)
16	ND	ND	5.20±1.41 (16.6)	1.57±0.86 (5.4)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Aliphatics	17.12±2.94 (77.0)	16.48±8.74 (78.7)	22.15±4.06 (70.6)	23.85±2.88 (82.3)	17.03±7.65 (90.5)	5.42±1.31 (78.6)	5.17±2.71 (50.8)	12.67±4.67 (67.8)	5.21±3.90 (65.5)	43.85±12.36 (93.8)	7.65±2.85 (82.1)	164.24±10.84 (88.8)
21	ND	0.73±0.96	5.64±1.86	2.42±0.17	1.30±1.12	0.73±0.22	0.75±0.10	ND	ND	1.73±0.51	1.29±0.46	1.47±0.05
Aromatic	0.00	0.73±0.96 (3.5)	5.64±1.86 (18.0)	2.42±0.17 (8.3)	1.30±1.12 (6.9)	0.73±0.22 (10.6)	0.75±0.10 (7.4)	0.00	0.00	1.73±0.51 (3.7)	1.29±0.46 (13.8)	1.47±0.05 (0.8)
22	ND	ND	2.59±1.09 (8.3)	1.37± 0.91 (4.7)	ND	ND	ND	1.76±1.09 (9.4)	0.31±0.09 (3.9)	0.36±0.06 (0.8)	ND	7.43± 0.63 (4.0)
23	4.42±3.53 (19.9)	1.21±0.99 (5.8)	0.38±0.23 (1.2)	0.46±0.32 (1.6)	0.13±0.08 (0.7)	0.32±0.28 (4.6)	4.02±0.42 (39.5)	3.40±2.00 (18.2)	1.97±1.12 (24.8)	0.48±0.21 (1.0)	0.12±0.09 (1.3)	2.08±0.27 (1.1)
24	0.64±0.42 (2.9)	2.33±0.89 (11.1)	0.36±0.14 (1.1)	0.39±0.14 (1.3)	0.23±0.13 (1.2)	0.21±0.03 (3.0)	0.18±0.03 (4.2)	0.38±0.18 (2.0)	0.25±0.06 (3.1)	0.22±0.12 (0.5)	0.18±0.06 (1.9)	5.44±0.35 (2.9)
25	0.05±0.06 (0.2)	0.21±0.15 (1.0)	0.26±0.14 (0.8)	0.49±0.20 (1.7)	0.13±0.14 (0.7)	0.22±0.12 (3.2)	0.05±0.02 (0.5)	0.47±0.17 (2.5)	0.21±0.06 (2.6)	0.07±0.03 (0.1)	0.08±0.02 (0.9)	4.36±0.39 (2.4)
Indolyls	5.11±3.90 (23.0)	3.75±2.02 (17.9)	3.59±1.56 (11.4)	2.71±1.45 (9.3)	0.49±0.09 (2.6)	0.75±0.42 (10.9)	4.25±0.46 (41.8)	6.02±2.01 (32.2)	2.74±1.21 (34.5)	1.15±0.38 (2.5)	0.38±0.16 (4.1)	19.30±1.62 (10.4)
Total	22.23±3.00	20.95±9.26	31.38±4.62	28.99±3.34	18.81±6.50	6.90±1.75	10.17±2.61	18.69 ± 6.05	7.95±4.93	46.73±13.04	9.32±3.25	185.01±9.21

*1) 1, 3-Methylsulfinylpropyl GSL; 2, (2R)-2-Hydroxy-3-butenyl GSL; 3, 2-Propenyl GSL; 4, 4-Methylsulfinylbutyl GSL; 5, 5-Methylsulfinylpentyl GSL; 6, 3-Butenyl GSL; 7, 6-Methylsulfinylhexyl GSL; 8, 3-Methylthioethyl GSL; 9, Butyl, Isobutyl, or 1-Methylpropyl GSL; 10, 4-Pentenyl GSL; 11, 7-Methylsulfinylheptyl GSL; 12, 4-Methylthioethyl GSL; 16, 5-Methylthioetyl GSL; 21, Phenethyl GSL; 22, 4-Hydroxy-3-indolylmethyl GSL; 23, 3-Indolylmethyl GSL; 24, 4-Methoxy-3-indolylmethyl GSL; 25, 1-Methoxy-3-indolylmethyl GSL.

*2) Vegetables for which a good harvest and high consumption has been anticipated as established in a Japanese government ordinance. Data were represented as mean±S.D. (n=3). ND, not detected.

Table 5. Glucosinolate concentration in broccoli (differences in concentrations within plant parts).

(μmol•g DW ⁻¹)					
Class	Glucosinolate (Trivial name)	Floret	Main stalk	Leaf stalk	Leaf blade
Aliphatic	3-Methylsulfinylpropyl GSL (Glucoiberin)	1.15±0.08	0.83±0.04	0.82±0.02	1.23±0.00
	(2R)-2-Hydroxy-3-butenyl GSL (Progoitrin)	1.56±0.06	0.80±0.32	0.44±0.04	0.73±0.03
	4-Methylsulfinylbutyl GSL (Glucoraphanin)	6.80±0.49	3.21±0.04	3.25±0.07	6.79±0.06
	Total	9.50±0.62	4.83±0.39	4.50±0.13	8.75±0.04
Indolyl	3-Indolylmethyl GSL (Glucobressicin)	0.13±0.01	0.29±0.04	0.03±0.05	0.00±0.00
	4-Methoxy-3-indolylmethyl GSL (Methoxyglucobrassicin)	3.65±0.25	0.52±0.02	0.87±0.03	3.66±0.20
	1-Methoxy-3-indolylmethyl GSL (Neoglucobrassicin)	0.70±0.01	0.27±0.01	0.42±0.01	0.74±0.03
	Total	4.47±0.23	1.09±0.03	1.31±0.07	4.40±0.23
Total		13.97±0.86	5.92±0.36	5.82±0.20	13.15±0.26

Data were expressed as mean±SD (n=3).

Table 6. Glucosinolate profiles in the *Raphanus*, *Eruca*, and *Nasturtium* vegetables harvested in Japan.

No. *1	$\mu\text{mol} \cdot \text{g DW}^{-1}$ (%)		
	Raphanus *2 Japanese radish	Eruca Rocket salad	Nasturtium Watercress
4	ND	4.15 ± 1.83 (17.0)	ND
5	ND	ND	0.77 ± 0.19 (0.9)
7	ND	ND	2.96 ± 0.98 (3.4)
8	ND	4.91 ± 4.56 (20.1)	ND
11	ND	ND	25.08 ± 5.20 (29.2)
12	ND	9.62 ± 4.64 (39.4)	ND
13	23.45 ± 8.13 (99.3)	ND	ND
14	ND	ND	4.24 ± 0.37 (4.9)
15	ND	5.16 ± 5.09 (21.1)	ND
17	ND	ND	1.40 ± 0.60 (1.6)
18	ND	ND	16.08 ± 7.73 (18.7)
Aliphatics	23.45 ± 8.13 (99.3)	23.85 ± 9.45 (97.6)	50.53 ± 17.09 (58.8)
19	ND	0.40 ± 0.45 (1.6)	ND
20	ND	ND	3.57 ± 2.33 (4.2)
21	ND	ND	30.03 ± 8.88 (35.0)
Aromatic	0.00	0.40 ± 0.45 (1.6)	33.61 ± 9.55 (39.1)
23	ND	ND	0.89 ± 0.57 (1.0)
24	0.17 ± 0.07 (0.7)	0.18 ± 0.04 (0.7)	0.86 ± 0.16 (1.0)
Indolyls	0.17 ± 0.07 (0.7)	0.18 ± 0.04 (0.7)	1.75 ± 0.70 (2.0)
Total	23.62 ± 8.19	24.43 ± 9.49	85.88 ± 23.82

*1) 4, 4-Methylsulfinylbutyl GSL; 5, 5-Methylsulfinylpentyl GSL; 7, 6-Methylsulfinylhexyl GSL; 8, 3-Methylthioethyl GSL; 11, 7-Methylsulfinylheptyl GSL; 12, 4-Methylthioethyl GSL; 13, 4-Methylthio-3-butenyl GSL; 14, 8-Methylsulfinyloctyl GSL; 15, Dimeric-4-mercaptopentyl GSL; 17, 6-Methylthioethyl GSL; 18, 7-Methylthioethyl GSL; 19, 4-(β -D-glucopyranosyldisulfanyl) butyl GSL; 20, (2S)-2-Hydroxy-2-phenylethyl GSL; 21, Phenethyl GSL; 23, 3-Indolylmethyl GSL; 24, 4-Methoxy-3-indolmethyl GSL. *2) Vegetables for which a good harvest and high consumption has been anticipated as established in a Japanese government ordinance. Data were represented as mean $\pm$ S.D. (n=3). ND, not detected.

Table 7. Glucosinolate concentration in peeled and unpeeled Japanese radish (differences in concentrations within plant parts). ($\mu\text{mol} \cdot \text{g DW}^{-1}$)

Class	Glucosinolate (Trivial name)	peeled			unpeeled		
		upper	midland	bottom	upper	midland	bottom
Aliphatic	4-Methylthio-3-butenyl GSL (Glucoraphasatin)	8.92±1.95	11.80±0.61	67.63±3.46	23.87±6.41	34.96±1.23	119.93±9.51
Indolyl	Methoxy-3-indolylmethyl GSL (Methoxyglucobrassicin)	0.90±0.17	0.31±0.03	0.79±0.08	1.43±0.32	2.37±0.53	2.53±0.16
Total		9.82±2.00	12.11±0.64	68.42±3.44	25.3±6.72	37.33±0.86	122.46±9.52

Data were expressed as mean±SD (n=3).

Table 8. Sample dimension and cold storage time after cutting.

Brassicaceae Vegetables	cutting size	cutting time (min.)	cold storage time (min.)
Cabbage	unprocessed	—	0, 30, 60, 120, 180
	5 × 5 cm		
	4 × 1 cm	10	
	julienne (4 cm × 1 mm)		
Watercress	unprocessed	—	
	4 cm long		
	1 cm long	10	
Potherb mustard (Mizuna)	unprocessed	—	
	4 cm long		
	1 cm long	10	
Broccoli	unprocessed	—	
	Florets finely-chopped (mechanically)	10	
Japanese radish (peeled)	unprocessed	—	
	quarter (2 cm slices)		
	julienne (5 cm × 1 mm)	10	
	grated (mechanically)		

Table 9. Glucosinolates identified in unprocessed Brassicaceae vegetables.

(μmol·g DW⁻¹)

Glucosinolate (Trivial name)	Sample	Cabbage	Watercress	Potherb mustard (Mizuna)	Broccoli	Japanese radish
	Place of production (production year and picking month)	Gunma (2011.9)	Ibaraki (2011.11)	Ibaraki (2011.9)	Nagano (2011.9)	Hokkaido (2012.7)
Aliphatic GSL	(2R)-2-Hydroxy-3-butenyl GSL (Progoitrin)	ND	ND	ND	0.66 ± 0.00	ND
	2-Propenyl GSL (Sinigrin)	3.11 ± 0.12	ND	ND	ND	ND
	3-Methylsulfinylpropyl GSL (Glucoiberin)	6.09 ± 0.99	ND	ND	ND	ND
	4-Methylsulfinylbutyl GSL (Glucoraphanin)	1.51 ± 0.30	ND	ND	9.06 ± 0.37	ND
	5-Methylsulfinylpentyl GSL (Glucoalyssin)	ND	1.05 ± 0.80	0.34 ± 0.09	ND	ND
	6-Methylsulfinylhexyl GSL (Glucohesperin)	ND	12.09 ± 1.59	ND	ND	ND
	7-Methylsulfinylheptyl GSL (Glucoibarin)	ND	16.77 ± 0.45	ND	ND	ND
	8-Methylsulfinyloctyl GSL (Glucohirsutin)	ND	2.59 ± 0.07	ND	ND	ND
	6-Methylthiohexyl GSL (Glucoarabidopthalianin)	ND	0.62 ± 0.04	ND	ND	ND
	7-Methylthioheptyl GSL (Glucoarabishirsutin)	ND	6.46 ± 0.24	ND	ND	ND
	4-Methylthio-3-butenyl GSL (Glucoraphasatin)	ND	ND	ND	ND	39.76 ± 11.94
	3-Butenyl GSL (Gluconapin)	ND	ND	9.22 ± 2.03	ND	ND
	4-Pentenyl GSL (Glucobrassicinapin)	ND	ND	0.70 ± 0.13	ND	ND
	Total	10.71 ± 1.30	39.58 ± 3.22	10.26 ± 2.25	9.72 ± 0.50	39.76 ± 11.94
Aromatic GSL	Phenethyl GSL (Gluconasturtiin)	ND	21.59 ± 0.25	1.63 ± 0.26	ND	ND
	(2S)-2-Hydroxy-2-phenylethyl GSL (Glucobarbarin)	ND	0.73 ± 0.03	ND	ND	ND
	Total	ND	22.32 ± 0.25	1.63 ± 0.26	ND	ND
Indolyl GSL	4-Hydroxy-3-indolylmethyl GSL (4-Hydroxyglucobrassicin)	ND	ND	ND	0.51 ± 0.00	ND
	3-Indolylmethyl GSL (Glucobrassicin)	5.06 ± 1.25	2.13 ± 0.23	0.89 ± 0.18	5.70 ± 0.03	ND
	4-Methoxy-3-indolylmethyl GSL (4-Methoxyglucobrassicin)	0.79 ± 0.11	1.22 ± 0.13	0.80 ± 0.14	1.70 ± 0.12	1.81 ± 0.45
	1-Methoxy-3-indolylmethyl GSL (Neoglucobrassicin)	0.08 ± 0.01	ND	0.62 ± 0.13	11.42 ± 0.59	ND
	Total	5.93 ± 1.18	3.35 ± 0.36	2.31 ± 0.44	19.33 ± 0.69	1.81 ± 0.45
Total GSL		16.64 ± 2.43	65.25 ± 3.84	14.20 ± 2.95	29.05 ± 1.44	41.56 ± 12.28

Data were expressed as mean ± SD (n=3).

Table 10. Glucosinolate concentration in cabbage (5 × 5 cm) stored at 5°C for up to 180 min.

(μmol•g DW⁻¹)

Class	Glucosinolate (Trivial name)	Control	0 min.	30 min.	60 min.	120 min.	180 min.
Aliphatic	3-Methylsulfinylpropyl GSL (Glucoiberin)	5.93±0.05	6.02±0.45	6.21±0.25	6.79 ± 0.30	6.11±0.20	6.56± 0.06
	2-Propenyl GSL (Sinigrin)	3.01±0.07	2.60±0.38	3.20±0.30	2.65 ± 0.14	2.18±0.04	2.82± 0.36
	4-Methylsulfinylbutyl GSL (Glucoraphanin)	1.37±0.03	1.32±0.11	1.49±0.08	1.53 ± 0.05	1.37±0.04	1.70± 0.02
	Total	10.31±0.09	9.94±0.88	10.90±0.62	10.97±0.27	9.65±0.19	11.08±0.39
Indolyl	3-Indolylmethyl GSL (Glucobressicin)	4.31±0.06	4.87±0.46	5.30±0.07	4.87 ± 0.26	4.90 ±0.10	5.41±0.34
	4-Methoxy-3-indolylmethyl GSL (Methoxyglucobrassicin)	0.80±0.02	0.92±0.14	0.90±0.10	0.83 ± 0.03	0.85 ±0.05	0.87±0.06
	1-Methoxy-3-indolylmethyl GSL (Neoglucobrassicin)	0.10±0.00	0.12±0.01	0.17±0.04	0.09 ± 0.02	0.10 ±0.02	0.09±0.00
	Total	5.21±0.06	5.91±0.58	6.37±0.17[#]	5.79±0.29	5.85±0.12	6.38±0.39
Total		15.52±0.06	15.85±1.41	17.27±0.63	16.77 ± 0.19	15.51±0.29	17.46±0.12

Data were expressed as mean±SD (n=3).

: Significant difference were observed versus control in indolyl GSL content, by Friedman's test ($p<0.05$).

Table 11. Glucosinolate concentration in cabbage (4 × 1 cm) stored at 5°C for up to 180 min.

($\mu\text{mol} \cdot \text{g DW}^{-1}$)

Class	Glucosinolate (Trivial name)	Control	0 min.	30 min.	60 min.	120 min.	180 min.
Aliphatic	3-Methylsulfinylpropyl GSL (Glucoiberin)	7.28±0.38	7.02±0.28	7.36±0.36	8.00±0.11	7.89±0.38	8.49±0.40
	2-Propenyl GSL (Sinigrin)	3.17±0.15	2.06±0.14	2.81±0.16	2.70±0.62	2.53±0.07	2.83±0.16
	4-Methylsulfinylbutyl GSL (Glucoraphanin)	1.89±0.08	1.97±0.13	1.92±0.10	2.13±0.02	2.20±0.06	2.48±0.05
	Total	12.35±0.37	11.05±0.46*	12.10±0.60	12.83±0.51	12.61±0.41	13.80±0.34*
Indolyl	3-Indolylmethyl GSL (Glucobressicin)	6.65±0.69	6.67±0.66	6.06±0.15	7.50±0.54	6.53±0.78	6.81±0.87
	4-Methoxy-3-indolylmethyl GSL (Methoxyglucobrassicin)	0.68±0.08	0.66±0.03	0.66±0.05	0.71±0.08	0.69±0.04	0.80±0.07
	1-Methoxy-3-indolylmethyl GSL (Neoglucobrassicin)	0.07±0.01	0.08±0.02	0.06±0.00	0.08±0.02	0.07±0.02	0.09±0.00
	Total	7.40±0.77	7.41±0.63	6.78±0.14	8.29±0.60	7.29±0.82	7.71±0.93
Total		19.74±1.14	18.46±0.89	18.87±0.66	21.11±0.74	19.91±1.22	21.50±0.83

Data were expressed as mean±SD (n=3).

* : Significant difference were observed versus control in aliphatic GSL content, by Dunnett's test ($p<0.05$).

Table 12. Glucosinolate concentration in cabbage (4 cm × 1 mm) stored at 5°C for up to 180 min.

		(μmol•g DW ⁻¹)					
Class	Glucosinolate (Trivial name)	Control	0 min.	30 min.	60 min.	120 min.	180 min.
Aliphatic	3-Methylsulfinylpropyl GSL (Glucoiberin)	5.07±0.24	5.76±0.14	4.95±0.26	4.95±0.18	4.39±0.09	5.00 ±0.31
	2-Propenyl GSL (Sinigrin)	3.16±0.10	2.34±0.12	2.50±1.02	2.41±0.22	1.13±0.21	1.82±0.19
	4-Methylsulfinylbutyl GSL (Glucoraphanin)	1.26±0.05	1.38±0.02	1.05±0.06	1.10±0.03	1.00±0.03	1.14±0.07
	Total	9.48±0.30	9.48±0.23	8.50±1.34	8.45±0.43	6.52±0.32*	7.96±0.57
Indolyl	3-Indolylmethyl GSL (Glucobressicin)	4.79±0.20	4.40±0.91	3.73±0.48	4.31±0.18	3.82±0.58	3.08±0.31
	4-Methoxy-3-indolylmethyl GSL (Methoxyglucobrassicin)	0.96±0.03	0.95±0.09	0.74±0.08	0.75±0.06	0.71±0.07	0.65±0.09
	1-Methoxy-3-indolylmethyl GSL (Neoglucobrassicin)	0.08±0.01	0.04±0.03	0.04±0.04	0.09±0.01	0.08±0.02	0.05±0.05
	Total	5.83±0.18	5.40±0.98	4.52±0.57[#]	5.15±0.22	4.61±0.60	3.78±0.42[#]
Total		15.31± 0.27	14.88±0.98	13.02±1.83	13.60±0.57	11.12 ± 0.44	11.74 ± 0.57

Data were expressed as mean±SD (n=3).

* : Significant difference were observed versus control in aliphatic GSL content, by Dunnett's test ($p<0.05$).

[#] : Significant difference were observed versus control in indolyl GSL content, by Dunnett's test ($p<0.05$).

Table 13. Glucosinolate concentration in watercress (4 cm long) stored at 5°C for up to 180 min.

		(μmol•g DW ⁻¹)					
Class	Glucosinolate (Trivial name)	Control	0 min.	30 min.	60 min.	120 min.	180 min.
Aliphatic	5-Methylsulfinylpentyl GSL (Glucoialyssin)	1.31±0.98	0.41±0.02	0.60±0.02	0.54±0.04	0.47±0.15	0.44±0.10
	6-Methylsulfinylhexyl GSL (Glucohesperalin)	15.15±1.81	13.97±0.30	14.86±0.93	14.75±0.81	12.53±4.35	13.95±1.77
	7-Methylsulfinylheptyl GSL (Glucoibarin)	21.03±0.76	21.70±0.58	19.74±0.47	20.34±1.17	16.74±5.66	19.45±0.62
	8-Methylsulfinyloctyl GSL (Glucohirsutin)	3.24±0.15	3.13±0.09	2.94±0.10	3.13±0.18	2.47±0.85	2.72±0.08
	6-Methylthioethyl GSL (Glucoarabidopthalianin)	0.77±0.06	0.79±0.03	0.86±0.08	0.70±0.09	0.62±0.27	7.90±0.03
	7-Methylthioethyl GSL (Glucoarabishirsutain)	8.10±0.45	7.89±0.38	8.47±0.16	7.63±0.53	6.29±1.92	8.41±0.13
	Total	49.59±3.65	47.90±1.09	47.47±1.40	47.08±1.84	39.12±13.18	45.76±2.30
Alomatic	(2S)-2-Hydroxy-2-phenylethyl GSL (Glucobarbarin)	0.91±0.05	1.01±0.02	0.89±0.01	0.53 ±0.46	0.72±0.23	0.95±0.02
	Phenethyl GSL (Gluconasturtiin)	27.07±0.95	26.77±0.64	24.72±0.43	25.09±1.17	21.27±7.22	26.71±0.88
	Total	27.98±0.99	27.78±0.65	25.61±0.44	25.62±1.02	21.99±7.45	27.66±0.90
Indolyl	3-Indolylmethyl GSL (Glucobressicin)	2.68±0.33	2.47±0.06	2.25±0.07	2.12±0.33	1.97±0.73	2.50±0.22
	4-Methoxy-3-indolylmethyl GSL (Methoxyglucobrassicin)	1.54±0.18	1.76±0.03	1.81±0.05	1.67±0.24	1.41±0.47	1.81±0.14
	Total	4.21±0.51	4.23±0.09	4.07±0.12	3.79±0.57	3.37±1.21	4.30±0.35
Total		81.78±3.82	79.91±1.67	77.15±1.43	76.50±3.40	64.49±21.82	77.72±2.22

Data were expressed as mean±SD (n=3).

Table 14. Glucosinolate concentration in watercress (1 cm long) stored at 5°C for up to 180 min.

		(μmol•g DW ⁻¹)					
Class	Glucosinolate (Trivial name)	Control	0 min.	30 min.	60 min.	120 min.	180 min.
Aliphatic	5-Metylsulfinylpentyl GSL (Glucoialyssin)	1.31±0.98	0.32±0.01	0.38± 0.01	0.36±0.06	0.22±0.19	0.41±0.02
	6-Methylsulfinylhexyl GSL (Glucohesperalin)	15.15±1.81	11.75±0.43	8.62±7.47	14.41±0.79	15.98±2.14	16.07±0.96
	7-Methylsulfinylheptyl GSL (Glucoibarin)	21.03±0.76	17.46±0.68	20.03±0.86	17.81±0.43	15.46±0.81	17.97±1.05
	8-Methylsulfinyloctyl GSL (Glucohirsutin)	3.24±0.15	2.60±0.12	2.92±0.10	2.71±0.07	2.49±0.14	2.59±0.14
	6-Methylthioethyl GSL (Glucoarabidophthalianin)	0.77±0.06	0.57±0.02	0.68±0.07	0.59±0.01	0.60±0.12	0.81±0.07
	7-Methylthioethyl GSL (Glucoarabishirsutain)	8.10±0.45	6.59±0.30	6.89±0.37	6.41±0.10	6.22±0.30	7.15±0.12
	Total	49.59±3.65	39.31±1.51*	39.51±6.68*	42.29±1.81	40.95±2.85*	45.00±2.04
Alomatic	(2S)-2-Hydroxy-2-phenlethyl GSL (Glucobarbarin)	0.91±0.05	0.80±0.03	0.83±0.03	0.98±0.01	0.96 ±0.06	0.80 ±0.05
	Phenethyl GSL (Gluconasturtiin)	27.07±0.95	23.76±1.49	22.35±1.01	22.36±0.23	23.51±1.30	23.90±0.92
	Total	27.98±0.99	24.57±1.51[§]	23.19±1.04[§]	23.34±0.24[§]	24.47±1.36[§]	24.71±0.96[§]
Indolyl	3-Indolylmethyl GSL (Glucobressicin)	2.68±0.33	2.21±0.15	1.98±0.19	2.08±0.24	2.67±0.28	2.47±0.29
	4-Methoxyindolyl-3-methyl GSL (Methoxyglucobrassicin)	1.54±0.18	1.48±0.06	1.40±0.11	1.65±0.12	1.96 ±0.14	1.77±0.10
	Total	4.21±0.51	3.69±0.21	3.38±0.30	3.73±0.35	4.63±0.42	4.24±0.39
Total		81.78±3.82	67.55±3.03	66.08±5.88	69.36±1.94	70.06±4.46	73.95±3.23

Data were expressed as mean±SD (n=3).

