

# Reaktivität und Stabilität von Glucosinolaten und ihren Abbauprodukten in Lebensmitteln

*Franziska S. Hanschen,\* Evelyn Lamy, Monika Schreiner und Sascha Rohn*

**Stichwörter:**

Glucosinolate · Glycokonjugate ·  
Isothiocyanate · Naturstoffe ·  
Reaktionen in Lebensmitteln

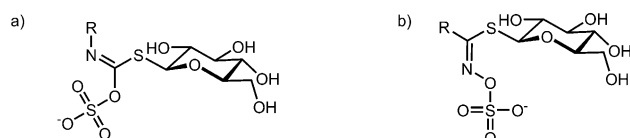


**Die Chemie von Glucosinolaten und ihre Reaktionen während der Lebensmittelverarbeitung sind sehr komplex. Aufgrund ihrer Instabilität entsteht eine ganze Reihe von Abbau- und Reaktionsprodukten, die häufig ebenfalls reaktiv sind. Obwohl der übermäßige Genuss von Kohlsorten lange Zeit mit nachteiligen, vor allem goitrogenen (kropfbildenden) Wirkungen in Verbindung gebracht wurde, weisen aktuelle Ergebnisse aus epidemiologischen Studien auch auf potenziell positive Gesundheitseffekte hin. Insbesondere Gemüse aus der Familie der Kreuzblütler (*Brassicaceae*) wie Broccoli, Rettich oder Kohl sind reich an diesen interessanten pflanzlichen Metaboliten. Informationen zur Bioaktivität von Glucosinolaten sind aber nur dann von Nutzen, wenn man weiß, welche Verbindungen bei der Verarbeitung gebildet und anschließend verzehrt werden. Dieser Aufsatz bietet eine umfassende und detaillierte Übersicht über die chemische Reaktivität verschiedener Glucosinolate und ihrer Abbauprodukte während der Lebensmittelzubereitung.**

## 1. Einleitung

### 1.1. Historisches

Viele Gemüse, die Grundbestandteil der üblichen Ernährung sind, gehören zur Ordnung *Brassicales* (Kreuzblütlerartige).<sup>[1]</sup> Schon vor fast 200 Jahren wurde festgestellt, dass Pflanzen dieser Ordnung typischerweise Glucosinolate – schwefelhaltige sekundäre Pflanzenmetaboliten – enthalten. Die ersten Glucosinolate wurden zu Beginn des 19. Jahrhunderts isoliert: das weit verbreitete Prop-2-enylglucosinolat (Sinigrin, **1**) und 4-Hydroxybenzylglucosinolat (Sinalbin, **2**) aus den Saaten von Schwarzem Senf (*Brassica nigra*)<sup>[2]</sup> bzw. Weißem Senf (*Sinapis alba*).<sup>[3]</sup> Wenig später entdeckte man, dass sich diese Verbindungen unter der Einwirkung eines „Myrosin“ genannten Bestandteils, der heute als Myrosinase bezeichnet wird, zersetzen. Myrosinase wurde ebenfalls aus der Saat des Schwarzen Senfs isoliert und kann die flüchtigen Senföle bilden.<sup>[4]</sup> 1897 schlug Gadamer für die Glucosinolate eine allgemeine gemeinsame Struktur vor.<sup>[5]</sup> Diese erklärte jedoch nicht das Auftreten von Nitrilen, den Nebenprodukten der „Myrosin“-induzierten Hydrolyse zu Senfölen, die überwiegend als Isothiocyanate identifiziert wurden. 1956 revidierten Ettlinger und Lundeen die allgemeine Struktur und schlugen für den „Prototyp der Senfölglycoside“, das „Myronat-Ion ... Sinigrin“, eine modifizierte Struktur mit einer  $\beta$ -D-Thioglucosegruppe, einer Seitenkette (R) und einer sulfonierten Oximeinheit vor (Abbildung 1).



**Abbildung 1.** Glucosinolatstruktur nach a) Gadamer<sup>[5]</sup> und b) Ettlinger und Lundeen.<sup>[6]</sup> R<sup>1</sup> = Seitenkette.

