

**Thesis Title** Bioactive Glucosinolates and Antioxidant Properties in Broccoli Seeds Cultivated in Thailand

**Author** Miss Sarunya Chuanphongpanich

**Degree** Doctor of Philosophy (Pharmacy)

**Thesis Advisory Committee**

Assoc. Prof. Dr. Busaban Sirithunyalug	Chairperson
Assoc. Prof. Dr. Duang Buddhasukh	Member
Prof. Dr. Maitree Suttajit	Member
Assoc. Prof. Dr. Sukon Phanichphant	Member

**ABSTRACT**

One of the most significant health benefits of cruciferous vegetables is the presence of a biologically active class of compounds, the glucosinolates. Broccoli attracted attention after the discovery that it contains high levels of isothiocyanate sulforaphane [4-(methylsulfinyl)butyl isothiocyanate], produced from the breakdown of the glucosinolate glucoraphanin [4-(methylsulfinyl)butyl glucosinolate] and which showed great potential anticarcinogenic properties. The purposes of this study were to evaluate the type and content of glucosinolates and their antioxidant properties in broccoli seeds cultivars widely grown in Thailand.

This study also describes a newly validated reverse-phase paired-ion liquid chromatography (RP-PIC) with diode array detector to determine the intact glucosinolates in various Thai broccoli seed genotypes. It is a modification of the official AOCS method. These modified procedures were applied to samples of broccoli seeds cultivars grown in Thailand, in order to resolve and identify their major glucosinolates: 3-methylsulfinylpropyl-, 4-methylsulfinylbutyl-, 5-methylsulfinylpentyl-, 4-hydroxy-3-indolylmethyl-, 4-methylthiobutyl-, 4-methoxy-3-indolylmethyl- and 1-methoxy-3-indolylmethyl glucosinolate. Thus, this analytical methodology provides a powerful technique for identifying and

quantitating glucosinolates in broccoli seed extracts without derivatization. Total and individual glucosinolate levels significantly varied among cultivars. The compound 4-methylsulfinylbutyl glucosinolate (glucoraphanin) was the predominant glucosinolate in all broccoli seeds. Total glucosinolates were 65.5  $\mu\text{mol/g}$  DW in 'Top Green #067' cultivar, the highest found in this study, while these in 'Packman' (58.6  $\mu\text{mol/g}$  DW), 'Green Queen' (51.2  $\mu\text{mol/g}$  DW), 'Pak Ging' (25.5  $\mu\text{mol/g}$  DW) cultivars were lower and in 'Rod Fai' cultivar (20.3  $\mu\text{mol/g}$  DW) were the lowest.

The antioxidant capacities, including ABTS radical scavenging activity, ferric reducing antioxidant power (FRAP), phenolics, flavonoids, flavonols, ascorbic acid, carotenoids and tocopherols within each genotype were determined. The results showed that the methanol and water extracts exhibited high ABTS radical scavenging activity and high chelating ability, while the chloroform extract exhibited the least. The variability in hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity found among these genotypes suggests that the potential efficiency of antioxidants varies considerably from genotype to genotype. The results indicated that there was a substantial variation both within and between subspecies. The total antioxidant capacity was significantly higher in 'Top Green #067' (4.871 mg/100mg DW) cultivar than in 'Green Queen' (3.855 mg/100mg DW), 'Packman' (3.876 mg/100mg DW), and 'Pak Ging' (3.934 mg/100mg DW) cultivars which were not significantly different, while 'Rod Fai' cultivar was demonstrated to have the lowest capacity (3.292 mg/100mg DW).

A high-performance liquid chromatographic (HPLC) analytical method has been developed for the simultaneous determination of the main phenolic classes including, catechin, epicatechin, epigallocatechin gallate, gallic acid, quercetin and rutin. This developed method was applied to the analysis of phenolic compounds in broccoli seed genotypes cultivated in Thailand. There were no detectable phenolic compounds in all broccoli seeds in this study.