* : Significant differences were observed versus control in aliphatic GSL content, by Dunnett's test ($p<0.05$).

[§] : Significant differences were observed versus control in aromatic GSL content, by Dunnett's test ($p<0.05$).

Table 15. Glucosinolate concentration in potherb mustard (mizuna) (4 cm long) stored at 5°C for up to 180 min.

($\mu\text{mol} \cdot \text{g DW}^{-1}$)

Class	Glucosinolate (Trivial name)	Control	0 min.	30 min.	60 min.	120 min.	180 min.
Aliphatic	5-Methylsulfinylpentyl GSL (Glucoialysson)	0.34 $\pm$ 0.09	0.39 $\pm$ 0.02	0.00 $\pm$ 0.00	0.08 $\pm$ 0.14	0.27 $\pm$ 0.04	0.07 $\pm$ 0.12
	3-Butenyl GSL (Gluconapin)	9.22 $\pm$ 2.03	8.20 $\pm$ 0.60	5.56 $\pm$ 0.92	4.99 $\pm$ 0.69	6.24 $\pm$ 0.94	4.53 $\pm$ 0.18
	4-Pentenyl GSL (Glucobrassicinapin)	0.70 $\pm$ 0.13	0.57 $\pm$ 0.03	0.41 $\pm$ 0.07	0.27 $\pm$ 0.01	0.43 $\pm$ 0.08	0.25 $\pm$ 0.03
	Total	10.26$\pm$2.25	9.16$\pm$0.64	5.97$\pm$0.99	5.34$\pm$0.84	6.95$\pm$1.06	4.85$\pm$0.32
Alomatic	Phenethyl GSL (Gluconasturtiin)	1.63 $\pm$ 0.26	1.05 $\pm$ 0.10	1.01 $\pm$ 0.17	1.07 $\pm$ 0.12	0.92 $\pm$ 0.17	0.72 $\pm$ 0.02 [§]
Indolyl	3-Indolylmethyl GSL (Glucobressicin)	0.89 $\pm$ 0.18	0.86 $\pm$ 0.13	0.71 $\pm$ 0.13	0.55 $\pm$ 0.02	0.50 $\pm$ 0.15	0.42 $\pm$ 0.06
	4-Methoxy-3-indolylmethyl GSL (Methoxyglucobrassicin)	0.80 $\pm$ 0.14	0.65 $\pm$ 0.08	0.74 $\pm$ 0.15	0.60 $\pm$ 0.03	0.52 $\pm$ 0.14	0.44 $\pm$ 0.07
	1-Methoxy-3-indolylmethyl GSL (Neoglucobrassicin)	0.62 $\pm$ 0.13	0.87 $\pm$ 0.03	0.88 $\pm$ 0.18	0.64 $\pm$ 0.07	0.28 $\pm$ 0.07	0.36 $\pm$ 0.02
	Total	2.31$\pm$0.44	2.38$\pm$0.24	2.33$\pm$0.44	1.79$\pm$0.11	1.30$\pm$0.36[#]	1.22$\pm$0.15[#]
Total		14.20$\pm$2.95	12.60$\pm$0.90	9.30$\pm$1.60	8.20$\pm$1.07	9.17$\pm$1.58	6.79$\pm$0.41

Data were expressed as mean $\pm$ SD (n=3).

[§]: Significant differences were observed versus control in aromatic GSL content, by Friedman's test ($p < 0.05$).

[#]: Significant differences were observed versus control in indolyl GSL content, by Dunnett's test ($p < 0.05$).

Table 16. Glucosinolate concentration in potherb mustard (mizuna) (1 cm long) stored at 5°C for up to 180 min.

($\mu\text{mol} \cdot \text{g DW}^{-1}$)

Class	Glucosinolate (Trivial name)	Control	0 min.	30 min.	60 min.	120 min.	180 min.
Aliphatic	5-Methylsulfinylpentyl GSL (Glucoialyssin)	0.34 $\pm$ 0.09	0.43 $\pm$ 0.03	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.16 $\pm$ 0.15	0.14 $\pm$ 0.12
	3-Butenyl GSL (Gluconapin)	9.22 $\pm$ 2.03	5.13 $\pm$ 0.33	3.67 $\pm$ 0.23	3.97 $\pm$ 0.40	5.29 $\pm$ 0.18	4.37 $\pm$ 0.11
	4-Pentenyl GSL (Gluco brassicanapin)	0.70 $\pm$ 0.13	0.32 $\pm$ 0.02	0.29 $\pm$ 0.05	0.28 $\pm$ 0.03	0.43 $\pm$ 0.01	0.30 $\pm$ 0.01
	Total	10.26$\pm$2.25	5.88$\pm$0.38	3.96$\pm$0.27*	4.25$\pm$0.43	5.88$\pm$0.16	4.80$\pm$0.20
Alomatic	Phenethyl GSL (Gluconasturtiin)	1.63 $\pm$ 0.26	1.14 $\pm$ 0.04	0.97 $\pm$ 0.07	0.88 $\pm$ 0.05	1.08 $\pm$ 0.06	0.81 $\pm$ 0.02 [§]
Indolyl	3-Indolylmethyl GSL (Gluco brassicin)	0.89 $\pm$ 0.18	0.82 $\pm$ 0.02	0.40 $\pm$ 0.05	0.52 $\pm$ 0.06	0.82 $\pm$ 0.04	0.44 $\pm$ 0.02
	4-Methoxy-3-indolylmethyl GSL (Methoxygluco brassicin)	0.80 $\pm$ 0.14	0.78 $\pm$ 0.03	0.63 $\pm$ 0.06	0.56 $\pm$ 0.07	0.61 $\pm$ 0.02	0.50 $\pm$ 0.02
	1-Methoxy-3-indolylmethyl GSL (Neoglucobrassicin)	0.62 $\pm$ 0.13	0.51 $\pm$ 0.03	0.38 $\pm$ 0.02	0.33 $\pm$ 0.07	0.53 $\pm$ 0.04	0.28 $\pm$ 0.02
	Total	2.31$\pm$0.44	2.11$\pm$0.07	1.41$\pm$0.13	1.41$\pm$0.17	1.97$\pm$0.03	1.22$\pm$0.05[#]
Total		14.20$\pm$2.95	9.13$\pm$0.48	6.34$\pm$0.47	6.55$\pm$0.54	8.93$\pm$0.16	6.83$\pm$0.15

Data were expressed as mean $\pm$ SD (n=3).

* : Significant differences were observed versus control in aliphatic GSL content, by Friedman's test ($p<0.05$).

§ : Significant differences were observed versus control in aromatic GSL content, by Friedman's test ($p<0.05$).

: Significant differences were observed versus control in indolyl GSL content, by Friedman's test ($p<0.05$).

Table 17. Glucosinolate concentration in broccoli (florets) stored at 5°C for up to 180 min.

		(μmol•g DW ⁻¹)					
Class	Glucosinolate (Trivial name)	Control	0 min.	30 min.	60 min.	120 min.	180 min.
Aliphatic	(2R)-2-Hydroxy-3-butenyl GSL (Progoitrin)	0.66±0.00	0.66±0.00	0.85±0.10	0.51±0.16	0.53±0.03	0.53±0.04
	4-Methylsulfinylbutyl GSL (Glucoraphanin)	9.06±0.37	8.87±0.33	8.36±0.85	9.22±0.28	8.84±0.13	9.00±0.19
	Total	9.50±0.75	9.09±0.69	8.93±1.34	9.73±0.35	9.37±0.14	9.53±0.21
Indolyl	4-Hydroxy-3-indolylmethyl GSL (4-Hydroxyglucobrassicin)	0.51±0.00	0.47±0.06	0.51±0.02	0.51±0.11	0.49±0.05	0.69±0.11
	3-Indolylmethyl GSL (Glucobressicin)	5.70±0.03	5.51±0.28	5.59±0.61	6.33±0.22	6.04±0.28	6.66±0.36
	4-Methoxy-3-indolylmethyl GSL (Methoxyglucobrassicin)	1.70±0.12	1.60±0.14	1.80±0.29	2.22±0.20	2.01±0.14	1.95±0.10
	1-Methoxy-3-indolylmethyl GSL (Neoglucobrassicin)	11.42±0.59	11.16±0.51	12.13±1.53	14.48±0.96	11.26±0.24	12.65±0.55
	Total	19.33±0.69	18.73±0.76	20.03±2.41	23.54±1.31	19.81±0.48	21.95±0.83
Total		28.83±1.44	27.82±1.44	28.96±3.73	33.27±1.26	29.18±0.37	31.48± 0.69

Data were expressed as mean±SD (n=3).

Table 18. Glucosinolate concentration in broccoli (finely-chopped) stored at 5°C for up to 180 min.

($\mu\text{mol} \cdot \text{g DW}^{-1}$)

Class	Glucosinolate (Trivial name)	Control	0 min.	30 min.	60 min.	120 min.	180 min.
Aliphatic	(2R)-2-Hydroxy-3-butenyl GSL (Progoitrin)	5.79 $\pm$ 0.94	2.96 $\pm$ 0.74	2.23 $\pm$ 0.24	1.49 $\pm$ 0.40	1.79 $\pm$ 0.29	1.57 $\pm$ 0.29
	4-Methylsulfinylbutyl GSL (Glucoraphanin)	7.93 $\pm$ 1.59	4.30 $\pm$ 0.79	3.49 $\pm$ 0.31	2.69 $\pm$ 0.77	3.05 $\pm$ 0.37	3.00 $\pm$ 0.27
	Total	13.72$\pm$2.48	7.26$\pm$1.52*	5.72$\pm$0.52*	4.18$\pm$1.16*	4.84$\pm$0.65	4.75$\pm$0.67*
Indolyl	4-Hydroxy-3-indolylmethyl GSL (4-Hydroxyglucobrassicin)	0.29 $\pm$ 0.14	0.04 $\pm$ 0.07	0.03 $\pm$ 0.03	0.02 $\pm$ 0.04	0.03 $\pm$ 0.06	0.03 $\pm$ 0.06
	3-Indolylmethyl GSL (Glucobressicin)	5.17 $\pm$ 0.75	3.00 $\pm$ 0.58	2.42 $\pm$ 0.30	1.83 $\pm$ 0.52	2.08 $\pm$ 0.21	2.07 $\pm$ 0.20
	4-Methoxy-3-indolylmethyl GSL (Methoxyglucobrassicin)	1.42 $\pm$ 0.23	0.55 $\pm$ 0.10	0.54 $\pm$ 0.14	0.52 $\pm$ 0.18	0.65 $\pm$ 0.33	0.60 $\pm$ 0.35
	1-Methoxy-3-indolylmethyl GSL (Neoglucobrassicin)	2.66 $\pm$ 0.64	1.37 $\pm$ 0.23	1.09 $\pm$ 0.14	0.82 $\pm$ 0.18	0.94 $\pm$ 0.11	0.93 $\pm$ 0.11
	Total	9.53$\pm$1.19	4.96$\pm$0.90[#]	4.08$\pm$0.58[#]	3.19$\pm$0.67[#]	3.71$\pm$0.57[#]	3.63$\pm$0.27[#]
Total		23.25$\pm$3.63	12.22$\pm$2.37	9.80$\pm$1.09	7.37$\pm$1.78	8.54$\pm$0.99	8.38$\pm$0.90

Data were expressed as mean $\pm$ SD (n=3).

* : Significant differences were observed versus control in aliphatic GSL content, by Dunnett's test ($p<0.05$).

[#] : Significant difference were observed versus control in indolyl GSL content, by Dunnett's test ($p<0.05$).

Table 19. Glucosinolate concentration in Japanese radish [quarter (2 cm slices)] stored at 5°C for up to 180 min.

(μmol•g DW⁻¹)

Class	Glucosinolate (Trivial name)	Control	0 min.	30 min.	60 min.	120 min.	180 min.
Aliphatic	4-Methylthio-3-butenyl GSL (Glucoraphasatin)	39.76±11.95	36.13±9.20	34.96±7.93	93.68±21.05 [#]	51.54±15.37	31.13±0.26
Indolyl	4-Methoxy-3-indolylmethyl GSL (Methoxyglucobrassicin)	1.81±0.45	1.00±0.14	1.18±0.38	1.77±0.43	1.15±0.27	1.03±0.14
Total		41.56±12.28	37.12±9.10	36.14±8.02	95.45±21.00	52.69±15.38	32.16±0.29

Data were expressed as mean±SD (n=3).

[#] : Significant differences were observed versus control in 4-methylthio-3-butenyl GSL content, by Dunnett’s test (*p*<0.05).

Table 20. Glucosinolate concentration in Japanese radish (5 cm × 1 mm) stored at 5°C for up to 180 min.

		(μmol•g DW ⁻¹)					
Class	Glucosinolate (Trivial name)	Control	0 min.	30 min.	60 min.	120 min.	180 min.
Aliphatic	4-Methylthio-3-butenyl GSL (Glucoraphasatin)	39.76±11.95	25.32±0.45	28.24±1.71	32.63±0.87	26.43±1.95	29.21±0.78
Indolyl	4-Methoxy-3-indolylmethyl GSL (Methoxyglucobrassicin)	1.81±0.45	0.18±0.01	0.19±0.02	0.33±0.31	0.16±0.02	0.17±0.03
Total		41.56±12.28	25.50±0.45	28.43±1.73	32.96±0.62	26.59±1.96	29.37±0.80

Data were expressed as mean±SD (n=3).

Table 21. Glucosinolate concentration in Japanese radish (grated) stored at 5°C for up to 180 min.

		(μmol•g DW ⁻¹)					
Class	Glucosinolate (Trivial name)	Control	0 min.	30 min.	60 min.	120 min.	180 min.
Aliphatic	4-Methylthio-3-butenyl GSL (Glucoraphasatin)	39.76±11.95	3.78±0.73 [#]	2.45±0.49 [#]	5.11±0.68 [#]	4.29±0.91 [#]	8.13±4.48 [#]
Indolyl	4-Methoxy-3-indolylmethyl GSL (Methoxyglucobrassicin)	1.81±0.45	0.10±0.01	0.08±0.04	0.12±0.04	0.10±0.01	0.13±0.10
Total		41.56±12.28	3.88±0.72	2.54±0.47	5.23±0.72	4.38±0.91	8.26±4.51

Data were expressed as mean±SD (n=3).
[#]: Significant differences were observed versus control in 4-methylthio-3-butenyl GSL content, by Dunnett’s test (*p*<0.05).

Table 22. Sample dimension and cold storage time after cutting.

Brassicaceae Vegetables	cutting size	cutting time (min.)	cold storage time (min.)
	Unprocessed	—	
Japanese radish (peeled or unpeeled)	quarter (2.5 mm slices)	10	0, 30, 60, 120, 180
	quarter (5 mm slices)		
	quarter (1 cm slices)		
	quarter (2 cm slices)		
	quarter (3 cm slices)		

Table 23. Glucosinolate concentration in unpeeled Japanese radish cut into pieces with different thickness stored at 5°C for up to 180 min. (μmol•g DW⁻¹)

Class		Aliphatic	Indolyl	Total
Glucosinolate (Trivial name)		4-Methylthio-3-butenyl GSL (Glucoraphasatin)	4-Methoxy-3-indolylmethyl GSL (Methoxyglucobrassicin)	
Quarter (2.5 mm slices)	Control	58.85±4.12	0.27±0.03	59.12±4.15
	Storage 0 min.	51.64±1.65	0.27±0.02	51.91±1.66
	30 min.	58.32±1.53	0.24±0.01	58.56±1.54
	60 min.	61.68±1.15	0.25±0.02	61.93±1.13
	120 min.	62.77±1.50	0.25±0.01	63.02±1.49
	180 min.	61.84±1.58	0.26±0.01	62.09±1.59
Quarter (5 mm slices)	Control	58.85±4.12	0.27±0.03	59.12±4.15
	Storage 0 min.	65.81±2.79	0.28±0.01	66.09±2.79
	30 min.	75.85±4.28*	0.25±0.01	76.09±4.29
	60 min.	76.56±4.66*	0.29±0.01	76.85±4.64
	120 min.	67.35±1.62*	0.27±0.00	67.63±1.62
	180 min.	68.46±2.06*	0.26±0.00	68.72±2.06
Quarter (1 cm slices)	Control	58.85±4.12	0.27±0.03	59.12±4.15
	Storage 0 min.	67.43±4.83*	0.32±0.03	67.75±4.85
	30 min.	66.06±5.01*	0.31±0.00	66.37±5.01
	60 min.	71.73±2.58*	0.31±0.01	72.04±2.60
	120 min.	78.39±1.76*	0.25±0.01	78.64±1.76
	180 min.	82.10±2.90*	0.29±0.01	82.38±2.90
Quarter (2 cm slices)	Control	58.85±4.12	0.27±0.03	59.12±4.15
	Storage 0 min.	63.97±2.82	0.23±0.02	64.20±2.83
	30 min.	72.89±6.12*	0.24±0.02	73.14±6.13
	60 min.	81.00±0.29*	0.24±0.01	81.24±0.29
	120 min.	73.02±4.46*	0.25±0.01	73.27±4.47
	180 min.	86.29±3.20*	0.25±0.01	86.54±3.20
Quarter (3 cm slices)	Control	58.85±4.12	0.27±0.03	59.12±4.15
	Storage 0 min.	73.17±2.64*	0.26±0.01	73.43±2.65
	30 min.	77.95±0.69*	0.26±0.00	78.21±0.69
	60 min.	75.84±2.68*	0.27±0.01	76.12±2.68
	120 min.	83.74±3.55*	0.27±0.01	84.01±3.55
	180 min.	76.64±1.85*	0.28±0.01	76.92±1.85

Data were expressed as mean±SD (n=3). *: Significant differences were observed versus control in 4-methylthio-3-butenyl GSL content, by Dunnett's test ($p<0.05$).

Table 24. Glucosinolate concentration in peeled Japanese radish cut into pieces with different thickness stored at 5°C for up to 180 min.

				($\mu\text{mol} \cdot \text{g DW}^{-1}$)
Class		Aliphatic	Indolyl	Total
Glucosinolate (Trivial name)		4-Methylthio-3-butenyl GSL (Glucoraphasatin)	4-Methoxy-3-indolylmethyl GSL (Methoxyglucobrassicin)	
Quarter (2.5 mm slices)	Control	66.82 $\pm$ 2.30	0.93 $\pm$ 0.16	67.75 $\pm$ 2.43
	Storage 0 min.	17.89 $\pm$ 0.52*	0.31 $\pm$ 0.02	18.20 $\pm$ 0.53
	30 min.	22.61 $\pm$ 0.49*	0.38 $\pm$ 0.00	23.00 $\pm$ 0.50
	60 min.	27.76 $\pm$ 3.73*	0.43 $\pm$ 0.04	28.18 $\pm$ 3.77
	120 min.	25.48 $\pm$ 2.25*	0.37 $\pm$ 0.03	25.85 $\pm$ 2.28
	180 min.	27.48 $\pm$ 0.95*	0.35 $\pm$ 0.02	27.82 $\pm$ 0.97
Quarter (5 mm slices)	Control	66.82 $\pm$ 2.30	0.93 $\pm$ 0.16	67.75 $\pm$ 2.43
	Storage 0 min.	65.53 $\pm$ 3.22	1.17 $\pm$ 0.11	66.69 $\pm$ 3.28
	30 min.	70.11 $\pm$ 5.27	0.86 $\pm$ 0.15	70.97 $\pm$ 5.28
	60 min.	66.41 $\pm$ 1.53	0.76 $\pm$ 0.06	67.16 $\pm$ 1.56
	120 min.	68.90 $\pm$ 3.65	0.69 $\pm$ 0.05	69.59 $\pm$ 3.60
	180 min.	65.85 $\pm$ 1.80	0.69 $\pm$ 0.02	66.54 $\pm$ 1.80
Quarter (1 cm slices)	Control	66.82 $\pm$ 2.30	0.93 $\pm$ 0.16	67.75 $\pm$ 2.43
	Storage 0 min.	67.96 $\pm$ 2.15	0.70 $\pm$ 0.03	68.66 $\pm$ 2.12
	30 min.	66.55 $\pm$ 1.65	0.66 $\pm$ 0.09	67.20 $\pm$ 1.74
	60 min.	62.69 $\pm$ 1.82	0.61 $\pm$ 0.05	63.29 $\pm$ 1.86
	120 min.	71.83 $\pm$ 7.63	0.81 $\pm$ 0.10	72.64 $\pm$ 7.66
	180 min.	68.93 $\pm$ 3.14	0.58 $\pm$ 0.01	69.52 $\pm$ 3.13
Quarter (2 cm slices)	Control	66.82 $\pm$ 2.30	0.93 $\pm$ 0.16	67.75 $\pm$ 2.43
	Storage 0 min.	78.34 $\pm$ 8.51	1.37 $\pm$ 0.43	79.71 $\pm$ 8.93
	30 min.	82.86 $\pm$ 2.95	1.30 $\pm$ 0.03	84.17 $\pm$ 2.97
	60 min.	95.81 $\pm$ 16.03	1.53 $\pm$ 0.20	97.34 $\pm$ 16.22
	120 min.	109.65 $\pm$ 21.03 [#]	1.77 $\pm$ 0.65	111.42 $\pm$ 21.68
	180 min.	66.65 $\pm$ 4.27	1.08 $\pm$ 0.03	67.73 $\pm$ 4.30
Quarter (3 cm slices)	Control	66.82 $\pm$ 2.30	0.93 $\pm$ 0.16	67.75 $\pm$ 2.43
	Storage 0 min.	56.93 $\pm$ 10.46	0.76 $\pm$ 0.04	57.69 $\pm$ 10.43
	30 min.	57.13 $\pm$ 6.39	0.90 $\pm$ 0.11	58.03 $\pm$ 6.50
	60 min.	56.67 $\pm$ 5.83	0.65 $\pm$ 0.08	57.32 $\pm$ 5.82
	120 min.	58.54 $\pm$ 9.12	0.66 $\pm$ 0.09	59.20 $\pm$ 9.21
	180 min.	56.60 $\pm$ 2.00	0.55 $\pm$ 0.06	57.15 $\pm$ 1.96

Data were expressed as mean $\pm$ SD (n=3). *: Significant differences were observed versus control in 4-methylthio-3-butenyl GSL content, by Dunnett's test ($p<0.05$).

[#]: Significant differences were observed versus control in 4-methylthio-3-butenyl GSL content, by Friedman's test ($p<0.05$).

Table 25. Glucosinolate concentration in watercress heated for 30 minutes at different heating temperatures.

(μmol•g DW⁻¹)

Class	Glucosinolate (Trivial name)	Control	30°C	40°C	50°C	60°C	70°C	80°C	90°C
Aliphatic	5-Methylsulfinylpentyl GSL (Glucosialysson)	0.23±0.07	0.22±0.05	0.24±0.09	0.01±0.02	0.19±0.04	0.36±0.02	0.38±0.05	0.30±0.03
	6-Methylsulfinylhexyl GSL (Glucosheperalin)	10.79±1.77	11.49±1.40	10.78±1.64	0.58±0.15	2.31±1.31	7.57±0.30	8.90±0.39	10.34±1.38
	7-Methylsulfinylheptyl GSL (Glucobarin)	13.66±2.55	13.94±1.54	12.20±1.56	0.90±0.23	4.93±2.78	11.34±0.53	13.32±1.23	12.81±0.85
	8-Methylsulfinyloctyl GSL (Glucosirsutin)	0.13±0.01	0.12±0.00	0.13±0.01	0.12±0.03	0.20±0.03	0.19±0.01	0.20±0.03	0.16±0.03
	6-Methylthioethyl GSL (Glucosarabidopthalianin)	0.38±0.05	0.49±0.02	0.49±0.06	0.03±0.04	0.06±0.02	0.13±0.01	0.13±0.01	0.13±0.01
	7-Methylthioethyl GSL (Glucosarabishirsutin)	5.57±0.15	6.03±0.65	6.10±0.73	0.60±0.40	1.42±0.68	2.87±0.20	3.05±0.35	3.03±0.45
	Total	30.77±4.38	32.29±3.55	29.93±4.01	2.24±0.76	9.12±4.86	22.46±0.77	25.99±1.65	26.76±1.93
Aromatic	(2S)-2-Hydroxy-2-phenylethyl GSL (Glucosabarbarin)	0.66±0.11	0.71±0.07	0.66±0.13	0.01±0.02	0.10±0.06	0.44±0.02	0.53±0.01	0.64±0.07
	Phenethyl GSL (Glucosasturtiin)	18.91±2.81	21.07±1.82	18.59±1.99	0.70±0.29	3.69±2.34	13.34±0.68	16.15±0.98	15.83±1.00
	Total	19.57±2.91	21.78±1.88	19.25±2.11	0.71±0.31	3.78±2.40	13.78±0.70	16.68±0.98	16.47±0.99
Indolyl	3-Indolylmethyl GSL (Glucobressicin)	1.77±0.41	1.96±0.49	1.72±0.13	0.08±0.02	0.28±0.16	0.94±0.14	1.15±0.10	1.11±0.16
	4-Methoxy-3-indolylmethyl GSL (Methoxyglucobrassicin)	1.37±0.04	1.40±0.16	1.55±0.12	0.68±0.10	0.90±0.20	1.02±0.04	1.13±0.10	0.89±0.20
	Total	3.14±0.41	3.36±0.64	3.26±0.25	0.76±0.12	1.18±0.36	1.96±0.16	2.28±0.19	2.00±0.34
Total		53.5±7.46	57.44±6.03	52.4±6.24	3.71±1.19	14.09±7.60	38.19±1.58	44.95±2.70	45.23±2.74

Data were expressed as mean±SD (n=3).

Table 26. Glucosinolate concentration in broccoli (florets) heated for 30 minutes at different heating temperatures.

(μmol•g DW ⁻¹)										
Class	Glucosinolate (Trivial name)	Control	30°C	40°C	50°C	60°C	70°C	80°C	90°C	99°C
Aliphatic	3-Methylsulfinylpropyl GSL (Glucoiberin)	1.25±0.08	1.01±0.21	1.20±0.08	0.73±0.19	0.00±0.00	0.68±0.07	0.86±0.22	0.83±0.07	0.99±0.23
	(2R)-2-Hydroxy-3-butenyl GSL (Progoitrin)	1.40±0.24	1.10±0.24	1.21±0.20	0.68±0.16	0.00±0.00	0.43±0.05	0.66±0.16	0.71±0.16	0.95±0.20
	4-Methylsulfinylbutyl GSL (Glucoraphanin)	7.80±0.56	6.02±0.91	6.97±0.37	4.84±0.76	1.75±0.40	4.58±0.51	5.24±1.42	4.73±0.41	5.31±1.06
	Total	10.45±0.86	8.13±1.29	9.37±0.64	6.25±1.07	1.75±0.40	5.68±0.62	6.76±1.76	6.27±0.60	7.25±1.44
Indolyl	3-Indolylmethyl GSL (Glucobressicin)	4.08±0.19	3.85±0.32	4.09±0.17	3.32±0.68	0.67±0.12	0.08±0.05	0.12±0.01	0.12±0.01	0.14±0.03
	4-Methoxy-3-indolylmethyl GSL (Methoxyglucobrassicin)	0.84±0.02	0.77±0.06	0.80±0.03	0.77±0.07	0.51±0.02	1.98±0.26	2.69±0.42	2.53±0.41	1.90±0.05
	1-Methoxy-3-indolylmethyl GSL (Neoglucobrassicin)	2.43±0.07	1.62±0.48	1.95±0.30	1.67±0.37	0.19±0.13	0.57±0.06	0.55±0.04	0.46±0.08	0.36±0.03
	Total	7.35±0.24	6.24±0.81	6.84±0.36	5.76±1.10	1.37±0.22	2.63±0.29	3.36±0.47	3.11±0.48	2.39±0.07
Total		17.80±0.85	14.38±1.92	16.22±0.89	12.01±1.58	3.12±0.33	8.31±0.63	10.12±1.93	9.38±1.02	9.63±1.47

Data were expressed as mean±SD (n=3).

Table 27. Glucosinolate concentration in cooked broccoli and cooked water, boiled for four different durations.

(μmol•250 g ⁻¹ of fresh or boiled broccoli when we cooked fresh broccoli)						
Class	Glucosinolate (Trivial name)	Control	88 sec. [0.5B]	176 sec. [B]	264 sec. [1.5B]	352 sec. [2B]
Cooked broccoli	(2S)-2-Hydroxy-3-butenyl GSL (Progoitrin)	19.77±1.90	14.86±1.26	10.34±0.68	9.62±0.43	9.12±0.40
	Aliphatic 4-Methylsulfinylbutyl GSL (Glucoraphanin)	115.72±5.29	119.49±9.60	89.28±4.46	77.17±2.75	74.67±5.83
	Total	135.49±7.01	134.35±10.85	99.62±4.53	86.78±2.35	83.78±6.16
	3-Indolylmethyl GSL (Glucobressicin)	114.41±27.11	70.51±2.76	56.92±7.04	46.48±18.94	33.30±1.65
	Indolyl 4-Methoxy-3-indolylmethyl GSL (Methoxyglucobrassicin)	12.91±2.58	10.88±0.50	9.41±1.27	6.79±4.27	3.94±0.11
	1-Methoxy-3-indolylmethyl GSL (Neoglucobrassicin)	69.88±10.53	28.90±2.68	14.24±2.84	10.40±1.67	9.87±0.43
	Total	197.20±39.82	110.28±5.89	80.57±10.93	63.67±24.80	46.61±2.13
	Total	332.69±44.87	244.63±16.68	180.19±10.80	150.45±22.58	130.39±4.11
(μmol•the cooked water when we boiled broccoli 250 g ⁻¹)						
Class	Glucosinolate (Trivial name)		88 sec. [0.5B]	176 sec. [B]	264 sec. [1.5B]	352 sec. [2B]
Cooked water	(2S)-2-Hydroxy-3-butenyl GSL (Progoitrin)		1.39±0.01	2.59±0.13	2.24±0.09	2.02±0.16
	Aliphatic 4-Methylsulfinylbutyl GSL (Glucoraphanin)		6.34±0.48	8.53±0.86	7.07±0.87	6.68±0.14
	Total		7.74±0.47	11.13±0.74	9.30±0.96	8.70±0.28
	3-Indolylmethyl GSL (Glucobressicin)		7.21±0.90	19.90±1.38	23.13±4.60	19.82±0.50
	Indolyl 4-Methoxy-3-indolylmethyl GSL (Methoxyglucobrassicin)		0.73±0.17	2.61±0.20	2.63±0.37	2.23±0.04
	1-Methoxy-3-indolylmethyl GSL (Neoglucobrassicin)		6.37±0.42	13.18±0.60	13.24±0.73	12.51±0.19
	Total		14.31±1.39	35.69±1.07	39.01±5.50	34.55±0.64
	Total		22.04±0.95	46.81±1.80	48.32±6.33	43.25±0.85

Data were expressed as mean±SD (n=3).
B, Time needed for the central temperature of the broccoli sample cooked in boiling water to reach 95°C.

Table 28. Glucosinolate concentration in broccoli boiled in two different volumes of hot water.

		(μmol·g DW ⁻¹)		
Class	Glucosinolate (Trivial name)	Control	10 times	5 times
Aliphatic	(2R)-2-Hydroxy-3-butenyl GSL (Progoitrin)	0.70±0.02	0.36±0.02	0.30±0.00
	4-Methylsulfinylbutyl GSL (Glucoraphanin)	3.70±0.14	2.85±0.19	2.50±0.15
	Total	4.40±0.13	3.20±0.20	2.80±0.14
Indolyl	3-Indolylmethyl GSL (Glucobressicin)	1.74±0.16	0.97±0.08	0.88±0.04
	4-Methoxy-3-indolylmethyl GSL (Methoxyglucobrassicin)	0.28±0.05	0.13±0.01	0.10±0.00
	1-Methoxy-3-indolylmethyl GSL (Neoglucobrassicin)	1.43±0.07	0.40±0.05	0.41±0.03
	Total	3.44±0.26	1.50±0.14	1.39±0.06
Total		7.84±0.38	4.71±0.33	4.19±0.09

Data were expressed as mean±SD (n=3).

Table 29. Glucosinolate concentration in broccoli cooked by three types of heating methods.

		(μmol • g DW ⁻¹)			
Class	Glucosinolate (Trivial name)	Control	steaming	Superheated steaming	Vacuum cooking
Aliphatic	(2R)-2-Hydroxy-3-butenyl GSL (Progoitrin)	0.97±0.04	1.37±0.04	1.38±0.03	1.18±0.03
	4-Methylsulfinylbutyl GSL (Glucoraphanin)	5.42±0.55	7.52±0.29	8.24±0.25	7.59±0.30
	Total	6.39±0.58	8.90±0.27	9.62±0.27	8.77±0.28
Indolyl	3-Indolylmethyl GSL (Glucobressicin)	3.47±0.32	5.17±0.49	4.87±0.13	4.46±0.26
	4-Methoxy-3-indolylmethyl GSL (Methoxyglucobrassicin)	0.55±0.10	0.66±0.02	0.66±0.04	0.54±0.10
	1-Methoxy-3-indolylmethyl GSL (Neoglucobrassicin)	2.86±0.14	4.63±0.26	4.43±0.18	3.16±0.03
	Total	6.89±0.52	10.45±0.71	9.95±0.23	8.16±0.34
Total		13.28±0.72	19.35±0.57	19.58±0.40	16.93±0.56

Data were expressed as mean±SD (n=3).

Figures

- Figure 1.** Classification of Brassicaceae vegetables.
- Figure 2.** Structure of typical glucosinolates.
- Figure 3.** General diagram showing the main products of enzymatic glucosinolate degradation.
- Figure 4.** Schematic representation of the food production chain and possible causes for variation in levels of bio-active compounds.
- Figure 5.** HPLC-UV chromatogram of desulfo-glucosinolates in cabbage grown in Japan.
- Figure 6.** HPLC-UV chromatogram of desulfo-glucosinolates in Chinese cabbage grown in Japan.
- Figure 7.** HPLC-UV chromatogram of desulfo-glucosinolates in turnip rapa grown in Japan.
- Figure 8.** HPLC-UV chromatogram of desulfo-glucosinolates in turnip leaf grown in Japan.
- Figure 9.** HPLC-UV chromatogram of desulfo-glucosinolates in komatsuna grown in Japan.
- Figure 10.** HPLC-UV chromatogram of desulfo-glucosinolates in mizuna (pothorb mustard) grown in Japan.
- Figure 11.** HPLC-UV chromatogram of desulfo-glucosinolates in qing-geng-cai grown in Japan.
- Figure 12.** HPLC-UV chromatogram of desulfo-glucosinolates in broccoli grown in Japan.
- Figure 13.** HPLC-UV chromatogram of desulfo-glucosinolates in

cauliflower grown in Japan.

Figure 14. HPLC-UV chromatogram of desulfo-glucosinolates in field musturd grown in Japan.

Figure 15. HPLC-UV chromatogram of desulfo-glucosinolates in ta-cai. grown in Japan.

Figure 16. HPLC-UV chiromatogram of desulfo-glucosinolates in broccoli sprout grown in Japan.

Figure 17. HPLC-UV chromatogram of desulfo-glucosinolates in Japanese radish grown in Japan.

Figure 18. HPLC-UV chromatogram of desulfo-glucosinolates in rocket salad grown in Japan.

Figure 19. HPLC-UV chromatogram of desulfo-glucosinolates in watercress grown in Japan.

Figure 20. Cutting methods for cabbages.

Figure 21. Cutting methods for watercress and potherb mustard (mizuna).

Figure 22. Cutting methods for broccolis.

Figure 23. Cutting methods for Japanese radishes.

Figure 24. Change rate of aliphatic and indolyl glucosinolate concentrations in cabbage stored at 5°C for up to 180 min.

Figure 25. Change rate of aliphatic, aromatic and indolyl glucosinolate concentrations in watercress stored at 5°C for up to 180 min.

Figure 26. Change rate of aliphatic, aromatic and indolyl glucosinolate concentrations in potherb mustard (mizuna) stored at 5°C for up to 180 min.

Figure 27. Change rate of aliphatic and indolyl glucosinolate concentrations

in broccoli stored at 5°C for up to 180 min.

Figure 28. Change rate of 4-Methylthio-3-butenyl glucosinolate concentrations in Japanese radish (peeled) stored at 5°C for up to 180 min.

Figure 29. Cutting methods for Japanese radishes.

Figure 30. Change rate of 4-Methylthio-3-butenyl glucosinolate concentrations in peeled or unpeeled Japanese radish cut of different thickness stored at 5°C for up to 180 min.

Figure 31. Relative contents of aliphatic, aromatic, and indolyl glucosinolates in watercress samples heated for 30 min.

Figure 32. Relative contents of aliphatic and indolyl glucosinolates in broccoli samples heated for 30 min.

Figure 33. Relative glucosinolate contents of cooked broccoli samples and the cooking water, expressed as a percentage of the glucosinolate content of uncooked broccoli.

Figure 34. Change in glucosinolate content of cooked broccoli samples boiled in different volumes of hot water.

Figure 35. Heating curve showing the temperature in the central part of broccoli samples cooked in different volumes of hot water.

Figure 36. Change in glucosinolate content of broccoli samples cooked by three different heating methods.

Figure 37. Heating curve showing the temperature in the central part of broccoli samples cooked by three different heating methods.

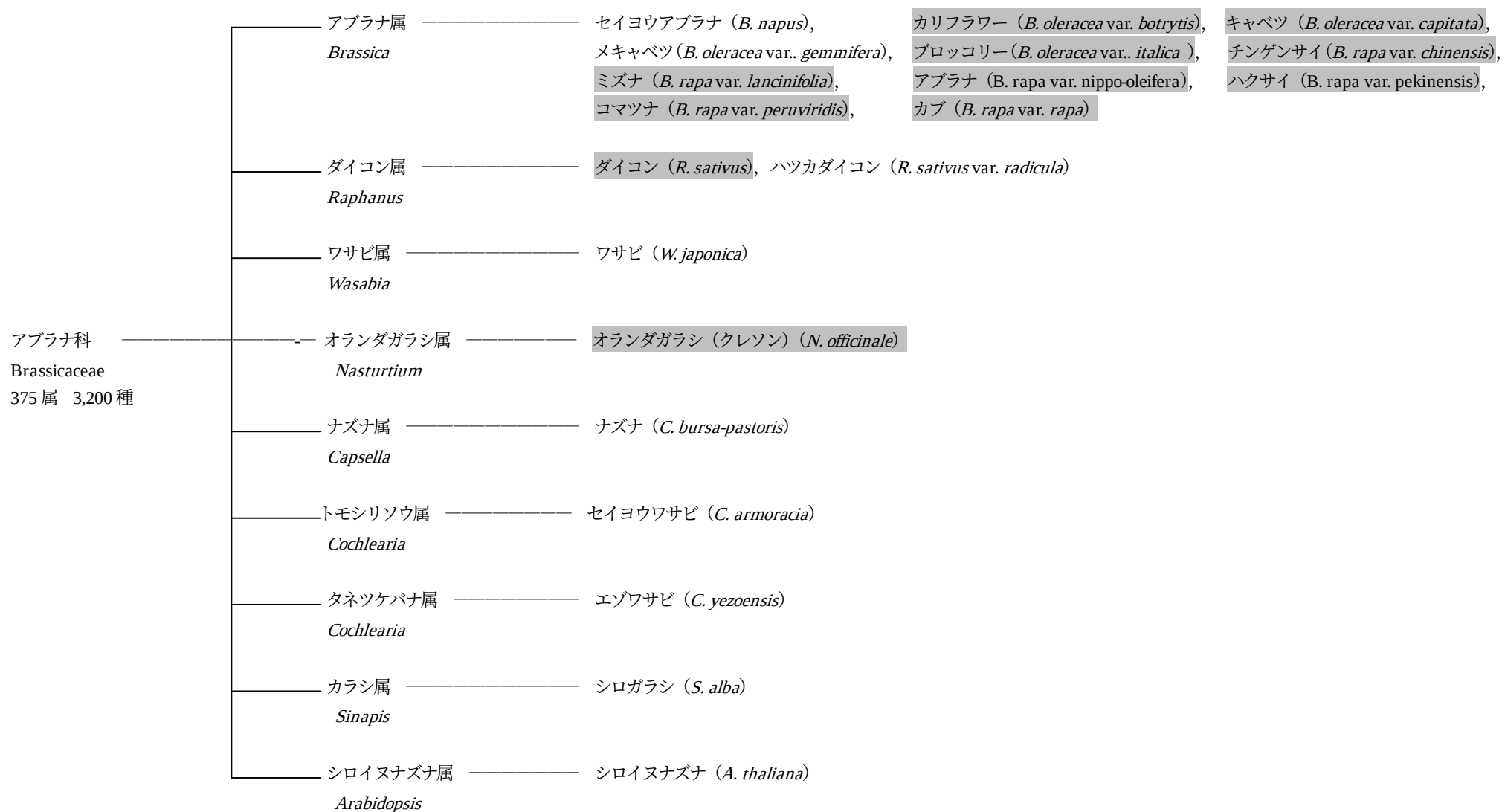
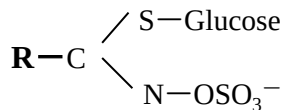


Figure 1. Classification of Brassicaceae vegetables.

食品機能性の科学編集会, 西川研次郎 監修, 木苗直秀 (2008) , アブラナ科野菜 (イソチオシアネートの生理活性) 第1節概説, 食品機能性の科学, (株) 産業技術サービスセンター, 東京, p.233 より引用.

Glucosinolate



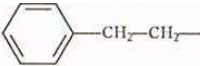
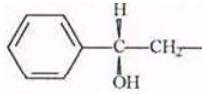
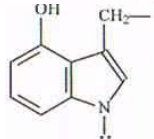
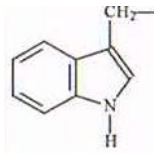
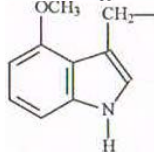
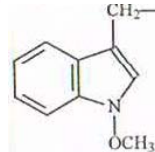
R =	Aliphatic	(2R)-2-Hydroxybut-3-enyl 2-Propenyl 3-Methylsulfinylpropyl 4-Methylsulfinylbutyl 5-Methylsulfinylpentyl 6-Methylsulfinylhexyl 7-Methylsulfinylheptyl 8-Methylsulfinyloctyl 3-Methylthiopropyl 5-Methylthiopentyl 6-Methylthiohexyl 7-Methylthioheptyl 4-Methylthiobut-3-enyl 3-Butenyl 4-Pentenyl 4-Dimericmercaptopbutyl Butyl Isobutyl 1-Methylpropyl	CH₂=CH-CH(OH)-CH₂- CH₂=CH-CH₂- CH₃(SO)-CH₂-CH₂-CH₂- CH₃(SO)-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂- CH₃(SO)-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂- CH₃(SO)-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂- CH₃(SO)-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂- CH₃(SO)-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂- CH₃S-CH₂-CH₂-CH₂- CH₃S-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂- CH₃S-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂- CH₃S-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂- CH₃S-CH=CH-CH₂-CH₂- CH₂=CH-CH₂-CH₂- CH₂=CH-CH₂-CH₂-CH₂- CH₃-CH₂-CH₂-CH₂- (CH₃)₂-CH-CH₂- CH₃-CH(CH₂-CH₃)-
	Aromatic	Phenethyl  (2S)-2-Hydroxy-2-phenylethyl 	4-(β-D-glucopyranosyldisulfanyl)butyl
	Indolyl	4-Hydroxy-3-indolylmethyl  3-Indolylmethyl  4-Methoxy-3-indolylmethyl  1-Methoxy-3-indolylmethyl 	

Figure 2. Structure of typical glucosinolates.

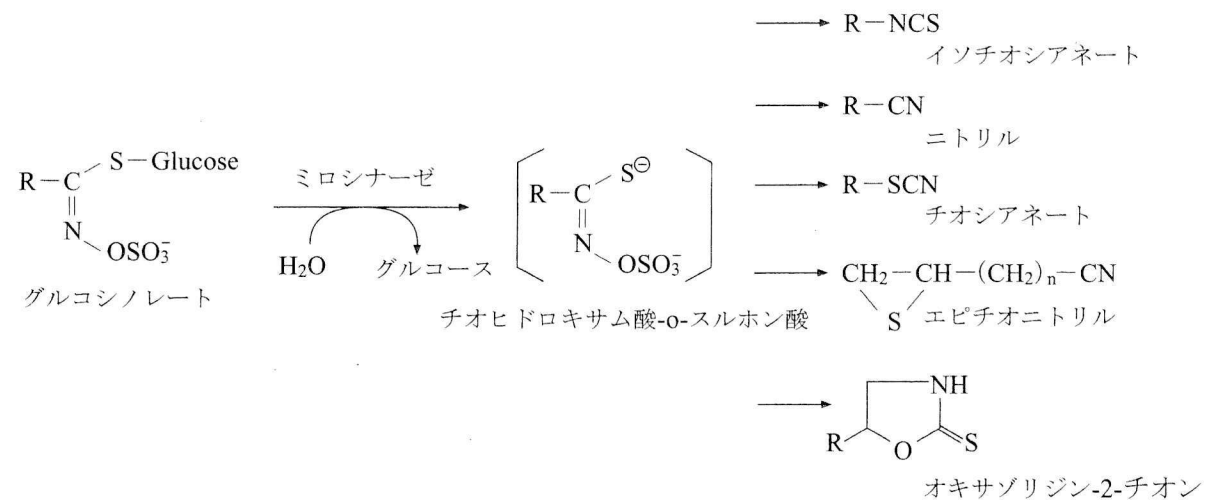


Figure 3. General diagram showing the main products of enzymatic glucosinolate degradation.