This dissertation describes glucosinolate levels and antioxidant activities in broccoli seeds of Thai's cultivars cultivated in Thailand. The improvement of new cultivars can be further produced for commercial crops used in the health food and/or nutraceutical industries.





เมล็ดบรอกโคลีทุกสายพันธุ์ เมื่อพิจารณาปริมาณรวมทั้งหมดของสารกลูโคซิโนเลตพบว่า สายพันธุ์ท็อปกรีน#067 มีปริมาณมากที่สุด (65.5 ไมโครโมลต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) และสามารถเรียงลำดับปริมาณสารกลูโคซิโนเลตจากมากไปหาน้อยที่สุด ดังนี้ สายพันธุ์แพคแมน มีปริมาณ 58.6 ไมโครโมลต่อกรัมน้ำหนักแห้ง สายพันธุ์กรีนควีน มีปริมาณ 51.2 ไมโครโมลต่อกรัม น้ำหนักแห้ง สายพันธุ์ปักกิ่ง มีปริมาณ 25.5 ไมโครโมลต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และสายพันธุ์ที่มีปริมาณกลูโคซิโนเลตน้อยที่สุด คือ สายพันธุ์รถไฟ 20.3 ไมโครโมลต่อกรัมน้ำหนักแห้ง

ได้ทำการศึกษาคุณสมบัติด้านออกซิเดชันในเมล็ดพันธุ์บรอกโคลี โดยการวัดความสามารถในการต้านอนุมูลไอออนบวกเอปิตีเอสและอนุมูลเพอริก (เอพอาร์เอพี) การหาปริมาณ ฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ ฟลาโวนอล กรดแอสคอร์บิก แคโรทีนอยด์ และ โทโคฟีรอล พบว่า สารสกัดด้วยเมธานอลและน้ำ ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลไอออนบวกเอปิตีเอสและดีเลตไอออนเหล็ก สูงสุด ส่วนสารสกัดคลอโรฟอร์มให้ฤทธิ์ดังกล่าวต่ำที่สุด โดยความสามารถด้านออกซิเดชันในส่วนขอบน้ำและขอบไขมันมีความแปรผันอย่างมีนัยสำคัญ พิจารณาสายพันธุ์ที่ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระรวมสูงที่สุด คือ สายพันธุ์ท็อปกรีน #067 (4.871 มิลลิกรัมต่อ100มิลลิกรัม น้ำหนักแห้ง) และไม่พบความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์กรีนควีน (3.855 มิลลิกรัมต่อ100มิลลิกรัม น้ำหนักแห้ง) สายพันธุ์แพคแมน (3.876 มิลลิกรัมต่อ100มิลลิกรัม น้ำหนักแห้ง) และสายพันธุ์ปักกิ่ง (3.934 มิลลิกรัมต่อ100มิลลิกรัม น้ำหนักแห้ง) ในขณะที่สายพันธุ์รถไฟ (3.292 มิลลิกรัมต่อ100มิลลิกรัม น้ำหนักแห้ง) ให้ฤทธิ์ต่ำสุด

ได้ทำการปรับปรุงวิธีลิวติโคโรมาโทกราฟีสมรรถนะสูง (เอชพีแอลซี) เพื่อวิเคราะห์สารฟีนอลิกที่สำคัญ ได้แก่ แคทีชิน อีพิแคทีชิน อีพิแกลโลแคทีชินแกลเลต กรดแกลลิก เคอร์เซทิน และรูทีน จากการศึกษามิพบปริมาณสารฟีนอลิกดังกล่าวในเมล็ดบรอกโคลีทุกสายพันธุ์ที่ปลูกในประเทศไทย

ข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ปริมาณกลูโคซิโนเลตและคุณสมบัติด้านออกซิเดชันจากเมล็ดบรอกโคลีสายพันธุ์ต่างๆที่เพาะปลูกในประเทศไทยครั้งนี้ จะเป็นประโยชน์ในการปรับปรุงสายพันธุ์บรอกโคลีที่มีในประเทศ เพื่อพัฒนาในด้านอาหารเพื่อสุขภาพและ/หรือผลิตภัณฑ์เสริมอาหารต่อไป