食品機能性の科学編集会，西川研次郎監修，宇田清，橋本啓（2008），イソチオシアネートなどの組成と性質，食品機能性の科学，(株)産業技術サービスセンター，東京，p. 237-238 より引用

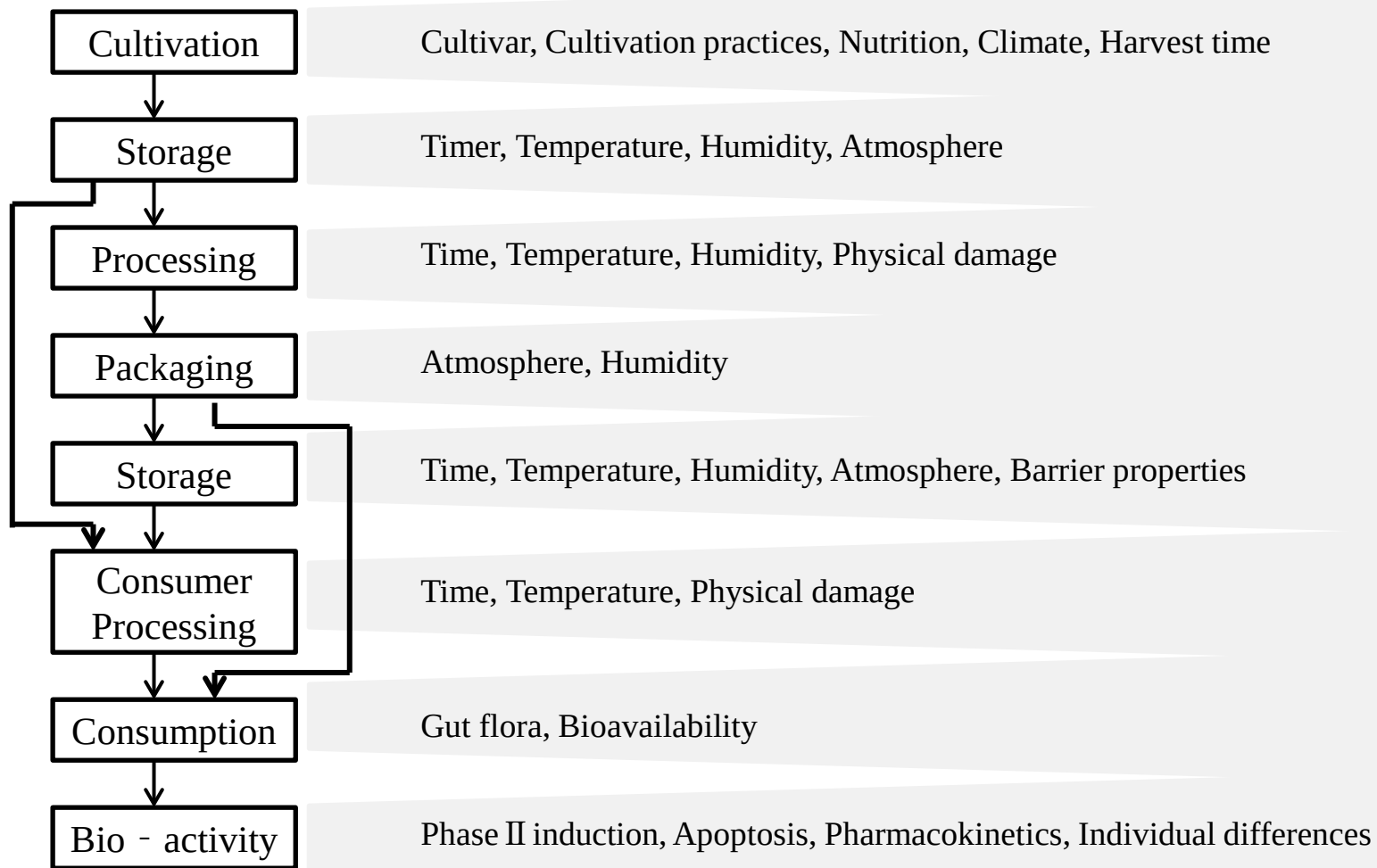


Figure 4. Schematic representation of the food production chain and possible causes for variation in levels of bio-active compounds.

Quoted from Deller M, Verkerk R. and Jongen W. M. F. (2000), Predictive modelling of health aspects in the food production chain: a case study on glucosinolates in cabbage, *Trends in Food Science & Technology*, 11, 174-181.

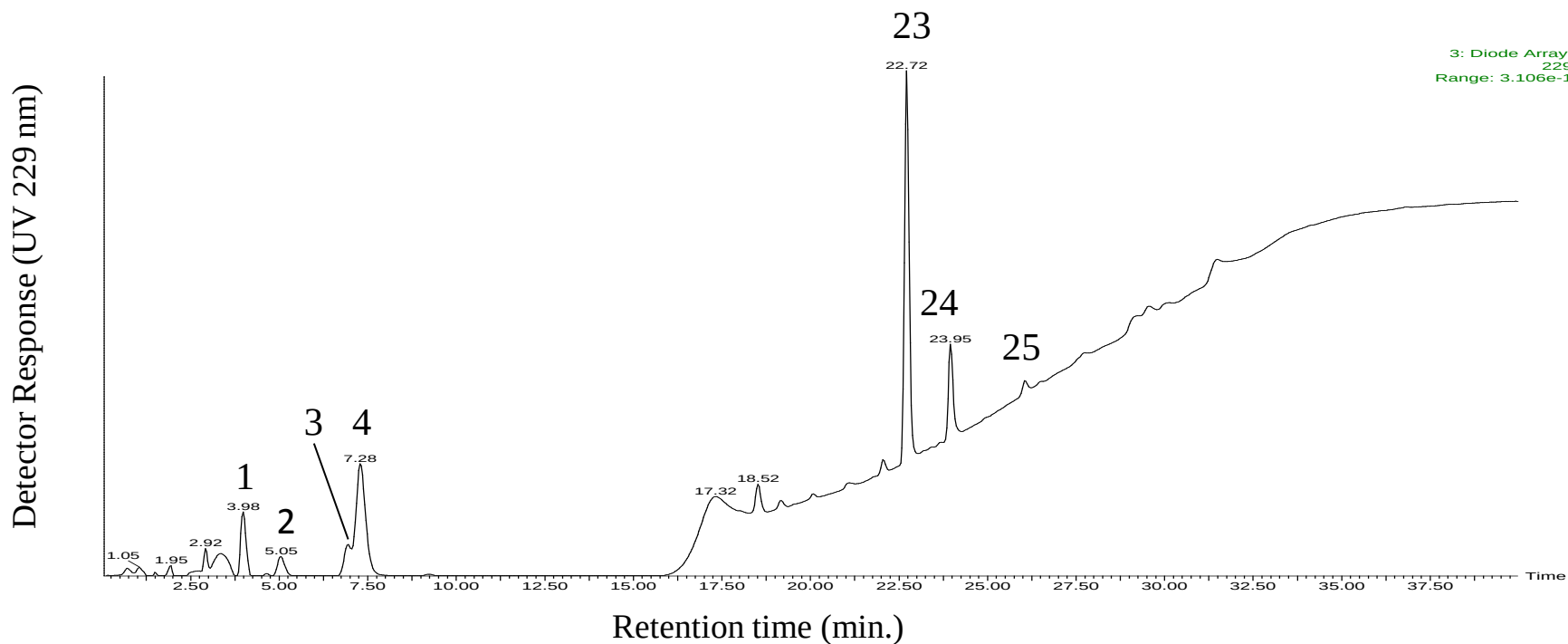


Figure 5. HPLC - UV chromatogram of desulfo-glucosinolates in cabbage grown in Japan.

Peak number: 1, 3-Methylsulfinylpropyl DS-GSL; 2, (2R)-2-Hydroxy-3-butenyl DS-GSL; 3, 2-Propenyl DS-GSL; 4, 4-Methylsulfinylbutyl DS-GSL; 23, 3-Indolylmethyl DS-GSL; 24, 4-Methoxy-3-indolylmethyl DS-GSL; 25, 1-Methoxy-3-indolylmethyl DS-GSL.

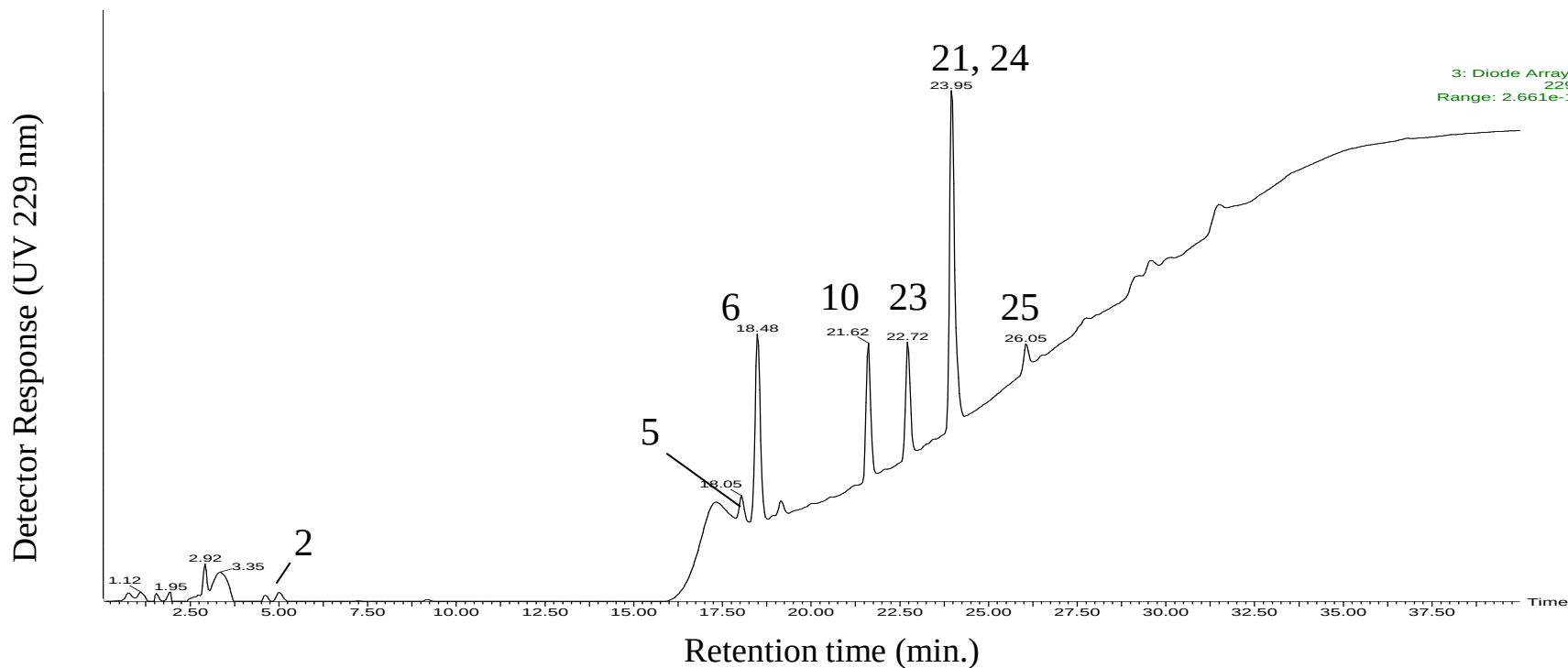


Figure 6. HPLC-UV chromatogram of desulfo-glucosinolates in Chinese cabbage grown in Japan.

Peak number: 2, (2R)-2-Hydroxy-3-butenyl DS-GSL; 5, 5-Methylsulfinylpentyl DS-GSL; 6, 3-Butenyl DS-GSL; 10, 4-Pentenyl DS-GSL; 21, Phenethyl DS-GSL; 23, 3-Indolylmethyl DS-GSL; 24, 4-Methoxy-3-indolylmethyl DS-GSL; 25, 1-Methoxy-3-indolylmethyl DS-GSL.

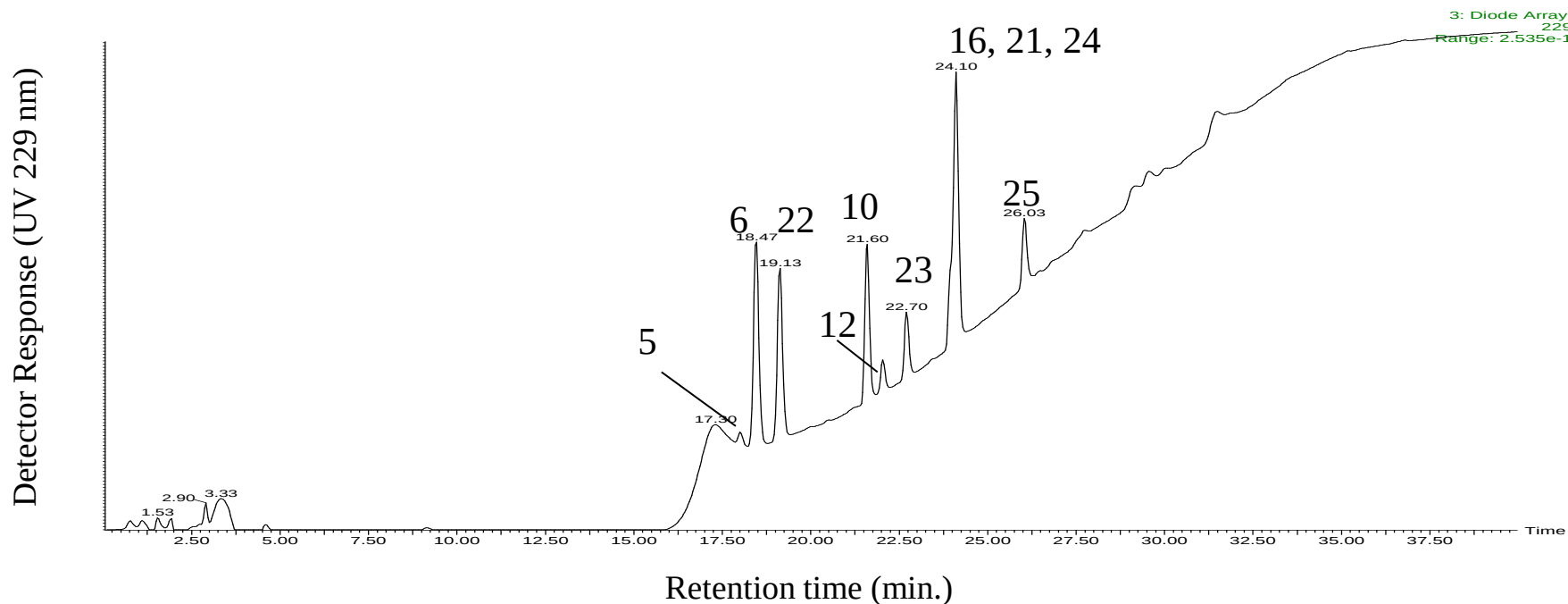


Figure 7. HPLC-UV chromatogram of desulfo-glucosinolates in turnip rapa grown in Japan.

Peak number: 5, 5-Methylsulfinylpentyl DS-GSL; 6, 3-Butenyl DS-GSL; 10, 4-Pentenyl DS-GSL; 12, 4-Methylthiobutyl DS-GSL; 16, 5-Methylthiopentyl DS-GSL; 21, Phenethyl DS-GSL; 22, 4-Hydroxy-3-indolylmethyl DS-GSL; 23, 3-Indolylmethyl DS-GSL; 24, 4-Methoxy-3-indolylmethyl DS-GSL; 25, 1-Methoxy-3-indolylmethyl DS-GSL.

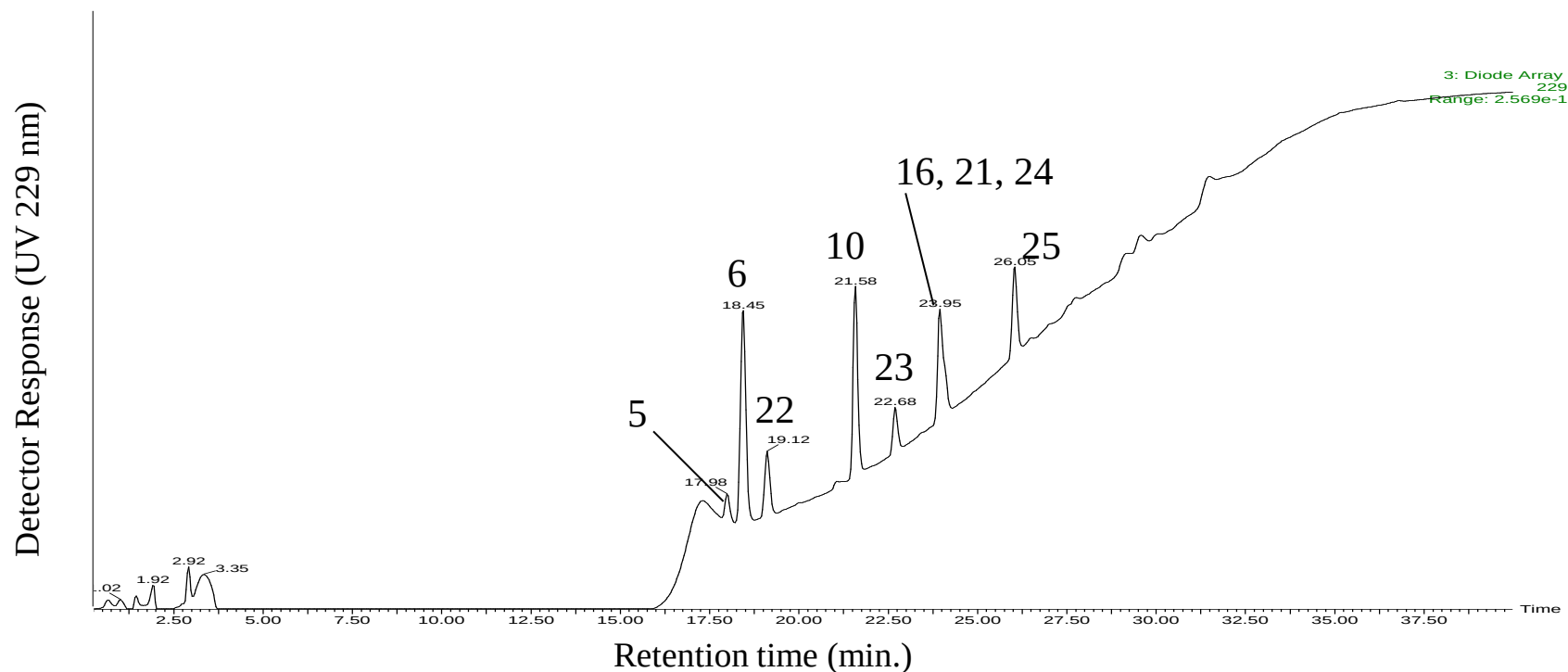


Figure 8. HPLC-UV chromatogram of desulfo-glucosinolates in turnip leaf grown in Japan.

Peak number: 5, 5-Methylsulfinylpentyl DS-GSL; 6, 3-Butenyl DS-GSL; 10, 4-Pentenyl DS-GSL; 16, 5-Methylthiopentyl DS-GSL; 21, Phenethyl DS-GSL; 22, 4-Hydroxy-3-indolylmethyl DS-GSL; 23, 3-Indolylmethyl DS-GSL; 24, 4-Methoxy-3-indolylmethyl DS-GSL; 25, 1-Methoxy-3-indolylmethyl DS-GSL.

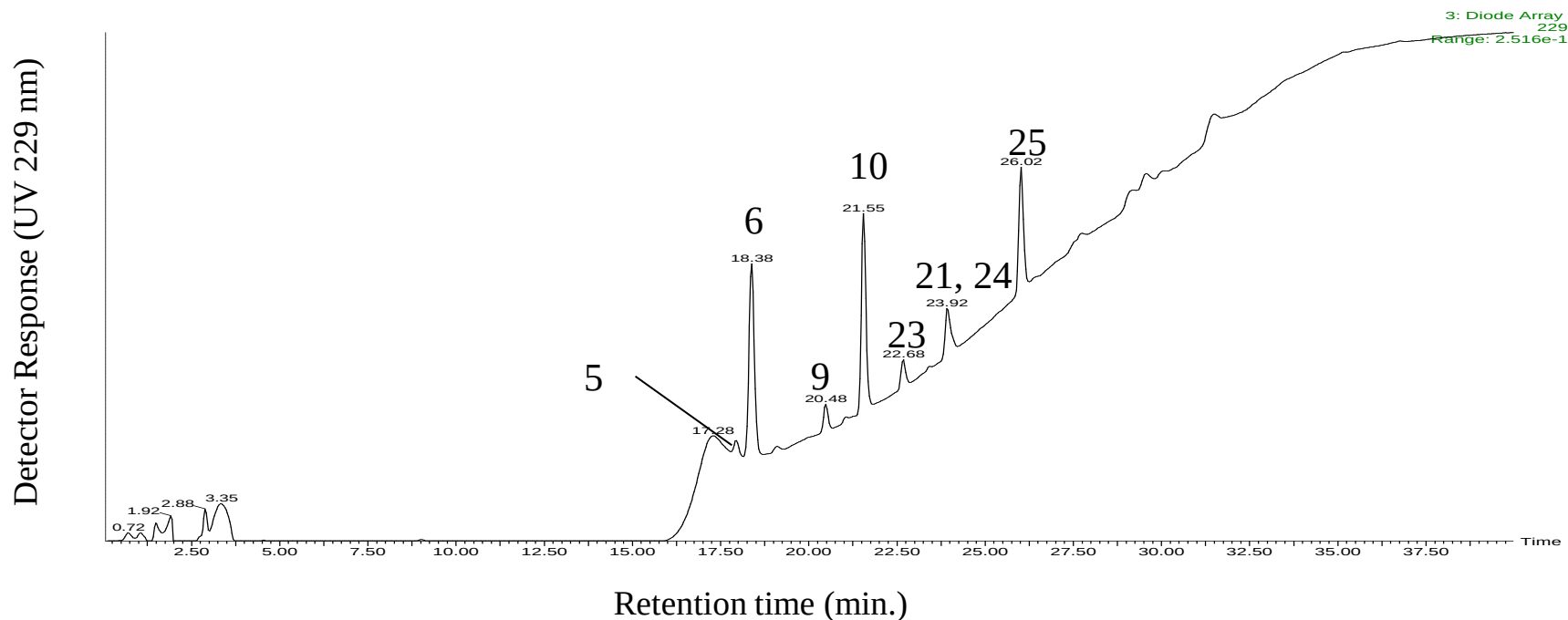


Figure 9. HPLC-UV chromatogram of desulfo-glucosinolates in komatsuna grown in Japan.

Peak number: 5, 5-Methylsulfinylpentyl DS-GSL; 6, 3-Butenyl DS-GSL; 9, Butyl DS-GSL, Isobutyl DS-GSL, or 1-Methylpropyl DS-GSL; 10, 4-Pentenyl DS-GSL; 21, Phenethyl DS-GSL; 23, 3-Indolylmethyl DS-GSL; 24, 4-Methoxy-3-indolylmethyl DS-GSL; 25, 1-Methoxy-3-indolylmethyl DS-GSL.

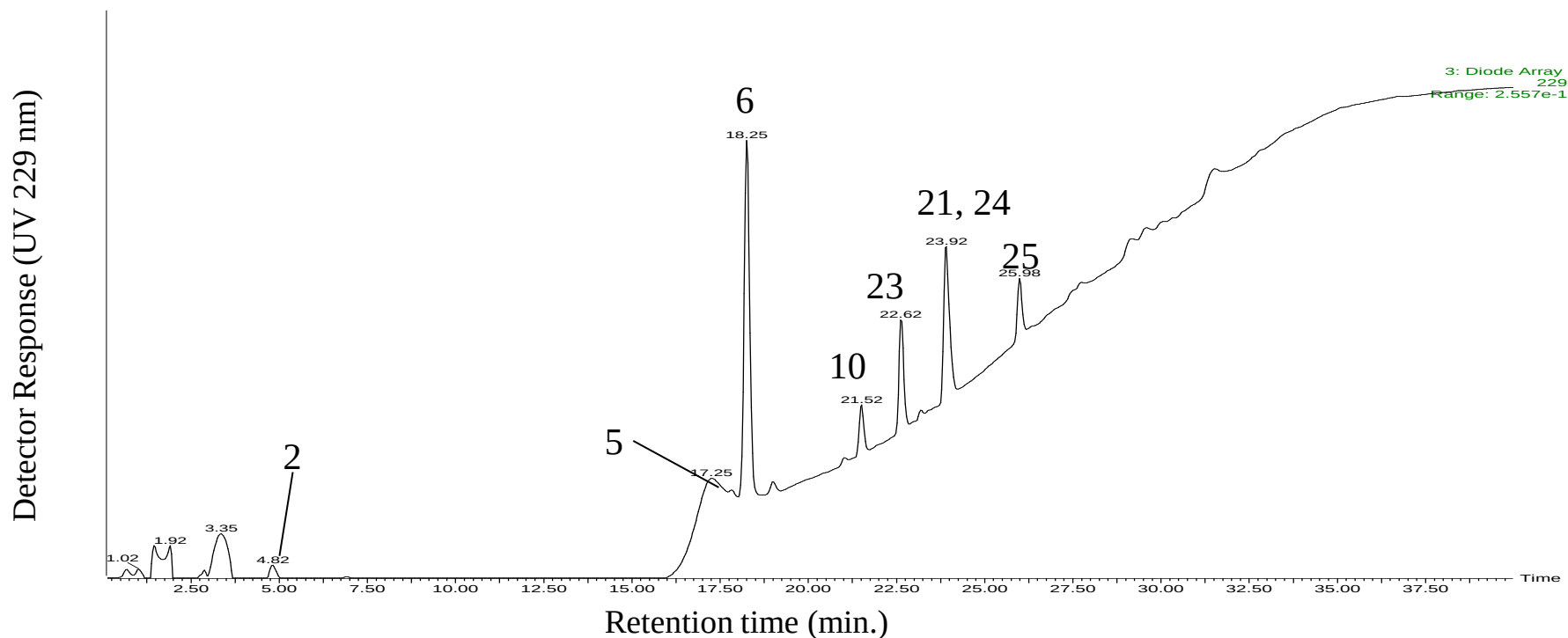


Figure 10. HPLC-UV chromatogram of desulfo-glucosinolates in mizuna (potherb mustard) grown in Japan.

Peak number: 2, (2R)-2-Hydroxy-3-butenyl DS-GSL; 5, 5-Methylsulfinylpentyl DS-GSL; 6, 3-Butenyl DS-GSL; 10, 4-Pentenyl DS-GSL; 21, Phenethyl DS-GSL; 23, 3-Indolylmethyl DS-GSL; 24, 4-Methoxy-3-indolylmethyl DS-GSL; 25, 1-Methoxy-3-indolylmethyl DS-GSL.

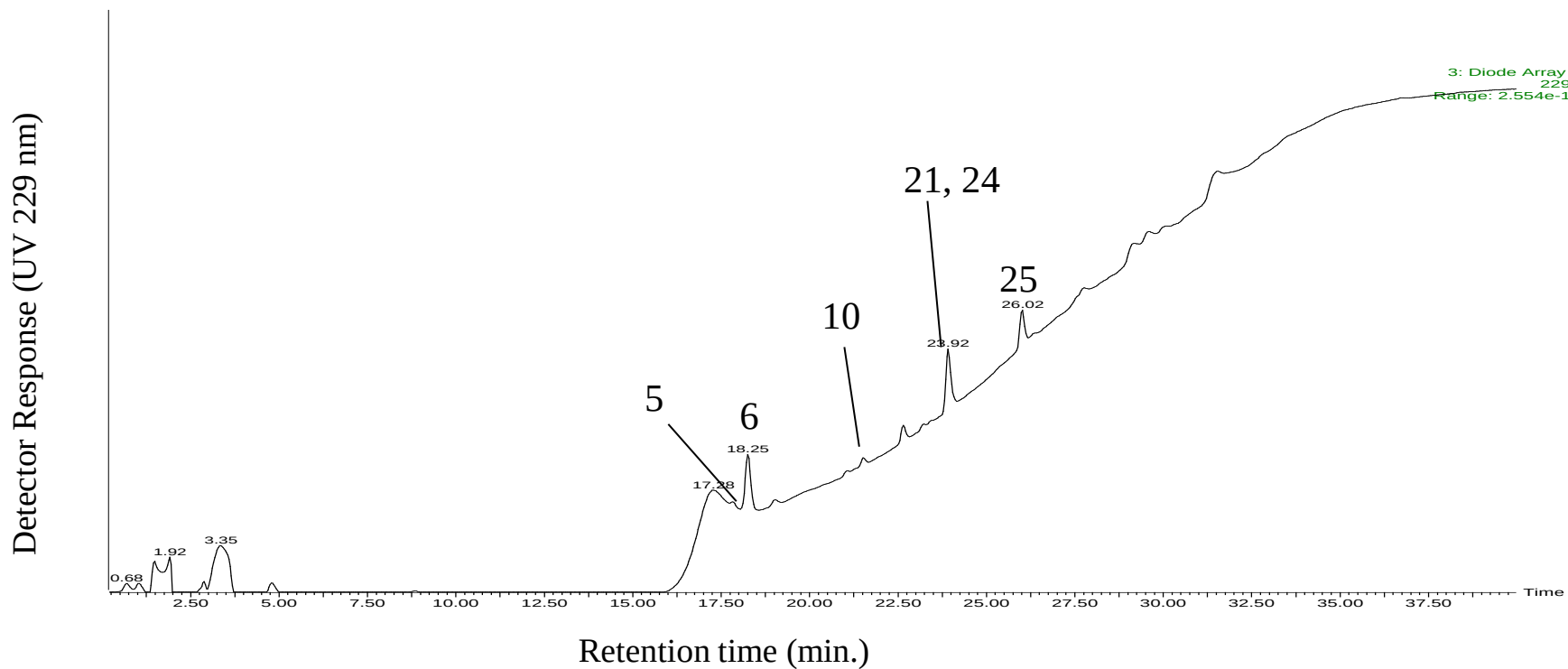


Figure 11. HPLC-UV chromatogram of desulfo-glucosinolates in qing-geng-cai grown in Japan.

Peak number: 5, 5-Methylsulfinylpentyl DS-GSL; 6, 3-Butenyl DS-GSL; 10, 4-Pentenyl DS-GSL; 21, Phenethyl DS-GSL; 24, 4-Methoxy-3-indolylmethyl DS-GSL; 25, 1-Methoxy-3-indolylmethyl DS-GSL.

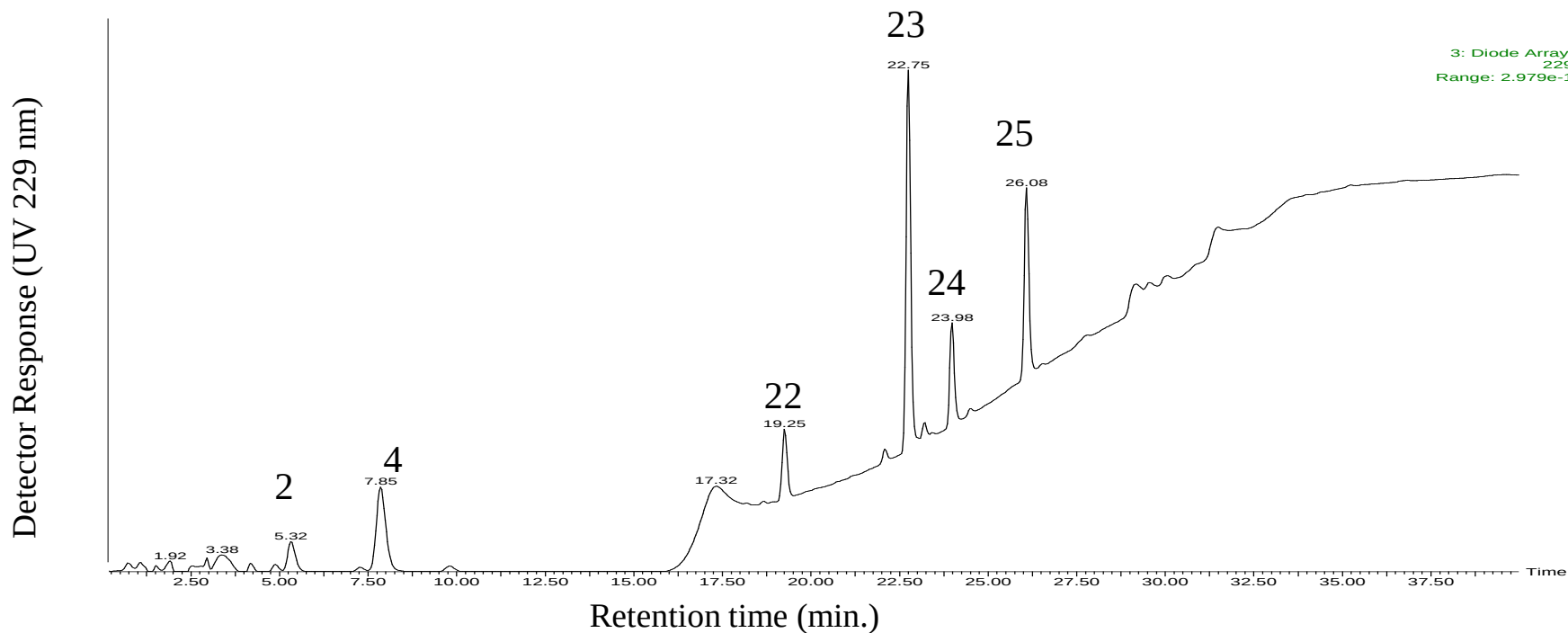


Figure 12. HPLC-UV chromatogram of desulfo-glucosinolates in broccoli grown in Japan.

Peak number: 2, (2R)-2-Hydroxy-3-butenyl DS-GSL; 4, 4-Methylsulfinylbutyl DS-GSL; 22, 4-Hydroxy-3-indolylmethyl DS-GSL; 23, 3-Indolylmethyl DS-GSL; 24, 4-Methoxy-3-indolylmethyl DS-GSL; 25, 1-Methoxy-3-indolylmethyl DS-GSL.

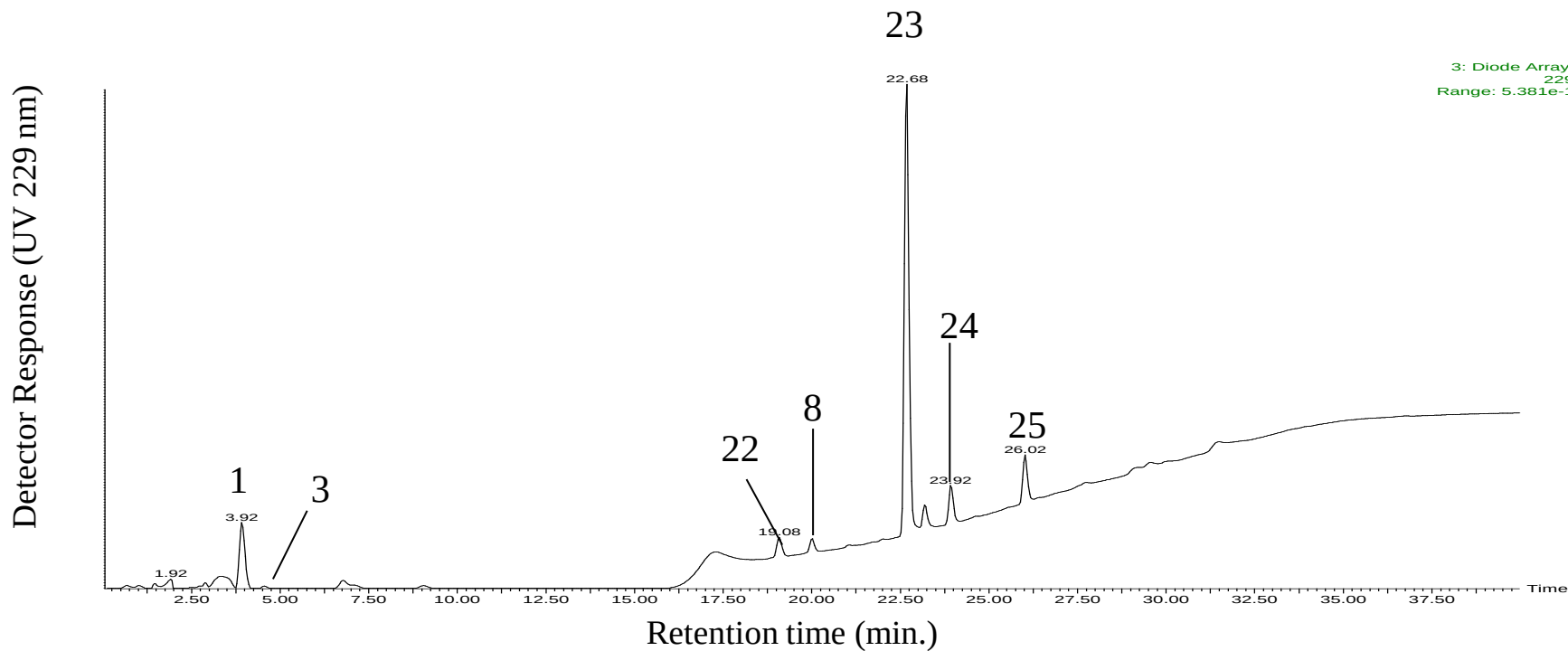


Figure 13. HPLC-UV chromatogram of desulfo-glucosinolates in cauliflower grown in Japan.

Peak number: 1, 3-Methylsulfinylpropyl DS-GSL; 3, 2-Propenyl DS-GSL; 8, 3-Methylthioethyl DS-GSL; 22, 4-Hydroxy-3-indolylmethyl DS-GSL; 23, 3-Indolylmethyl DS-GSL; 24, 4-Methoxy-3-indolylmethyl DS-GSL; 25, 1-Methoxy-3-indolylmethyl DS-GSL.

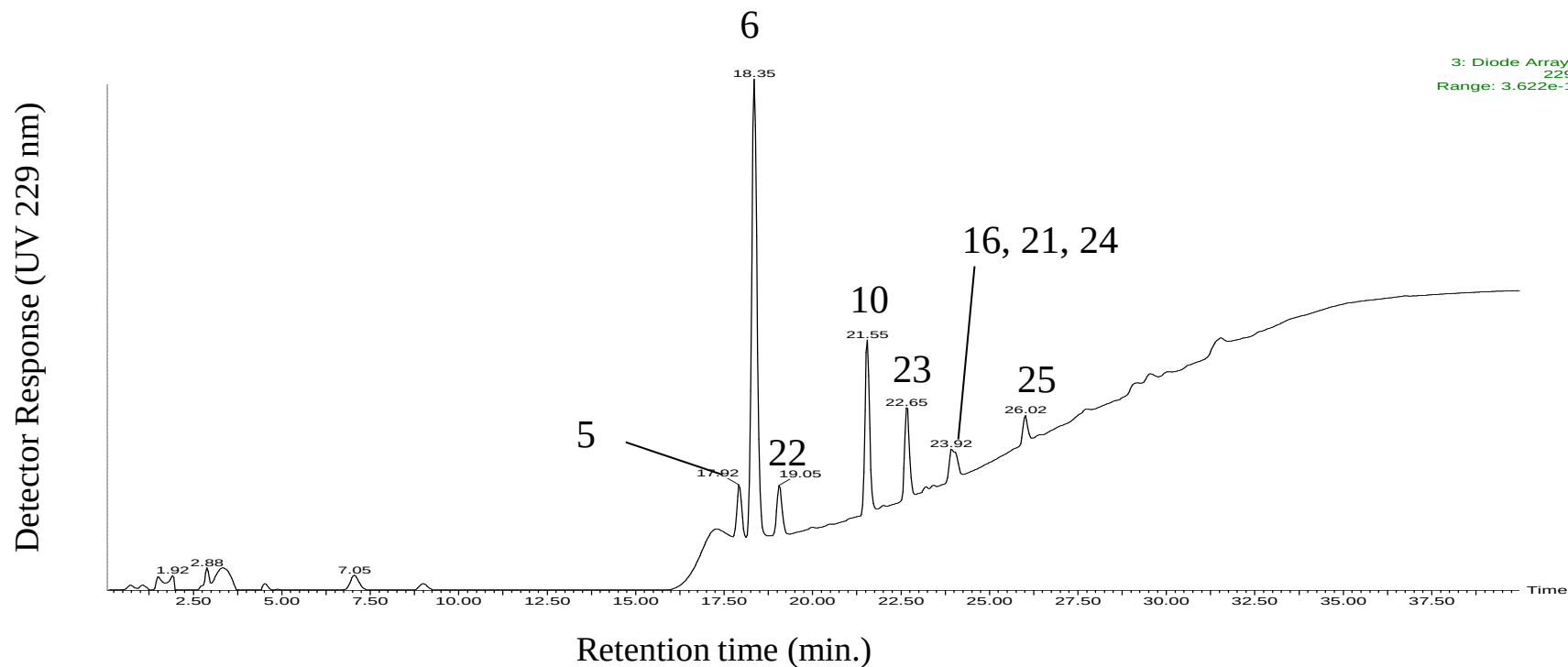


Figure 14. HPLC-UV chromatogram of desulfo-glucosinolates in field mustard grown in Japan.

Peak number: 5, 5-Methylsulfinylpentyl DS-GSL; 6, 3-Butenyl DS-GSL; 10, 4-Pentenyl DS-GSL; 16, 5-Methylthiopentyl DS-GSL; 21, Phenethyl DS-GSL; 22, 4-Hydroxy-3-indolylmethyl DS-GSL; 23, 3-Indolylmethyl DS-GSL; 24, 4-Methoxy-3-indolylmethyl DS-GSL; 25, 1-Methoxy-3-indolylmethyl DS-GSL.

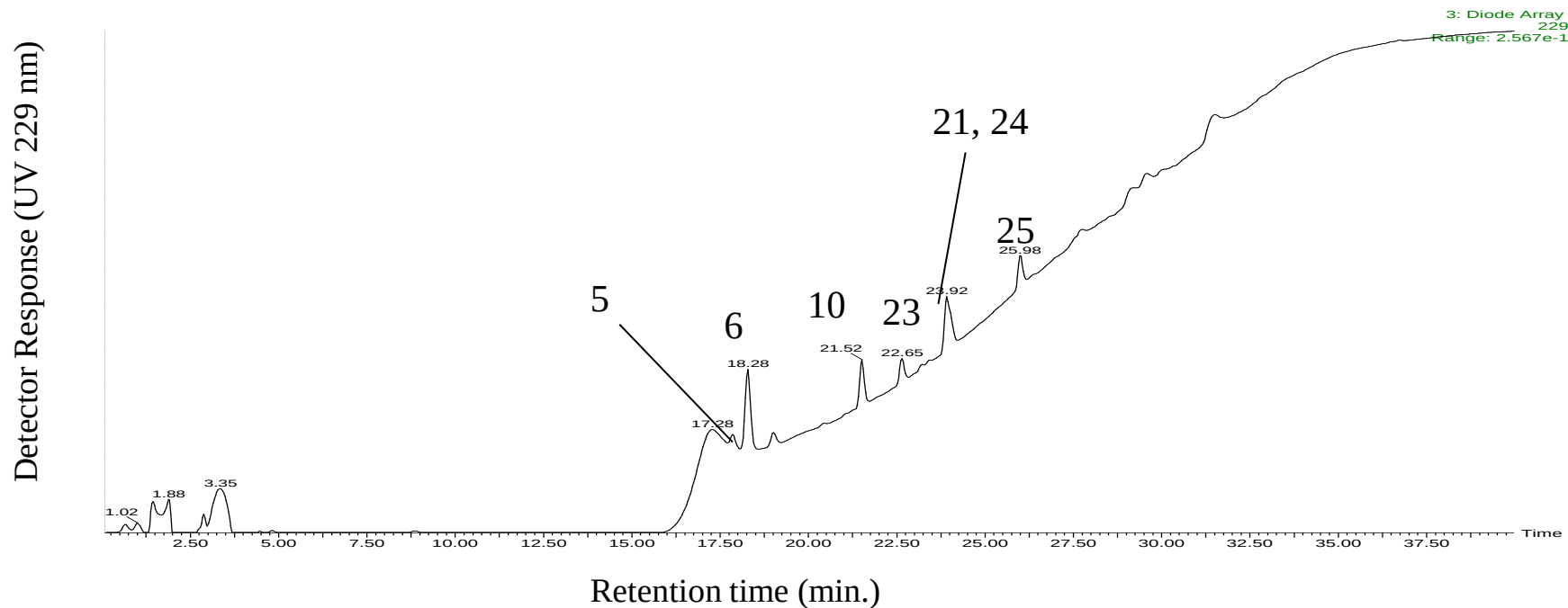


Figure 15. HPLC-UV chromatogram of desulfo-glucosinolates in ta-cai grown in Japan.

Peak number: 5, 5-Methylsulfinylpentyl DS-GSL; 6, 3-Butenyl DS-GSL; 10, 4-Pentenyl DS-GSL; 21, Phenethyl DS-GSL; 23, 3-Indolylmethyl DS-GSL; 24, 4-Methoxy-3-indolylmethyl DS-GSL; 25, 1-Methoxy-3-indolylmethyl DS-GSL.

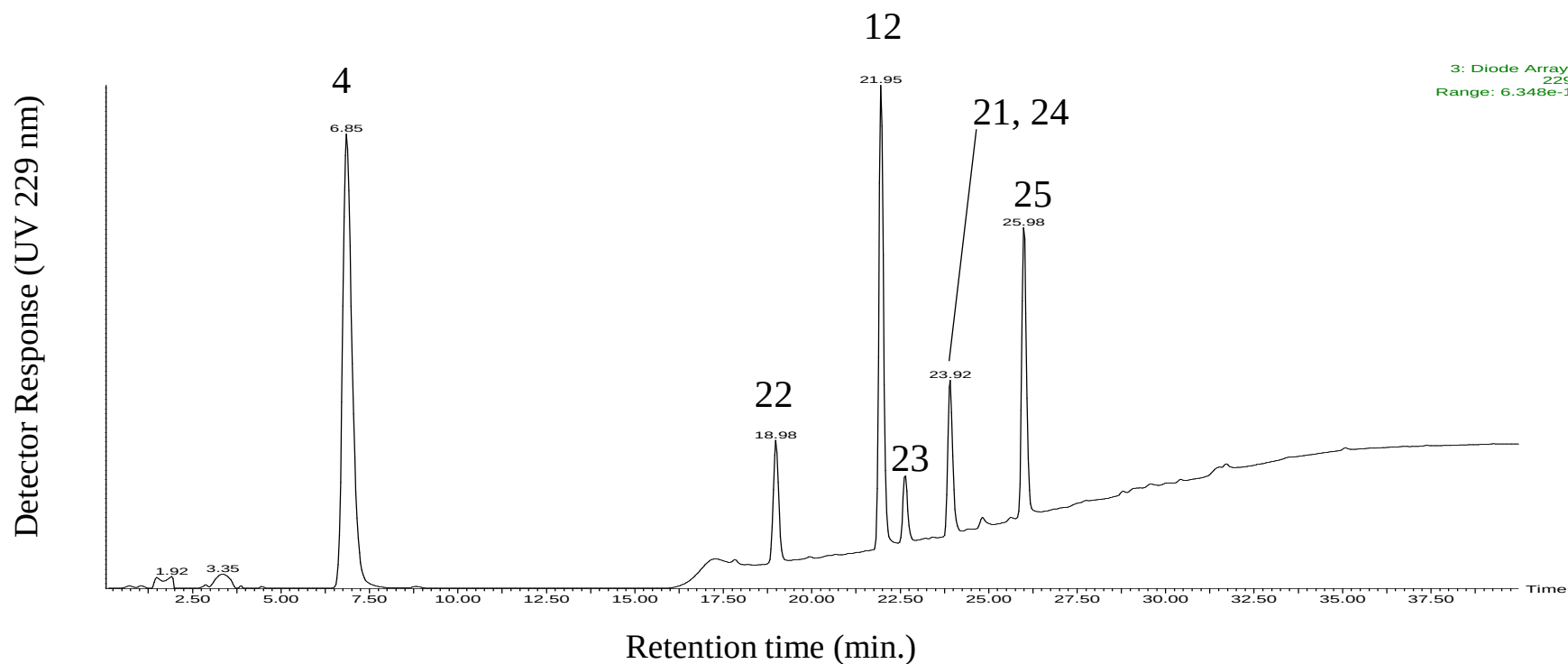


Figure 16. HPLC-UV chromatogram of desulfo-glucosinolates in broccoli sprout grown in Japan.

Peak number: 4, 4-Methylsulfinylbutyl DS-GSL; 12, 4-Methylthioethyl DS-GSL; 21, Phenethyl DS-GSL; 22, 4-Hydroxy-3-indolylmethyl DS-GSL; 23, 3-Indolylmethyl DS-GSL; 24, Methoxy-3-indolylmethyl DS-GSL; 25, 1-Methoxy-3-indolylmethyl DS-GSL.

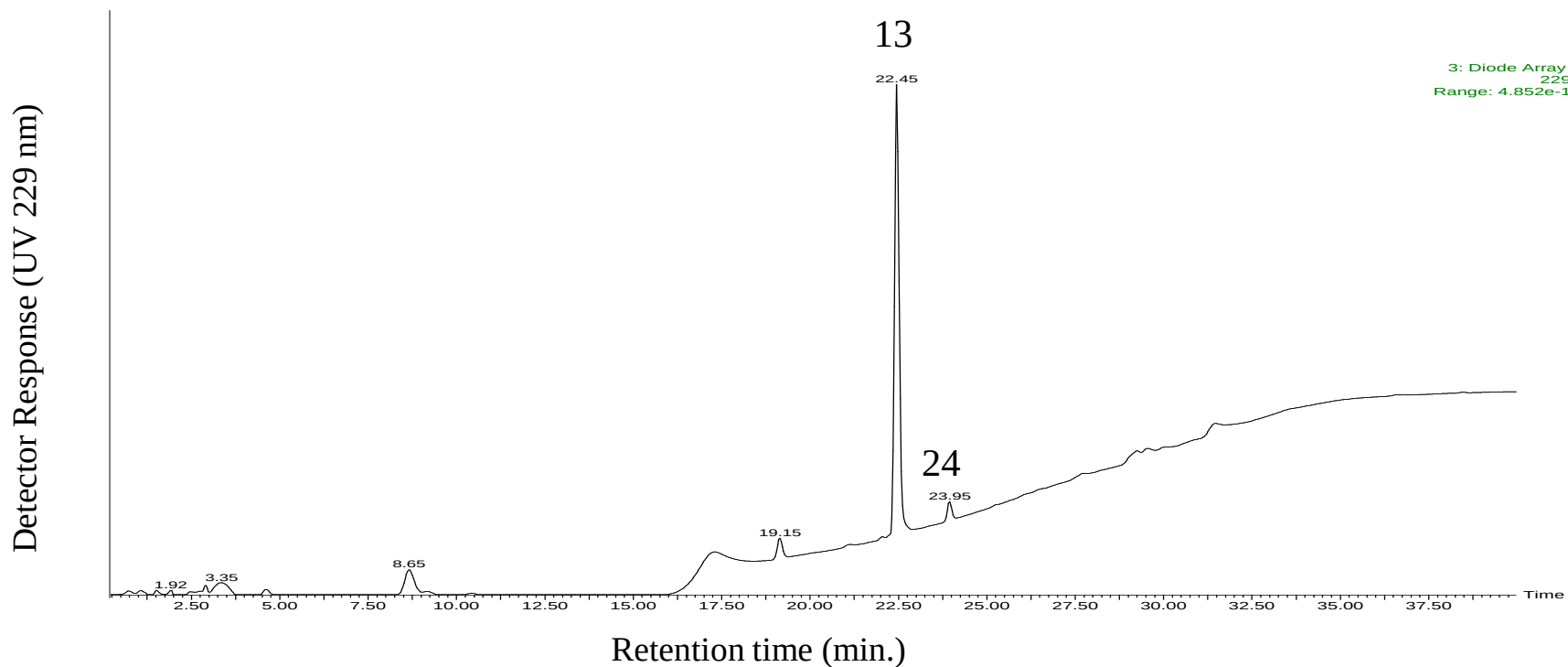


Figure 17. HPLC-UV chromatogram of desulfo-glucosinolates in Japanese radish grown in Japan.

Peak number: 13, 4-Methylthio-3-butenyl DS-GSL; 24, 4-Methoxy-3-indolylmethyl DS-GSL.

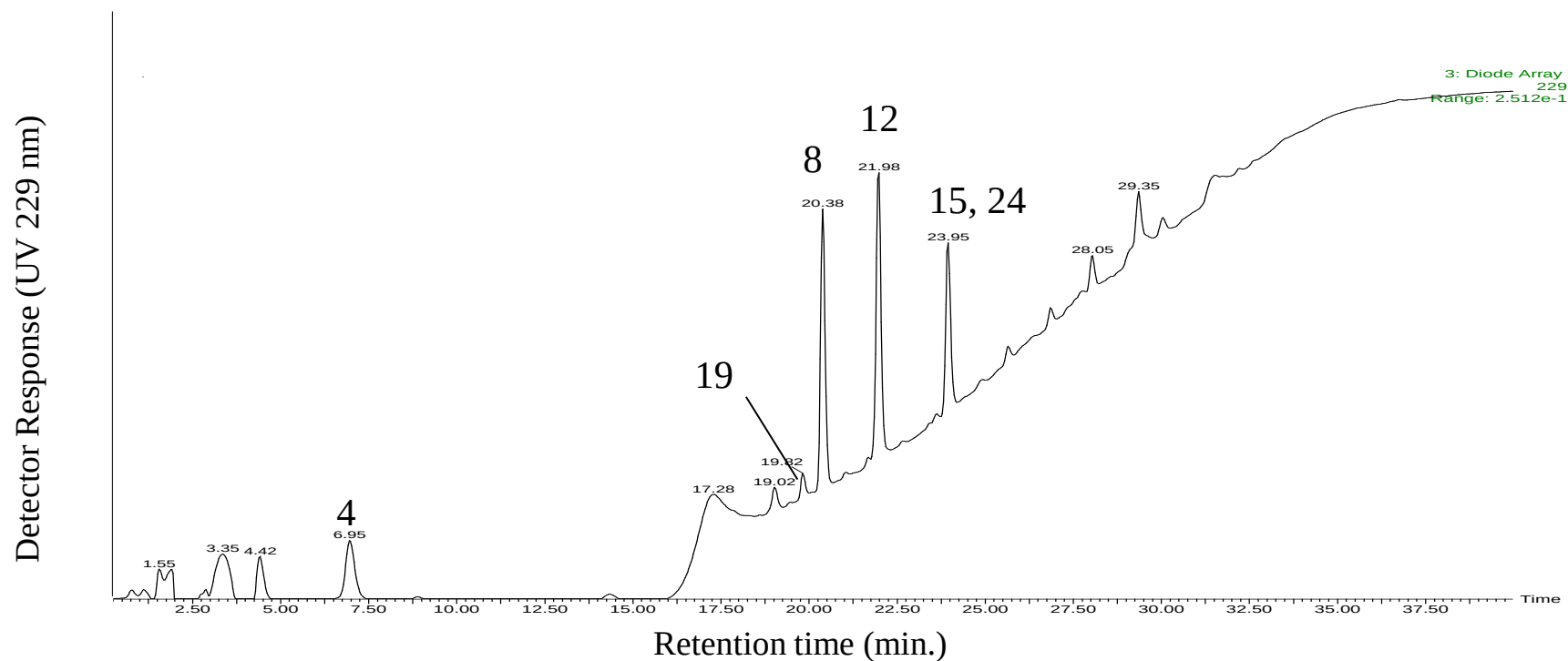


Figure 18. HPLC-UV chromatogram of desulfo-glucosinolates in rocket salad grown in Japan.

Peak number: 4, 4-Methylsulfinylbutyl DS-GSL; 8, 3-Methylthioethyl DS-GSL; 12, 4-Methylthiobutyl DS-GSL; 15, Dimeric-4-mercaptopbutyl DS-GSL; 19, 4-(β -D-glucopyranosyldisulfanyl) butyl DS-GSL; 24, 4-Methoxy-3-indolylmethyl DS-GSL.

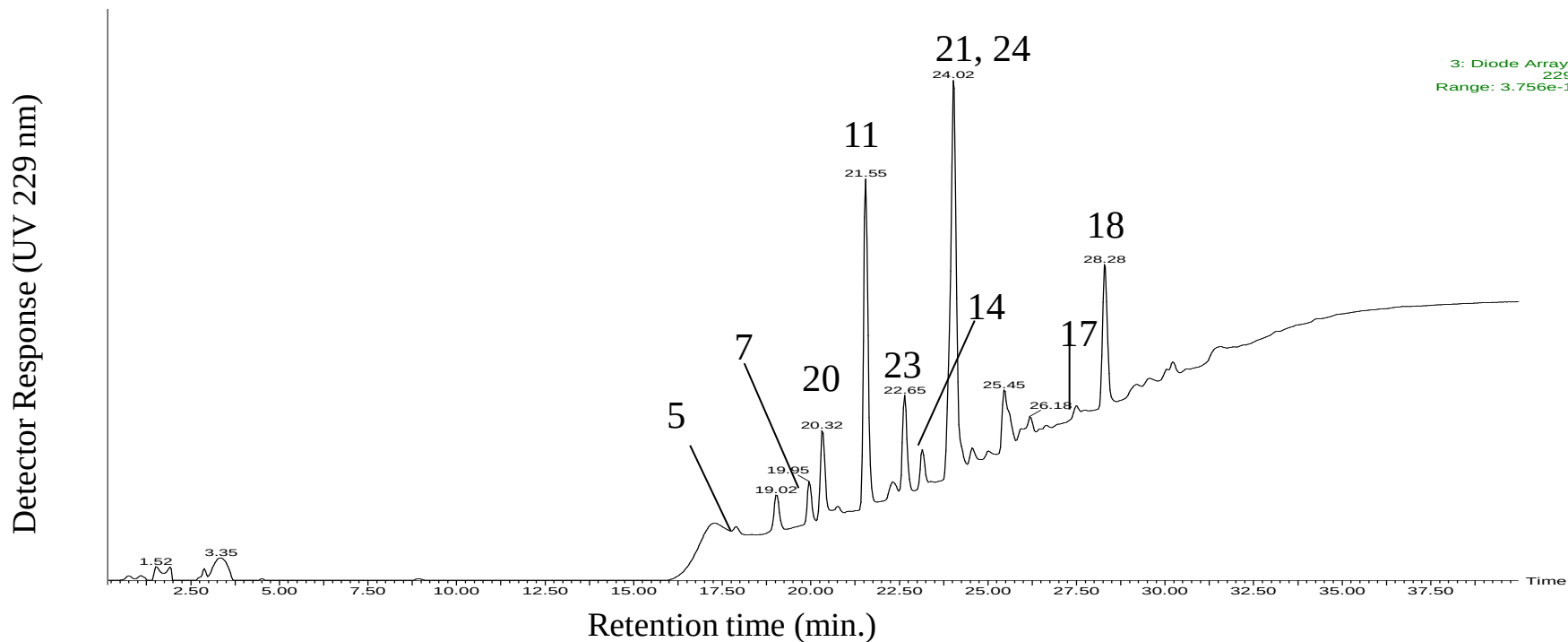


Figure 19. HPLC-UV chromatogram of desulfo-glucosinolates in watercress grown in Japan.

Peak number: 5, 5-Methylsulfinylpentyl DS-GSL; 7, 6-Methylsulfinylhexyl DS-GSL; 11, 7-Methylsulfinylheptyl DS-GSL; 14, 8-Methylsulfinyloctyl DS-GSL; 17, 6-Methylthiohexyl DS-GSL; 18, 7-Methylthioheptyl DS-GSL; 20, (2S)-2-Hydroxy-2-phenylethyl DS-GSL; 21, Phenethyl DS-GSL; 23, 3-Indolylmethyl DS-GSL; 24, 4-Methoxy-3-indolylmethyl DS-GSL.

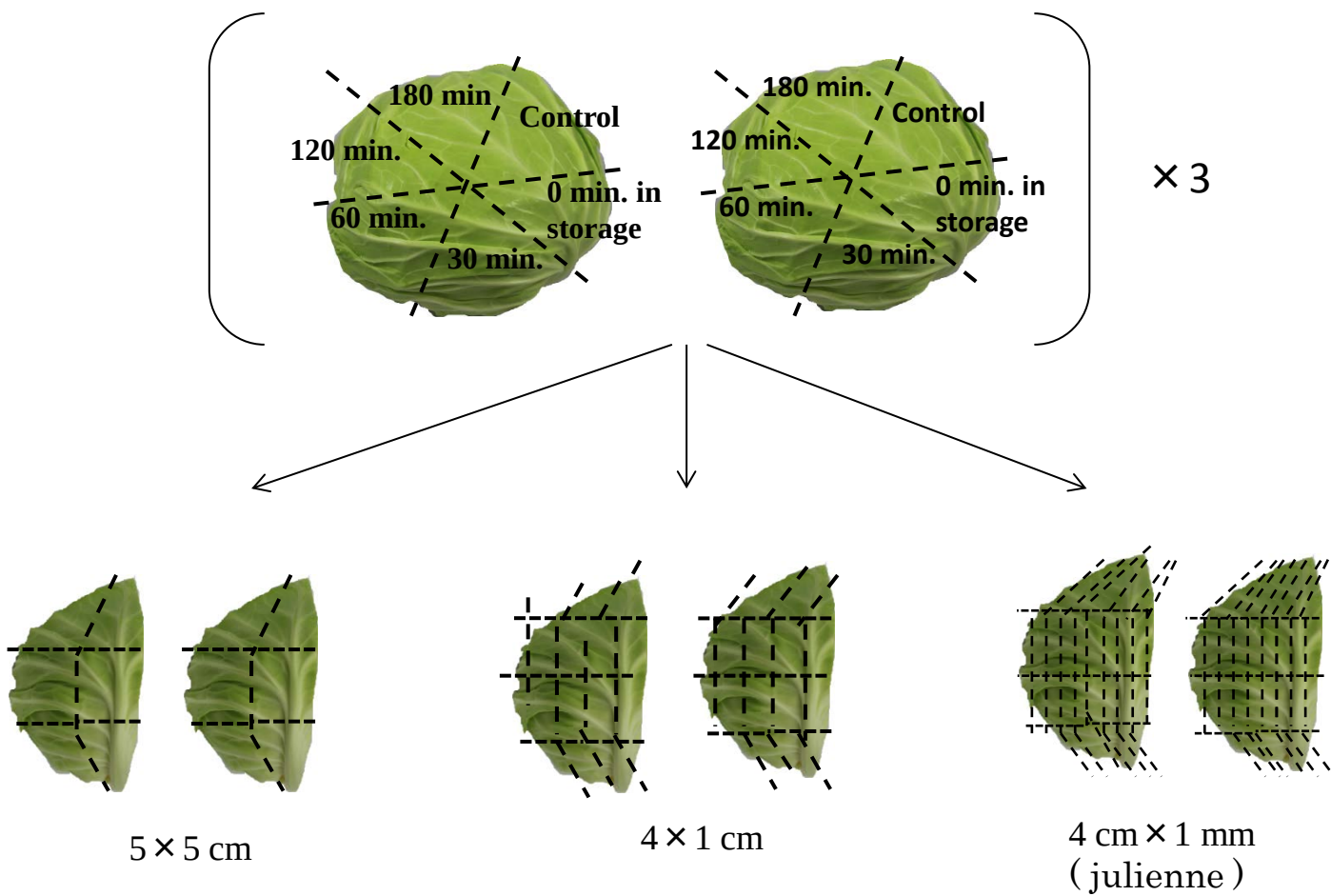
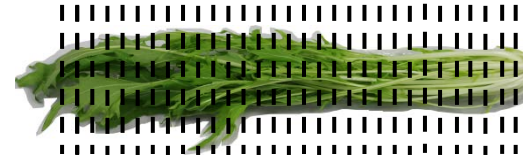
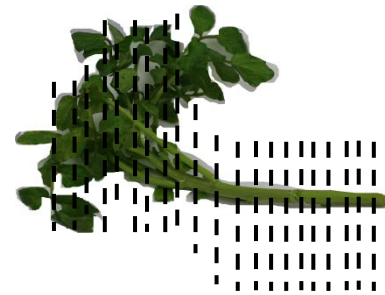
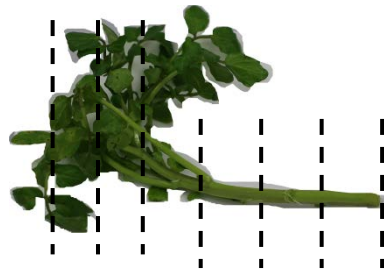


Figure 20. Cutting methods for cabbages.



4 cm long

1 cm long

Figure 21. Cutting methods for watercress and potherb mustard (mizuna).

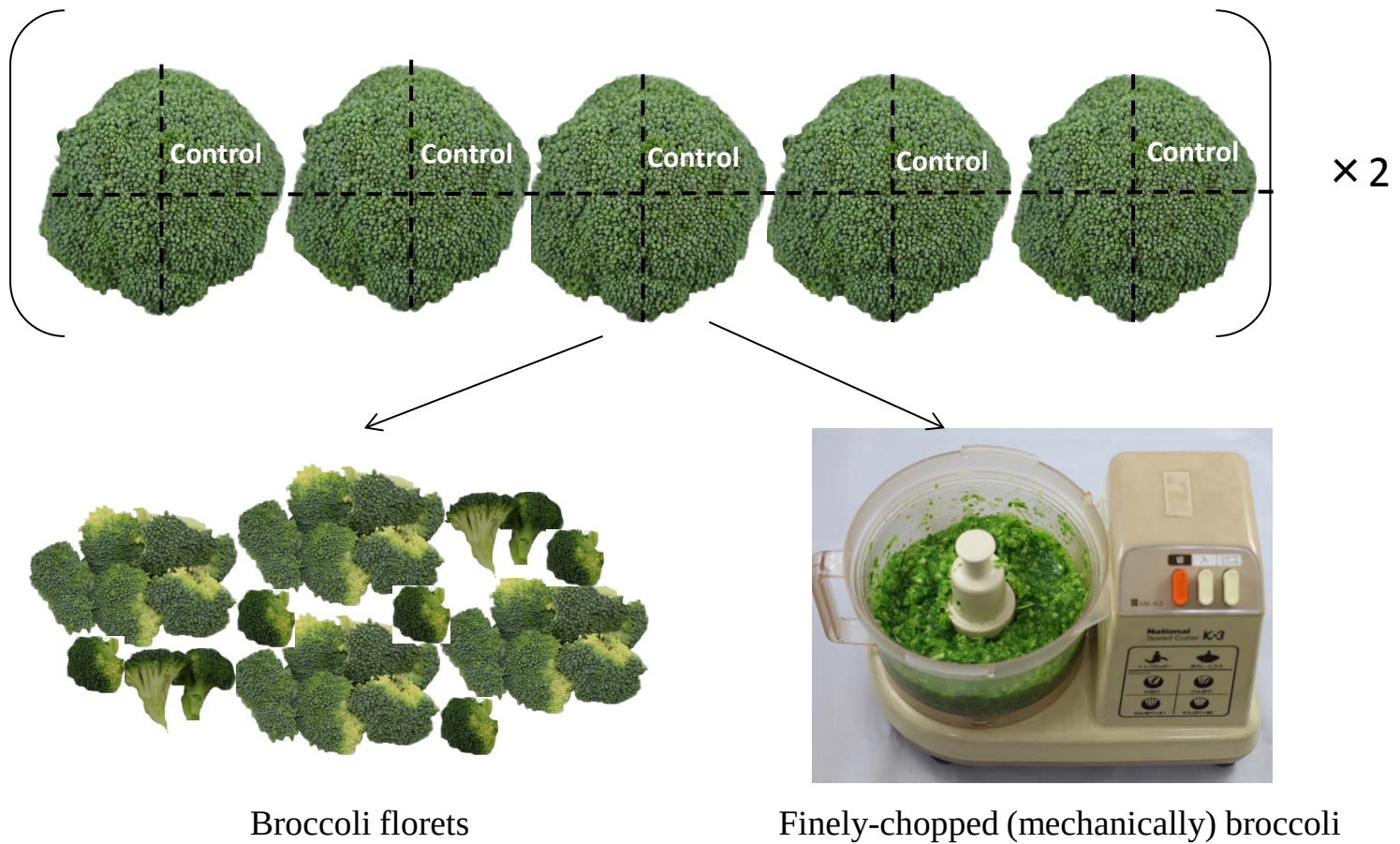


Figure 22. Cutting methods for broccolis.

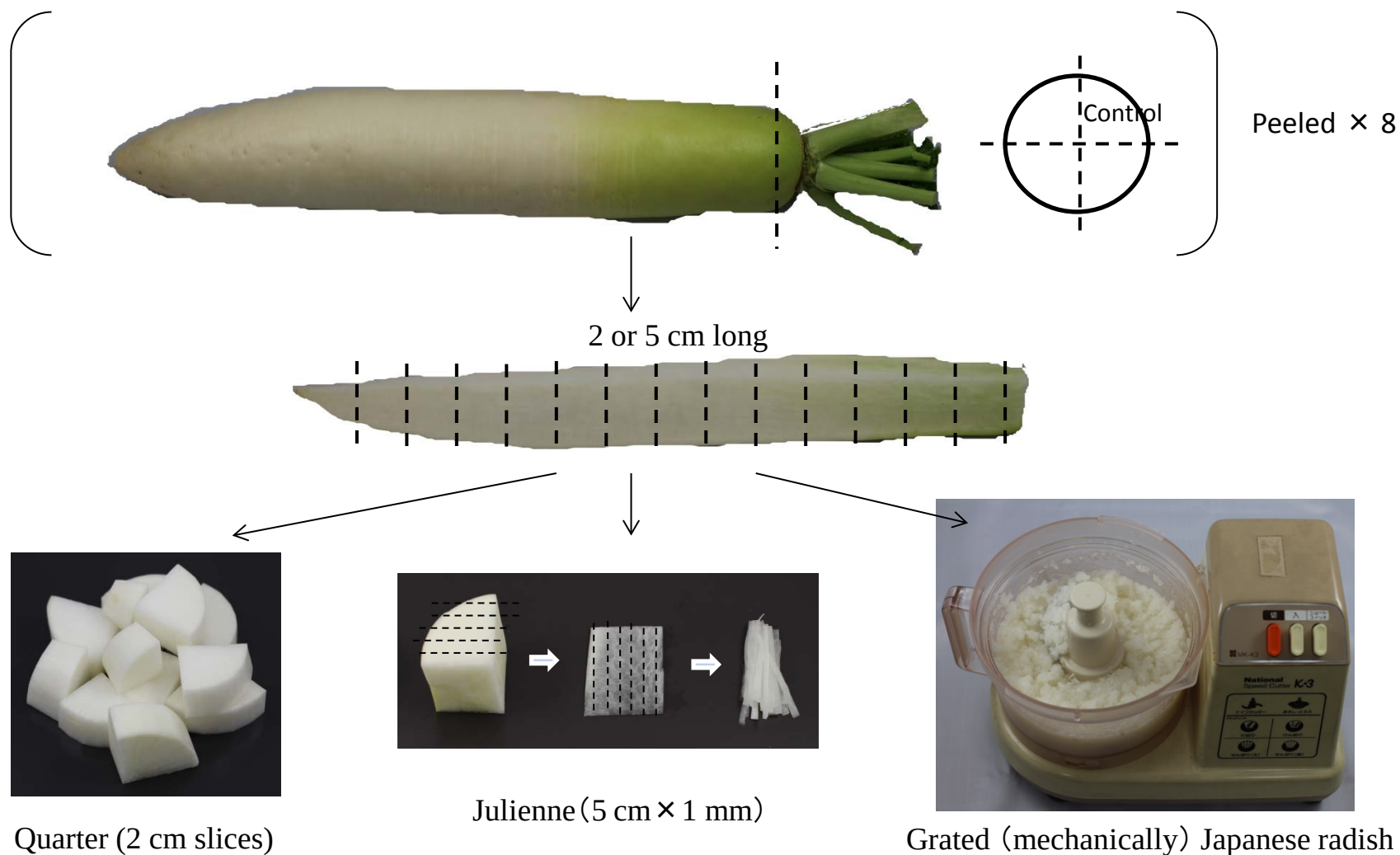


Figure 23. Cutting methods for Japanese radishes.

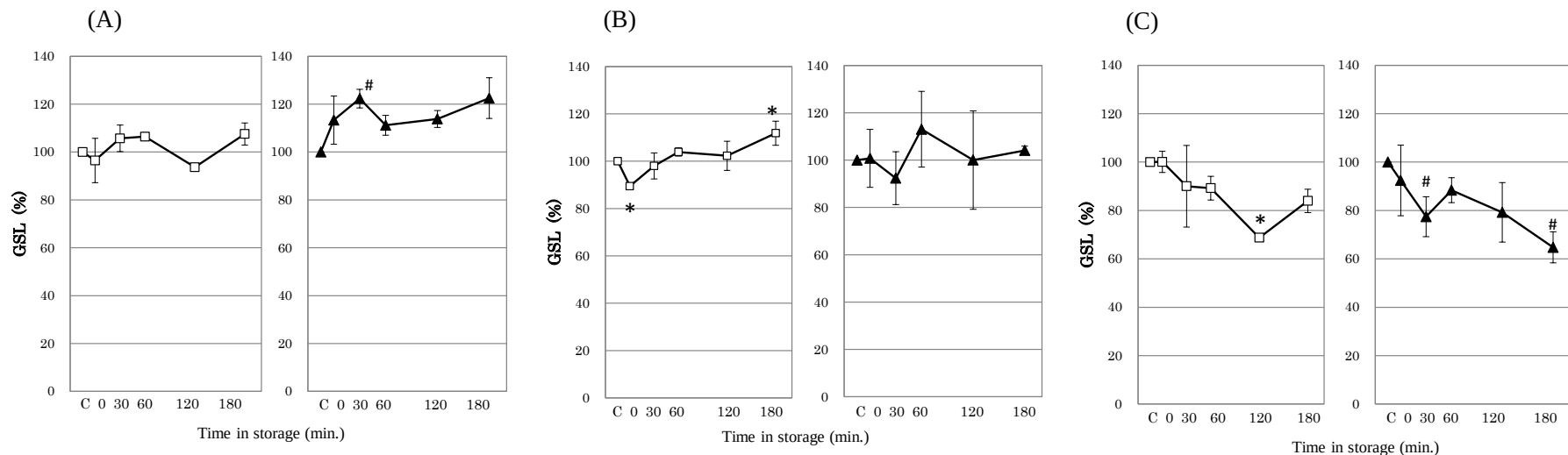


Figure 24. Change rate of aliphatic and indolyl glucosinolate concentrations in cabbage stored at 5°C for up to 180 min.

(A) 5 × 5 cm, (B) 4 × 1 cm and (C) julienne (4 cm × 1 mm) cabbage. (□), Aliphatic GSLs; (▲), Indolyl GSLs; C, control (unprocessed). Aliphatic GSLs (3-Methylsulfinylpropyl GSL, 2-Propenyl GSL, 4-Methylsulfinylbutyl GSL); indolyl GSLs (3-Indolylmethyl GSL, 4-Methoxy-3-indolylmethyl GSL, 1-Methoxy-3-indolylmethyl GSL).

Data were expressed as percent of changed GSLs content versus C, and expressed as mean and SD (n=3).

*: Significant differences were observed versus C in aliphatic GSL content, by Dunnett's test ($p < 0.05$).

#: Significant differences were observed versus C in indolyl GSL content, by Dunnett's test (C), or Friedman's test (A) ($p < 0.05$).

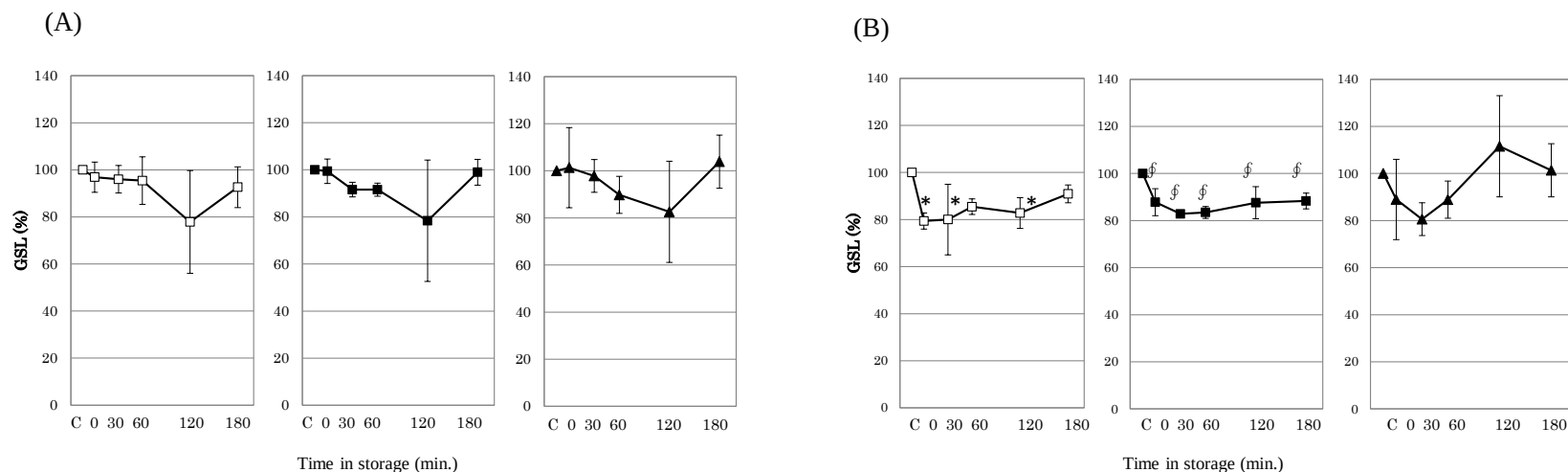


Figure 25. Change rate of aliphatic, aromatic and indolyl glucosinolate concentrations in watercress stored at 5°C for up to 180 min.

(A) 4 cm long and (B) 1 cm long watercress. (□), Aliphatic GSLs; (■), Aromatic GSLs; (▲), Indolyl GSLs
 Aliphatic GSLs (5-Methylsulfinylpentyl GSL, 6-Methylsulfinylhexyl GSL, 7-Methylsulfinylheptyl GSL, 8-Methylsulfinyloctyl GSL, 6-Methylthioethyl GSL, 7-Methylthioethyl GSL), aromatic GSLs ((2S)-2-Hydroxy-2-phenylethyl GSL, Phenethyl GSL), indolyl GSLs (3-Indolylmethyl GSL, 4-Methoxy-3-indolylmethyl GSL); C, control (unprocessed.)

Data were expressed as percent of changed GSLs content versus C, and expressed as mean and SD (n=3).

*: Significant differences were observed versus C in aliphatic GSL content, by Dunnett's test ($p < 0.05$).

§: Significant differences were observed versus C in aromatic GSL content, by Dunnett's test ($p < 0.05$).

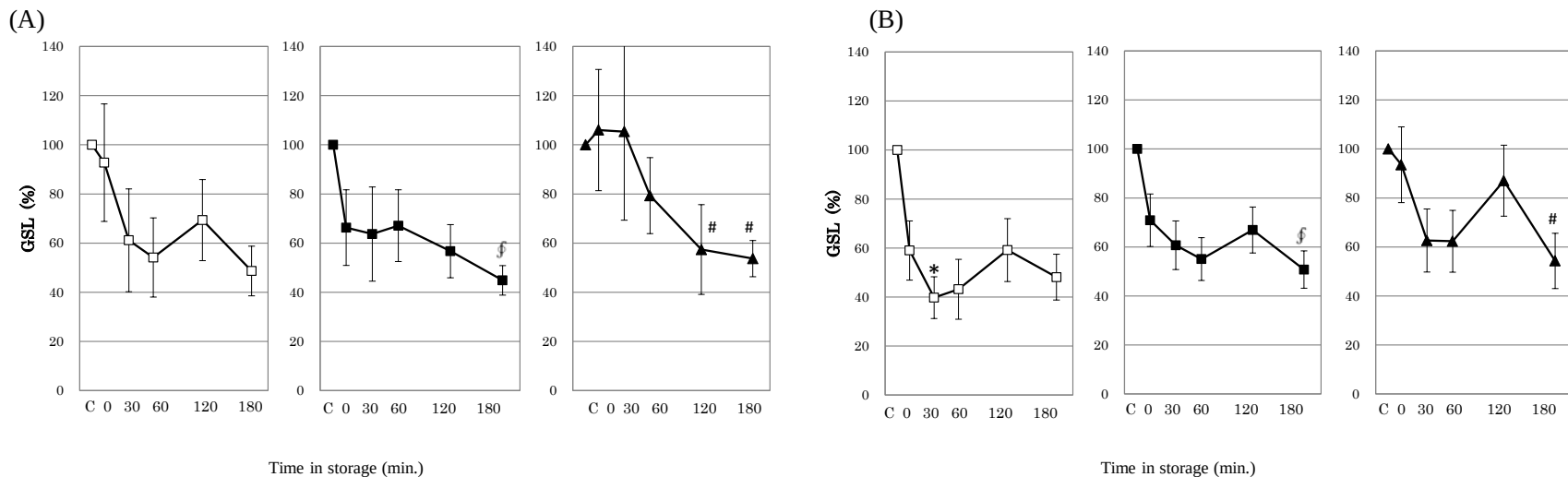


Figure 26. Change rate of aliphatic, aromatic and indolyl glucosinolate concentrations in potherb mustard (mizuna) stored at 5°C for up to 180 min.

(A) 4 cm long and (B) 1 cm long potherb mustard. (□), Aliphatic GSLs; (■), Aromatic GSLs; (▲), Indolyl GSLs; C, control (unprocessed). Aliphatic GSLs (5-Methylsulfinylpentyl GSL, But-3-enyl GSL, Pent-4-enyl GSL), aromatic GSL (Phenethyl GSL), indolyl GSL (3-Indolylmethyl GSL, 4-Methoxy-3-indolylmethyl GSL, 1-Methoxy-3-indolylmethyl GSL). Data were expressed as percent of changed GSLs content versus C, and expressed as mean and SD (n=3).

*: Significant differences were observed versus C in aliphatic GSL content, by Friedman's test ($p < 0.05$).

‡: Significant differences were observed versus C in aromatic GSL content, by Friedman's test ($p < 0.05$).

#: Significant differences were observed versus C in indolyl GSL content, by Dunnett's test (A) or Friedman's test (B) ($p < 0.05$).

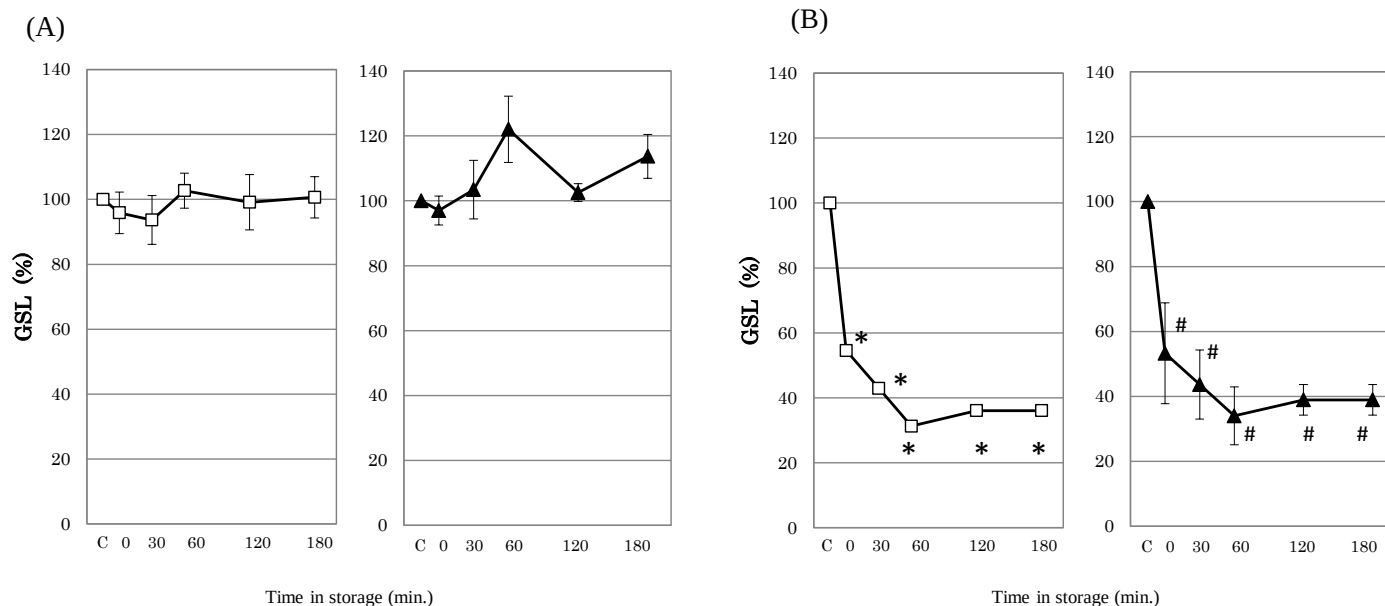


Figure 27. Change rate of aliphatic and indolyl glucosinolate concentrations in broccoli stored at 5°C for up to 180 min.

(A) Broccoli florets and (B) finely-chopped (mechanically) broccoli. (□), Aliphatic GSLs; (▲), Indolyl GSLs; C, control (unprocessed). Aliphatic GSLs ((2R)-2-Hydroxy-3-butenyl GSL, 4-Methylsulfinylbutyl GSL), indolyl GSL (4-Hydroxy-3-indolylmethyl GSL, 3-Indolylmethyl GSL, 4-Methoxy-3-indolylmethyl GSL, 1-Methoxy-3-indolylmethyl GSL).

Data were expressed as percent of changed GSLs content versus C, and expressed as mean and SD (n=3).

*: Significant differences were observed versus C in aliphatic GSL content, by Dunnett's test ($p < 0.05$).

#: Significant differences were observed versus C in indolyl GSL content, by Dunnett's test ($p < 0.05$).

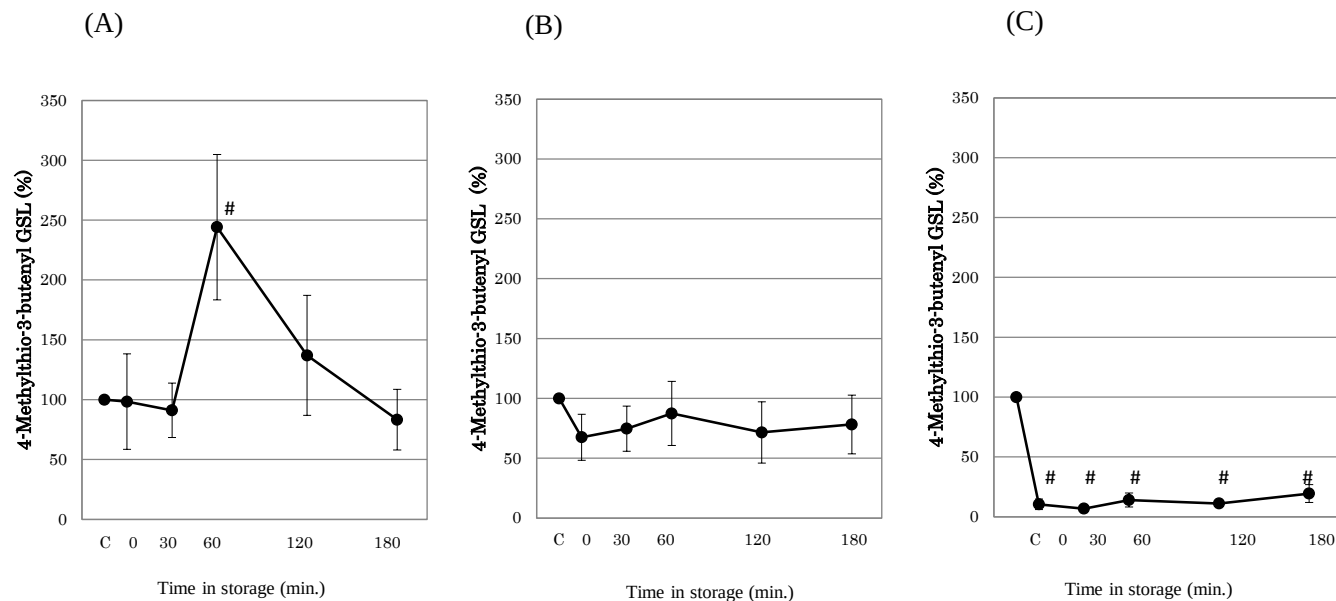


Figure 28. Change rate of 4-Methylthio-3-butenyl glucosinolate concentrations in Japanese radish (peeled) stored at 5°C for up to 180 min.

(A) quarter (2 cm slices), (B) julienne (5 cm × 1 mm) and (C) grated (mechanically) Japanese radish (peeled). C, control (unprocessed). Data were expressed as percent of changed GSLs content versus C, and expressed as mean and SD (n=3).

#: Significant differences were observed versus C in 4-methylthio-3-butenyl GSL content, by Dunnett's test ($p < 0.05$).

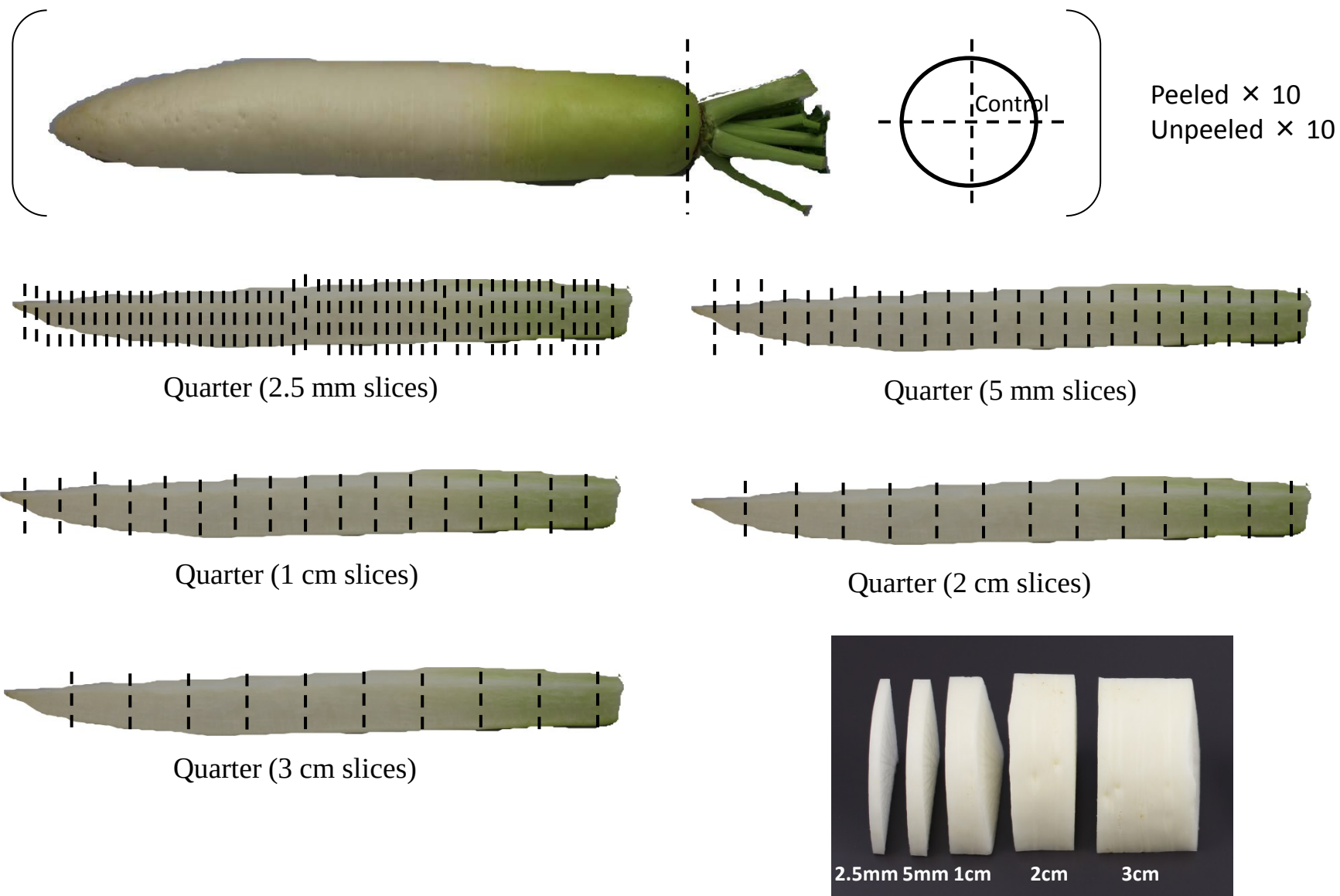


Figure 29. Cutting methods for Japanese radishes.

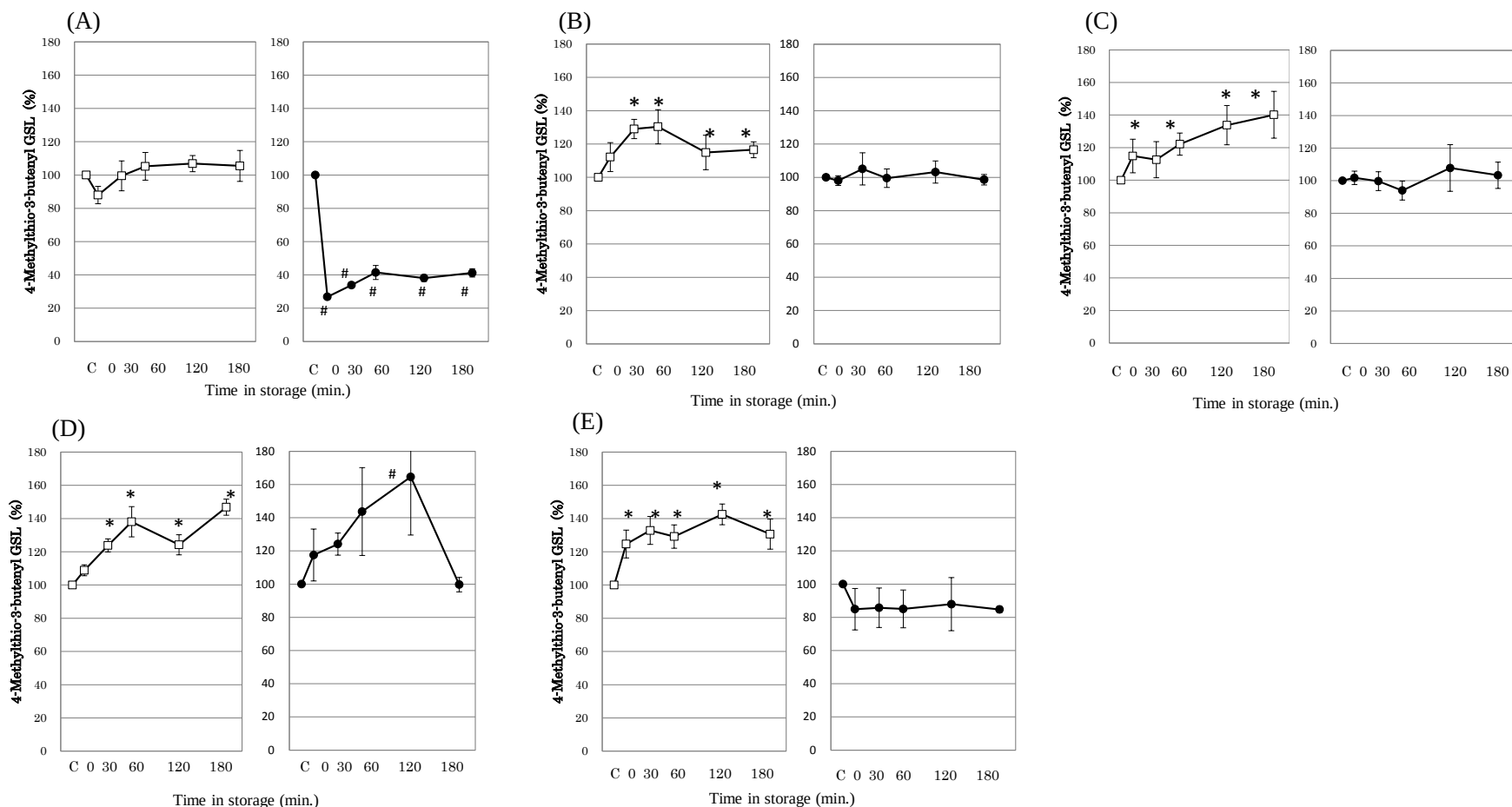


Figure 30. Change rate of 4-Methylthio-3-butenyl glucosinolate concentrations in peeled or unpeeled Japanese radish cut to different thickness stored at 5°C for up to 180 min.

(A) 2.5 mm sliced, (B) 5 mm sliced, (C) 1 cm sliced, (D) 2 cm sliced and (E) 3 cm sliced Japanese radish.

(□), unpeeled ; (●), peeled; C, control (unprocessed). Data were expressed as percent of changed GSLs content versus C, and expressed as mean and SD (n=3).

*: Significant differences were observed versus C in 4-methylthio-3-butenyl GSL content in unpeeled radish, by Dunnett's test ($p<0.05$). #: Significant differences were observed versus C in 4-methylthio-3-butenyl GSL content in peeled radish, by Dunnett's test (A) or Friedman's test (D) ($p<0.05$).

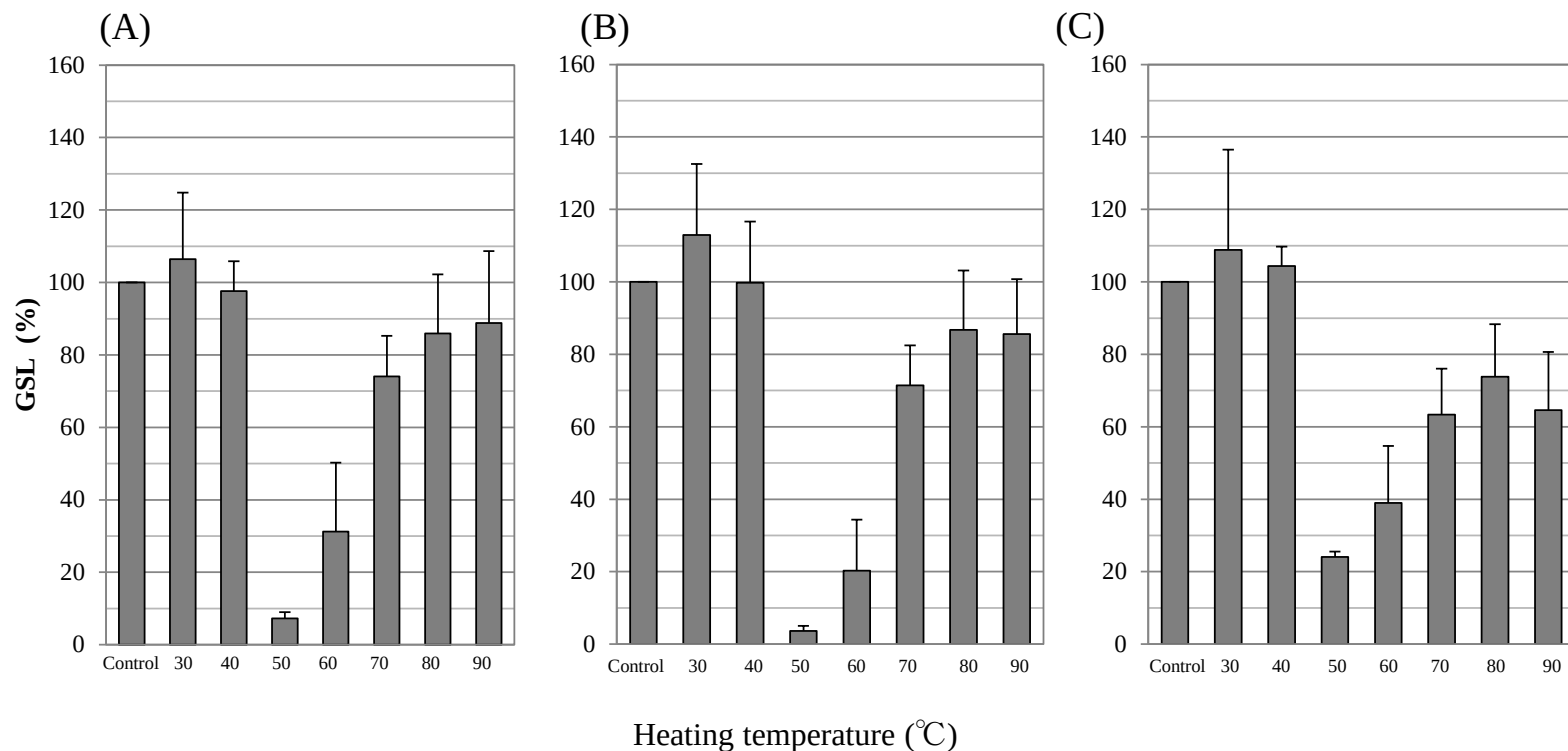


Figure 31. Relative contents of aliphatic, aromatic, and indolyl glucosinolates in watercress samples heated for 30 min.

(A) Aliphatic GSLs. Total contents of 5-methylsulfinylpentyl GSL, 6-methylsulfinylhexyl GSL, 7-methylsulfinylheptyl GSL, 8-methylsulfinyloctyl GSL, 6-methylthiohexyl GSL and 7-methylthioheptyl GSL; (B) Aromatic GSLs. Total contents of (2S)-2-hydroxy-2-phenylethyl GSL and phenethyl GSL; (C) Indolyl GSLs. Total contents of 3-indolylmethyl GSL and 4-methoxy-3-indolylmethyl GSL; Control, unheated watercress. Data were expressed as mean $\pm$ SD (n=3).

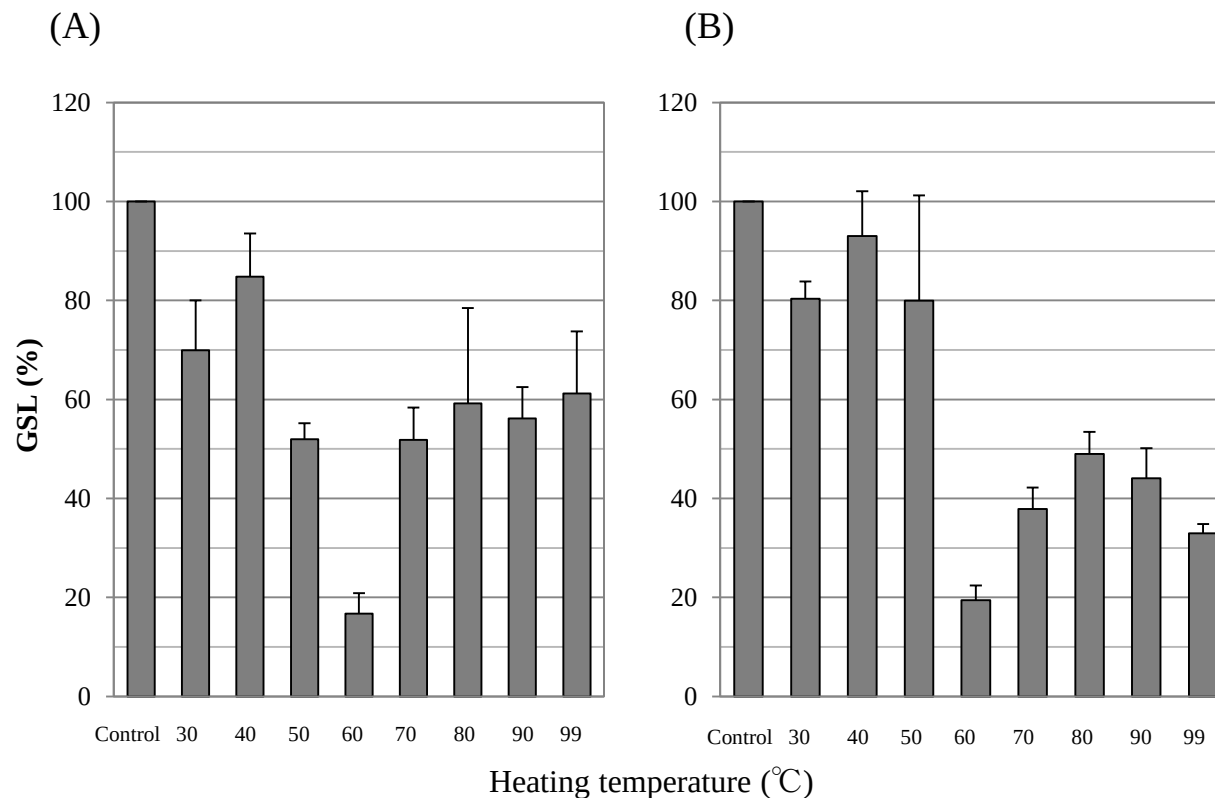


Figure 32. Relative contents of aliphatic and indolyl glucosinolates in broccoli samples heated for 30 min.

(A) Aliphatic GSLs. Total contents of (2R)-2-hydroxy-3-butenyl GSL and 4-methylsulfinylbutyl GSL; (B) Indolyl GSLs. Total contents of 3-indolylmethyl GSL, 4-methoxy-3-indolylmethyl GSL and 1-methoxy-3-indolylmethyl GSL; Control, unheated broccoli. Data were expressed as mean $\pm$ SD (n=3).

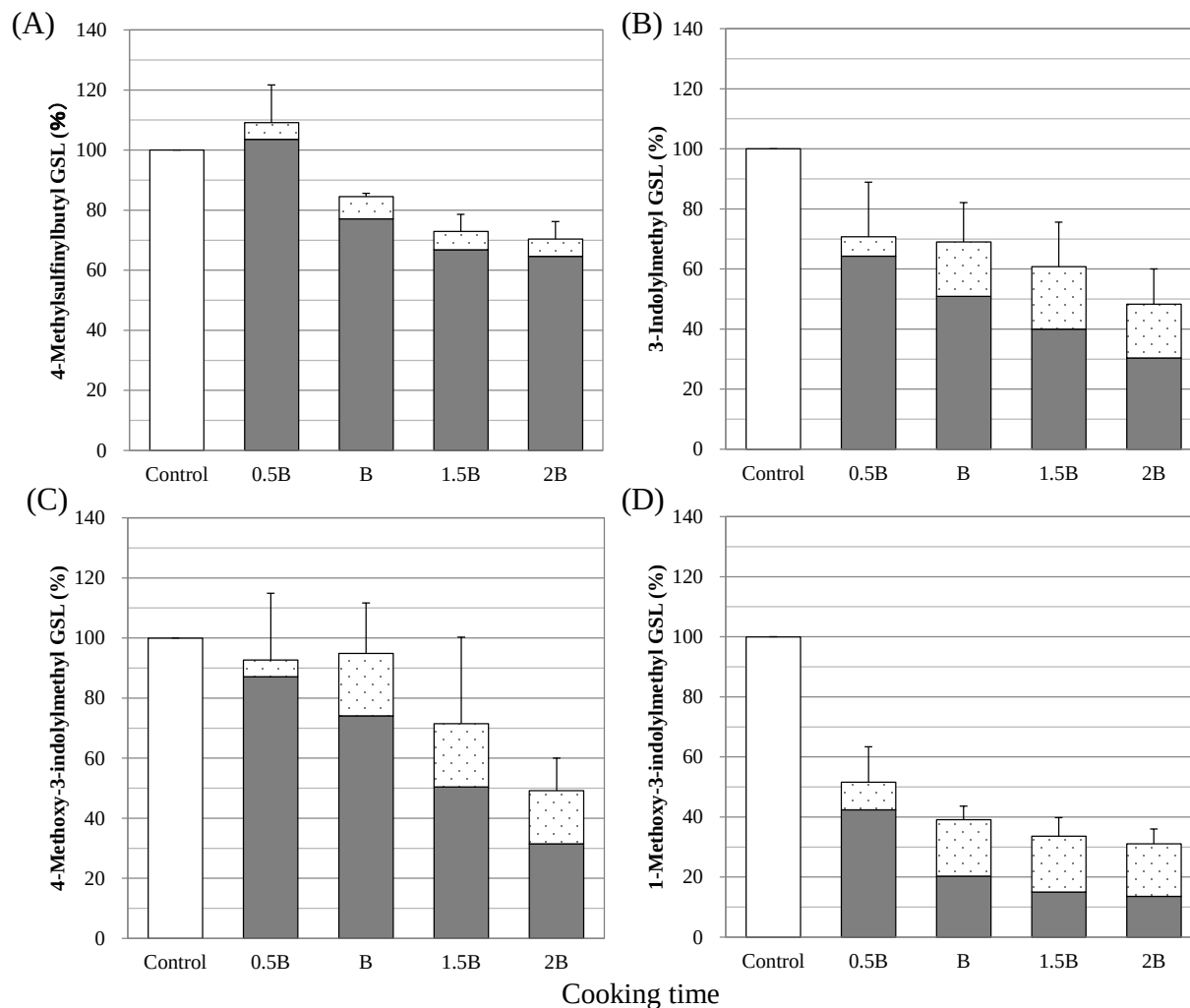


Figure 33. Relative glucosinolate contents of cooked broccoli samples and the cooking water, expressed as a percentage of the glucosinolate content of uncooked broccoli.

(■), cooked broccoli ; (▨), cooking water. 4-methylsulfinylbutyl GSL; (B) 3-indolylmethyl GSL; (C) 4-methoxy-3-indolylmethyl GSL; (D) 1-methoxy-3-indolylmethyl GSL; Control, uncooked broccoli. B, time needed for the central temperature of the broccoli sample cooked in boiling water to reach 95°C, 176 sec. 0.5B = 88 sec; 1.5B = 264 sec; 2B = 352 sec. Data were expressed as mean $\pm$ SD (n=3).

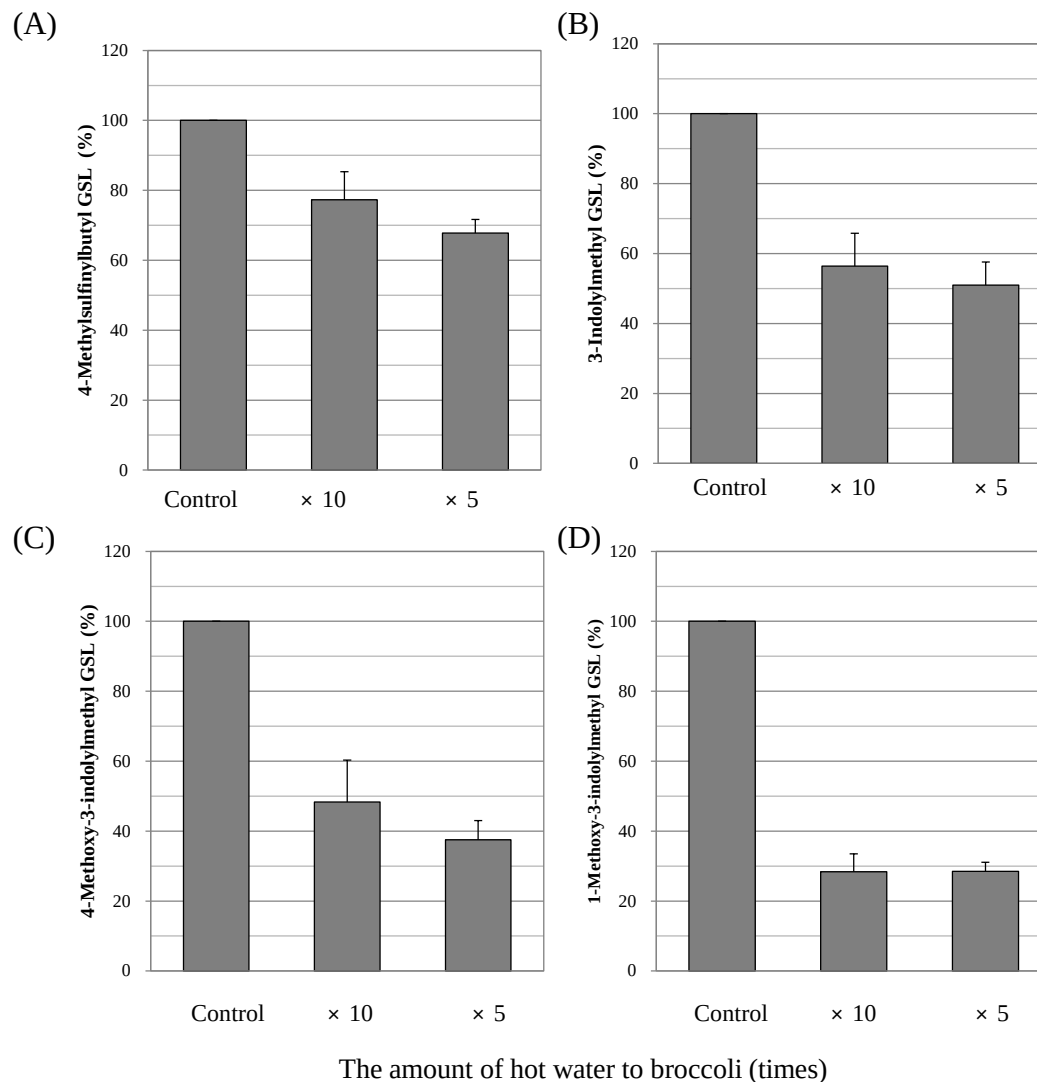


Figure 34. Change in glucosinolate content of cooked broccoli samples boiled in different volumes of hot water.

(A) 4-methylsulfinylbutyl GSL; (B) 3-indolylmethyl GSL; (C) 4-methoxy-3-indolylmethyl GSL; (D) 1-methoxy-3-indolylmethyl GSL; Control, uncooked broccoli. All broccoli samples were boiled until the central temperature reached 95°C. Data were expressed as mean $\pm$ SD (n=3).

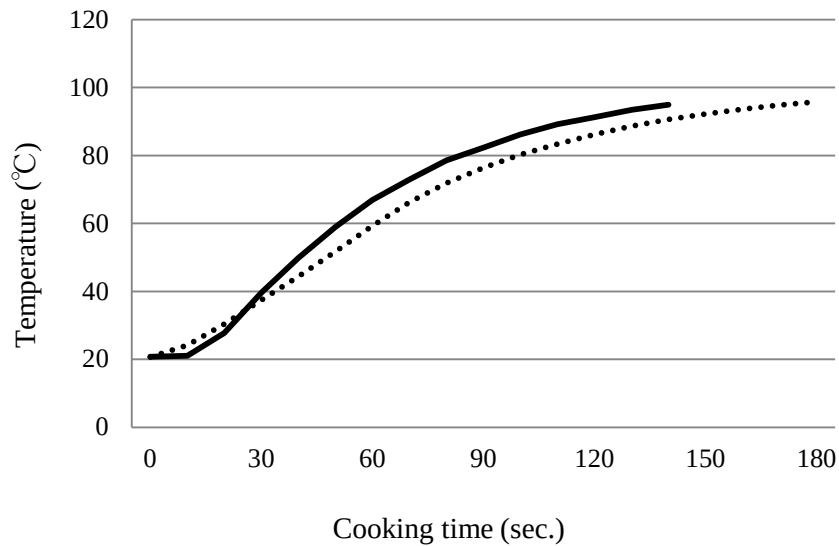


Figure 35. Heating curve showing the temperature in the central part of broccoli samples cooked in different volumes of hot water.

All broccoli samples were boiled until the central temperature reached 95°C.

———— Ratio of hot water to broccoli, 10:1, Ratio of hot water to broccoli, 5:1.

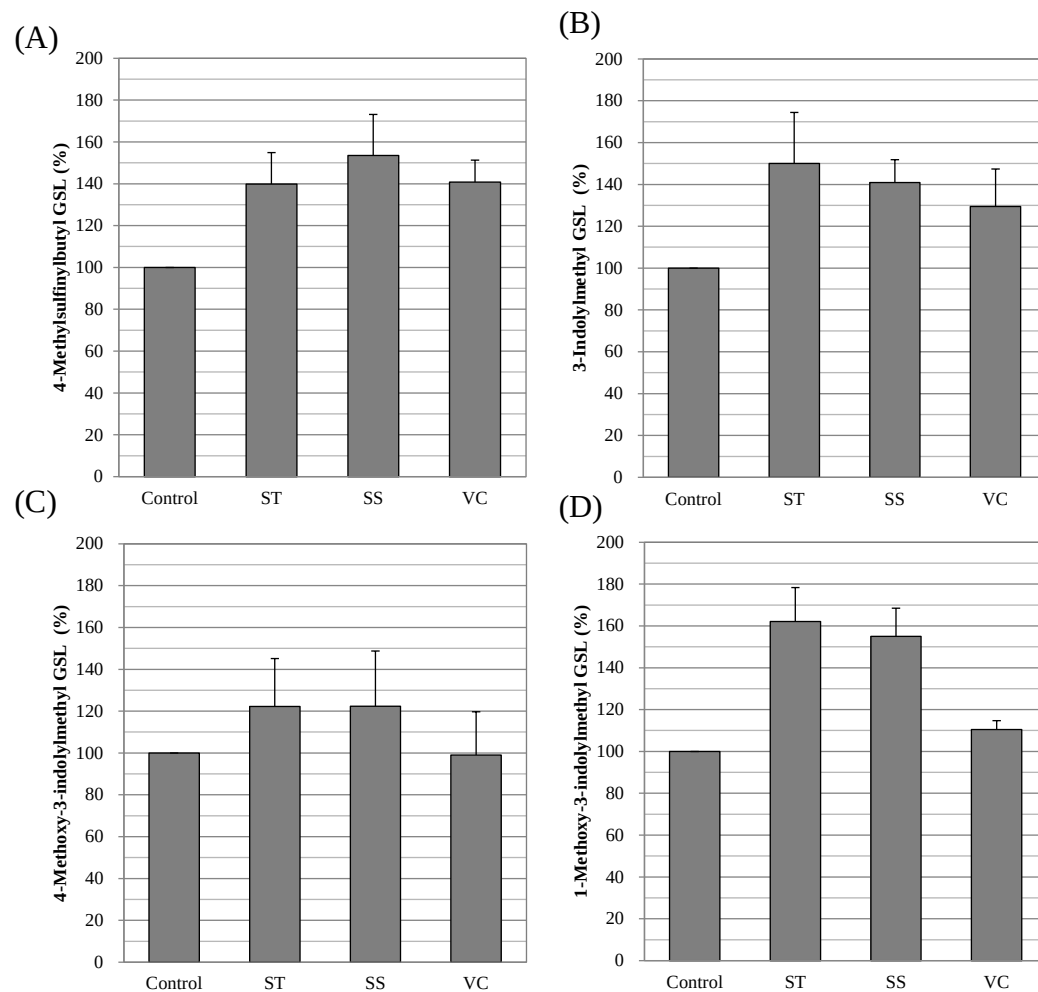


Figure 36. Change in glucosinolate content of broccoli samples cooked by three different heating methods.

(A) 4-methylsulfinylbutyl GSL; (B) 3-indolylmethyl GSL; (C) 4-methoxy-3-indolylmethyl GSL; (D) 1-methoxy-3-indolylmethyl GSL; Control, uncooked broccoli. ST, steaming; SS, superheated steaming; VC, vacuum cooking. All broccoli samples were cooked until the central temperature reached 95°C. Data were expressed as mean $\pm$ SD (n=3).

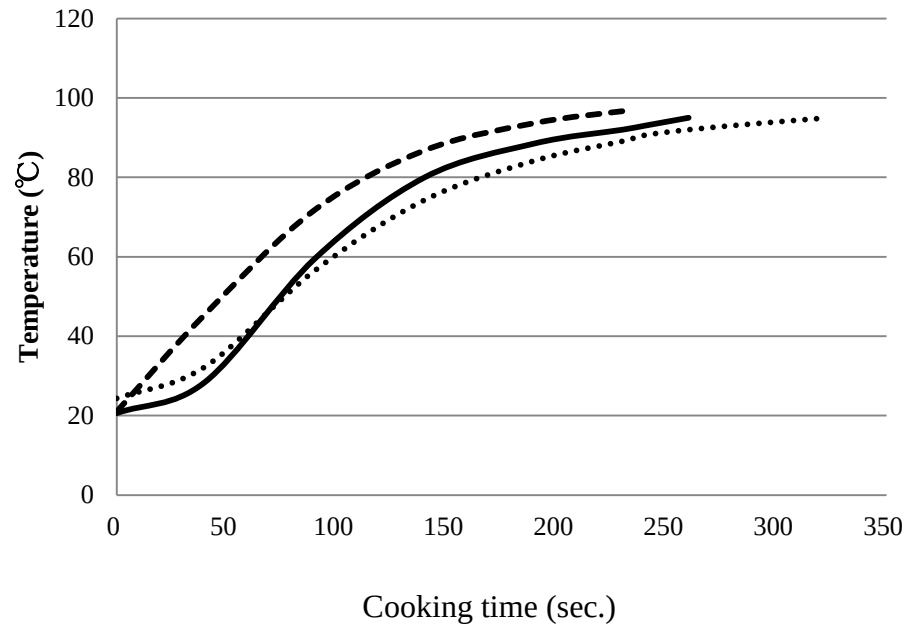


Figure 37. Heating curve showing the temperature in the central part of broccoli samples cooked by three different heating methods.

All broccoli samples were cooked until the central temperature reached 95°C.

—— Steaming (ST), - - - - Superheated steaming (SS), Vacuum cooking (VC).

Steaming time = 270 sec; Superheated steaming time = 290 sec; Vacuum cooking time = 320 sec.