## Aus dem Inhalt

1. Einleitung	11615
2. Glucosinolate in Nahrungspflanzen – Umwandlungen während der Lebensmittelverarbeitung	11621
3. Reaktivität der Abbauprodukte von Glucosinolaten	11625
4. Zusammenfassung und Ausblick	11630

Diese Struktur wurde 1957 durch Synthese bestätigt.<sup>[6,7]</sup> Durch Röntgenkristallographie wurde schließlich für die C=N-Bindung die *anti*(Z)-Konfiguration ermittelt.<sup>[8]</sup> Glucosino-

late werden auch als  $\beta$ -D-Thioglucosid-*N*-hydroxysulfate, (Z)- (oder *cis*)-*N*-Hydroximiniosulfatester oder *S*-Glucopyranosylthiohydroximate bezeichnet. Die Seitenkette R ist strukturell vielfältig, und bisher wurde eine Vielzahl von Glucosinolaten beschrieben.<sup>[1,9]</sup>

In den vergangenen 50 Jahren sind viele Beiträge zur Biochemie von Glucosinolaten und ihren physiologischen Wirkungen<sup>[2,10]</sup> sowie zur Verbreitung von Glucosinolaten in Pflanzen erschienen.<sup>[1,9,10]</sup> Dagegen gibt es bis heute nur eine begrenzte Zahl von Untersuchungen zur Reaktivität dieser interessanten Gruppe sekundärer Pflanzenmetaboliten,<sup>[11]</sup> die entscheidend sind für die Regulierung der ökophysiologischen Wechselwirkung zwischen Pflanze und Umgebung sowie für die Induzierung der durch Ernährung vermittelten negativen oder positiven physiologischen Wirkungen.

### 1.2. Strukturelle Einteilung von Glucosinolaten

Bisher wurden mehr als 200 Glucosinolate in Pflanzen nachgewiesen, die in der Mehrzahl zur Ordnung *Brassicales* gehören.<sup>[9]</sup> Glucosinolate werden normalerweise als aliphati-

[\*] Dr. F. S. Hanschen, Prof. Dr. M. Schreiner  
Abteilung Qualität, Leibniz-Institut für Gemüse- und Zierpflanzenbau Großbeeren und Erfurt e.V.  
Theodor-Echtermeyer-Weg 1, 14979 Großbeeren (Deutschland)  
E-Mail: hanschen@igzev.de  
Homepage: <http://www.igzev.de>

Dr. E. Lamy  
Institut für Umweltmedizin, Universitätsklinikum Freiburg  
Breisacher Straße 115 b, 79106 Freiburg i.Br. (Deutschland)  
Prof. Dr. S. Rohn  
Hamburg School of Food Science, Institut für Lebensmittelchemie  
Universität Hamburg  
Grindelallee 117, 20146 Hamburg (Deutschland)

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/anie.201402639> zu finden.

sche (**1**, **3–15**), aromatische (**2**, **16**, **17**) und Indolglucosinolate (**18–21**) klassifiziert (Abbildung 2). Diese Einteilung beruht auf der variablen Seitenkette in der chemischen Grundstruktur (Abbildung 1b), die von der Aminosäurevorstufe herrührt. Etwa die Hälfte der bisher identifizierten Glucosinolate sind aliphatische Glucosinolate, deren Seitenketten sehr unterschiedliche Strukturen haben. Diese Gruppe lässt sich weiter unterteilen in unverzweigt oder verzweigt aliphatische, hydroxysubstituierte und Alkenylglucosinolate (**1**, **3–6**) sowie eine große Gruppe mit einem weiteren Schwefelatom in der Seitenkette. In Abhängigkeit vom Oxidationszustand dieses Schwefelatoms werden sie weiter in Methylsulfanylalkyl- ( $S^{II}$ ) (**7**, **8**, **12**), Methylsulfanylalkyl- ( $S^{IV}$ ) (**9–11**, **13**) und Methylsulfonylalkylglucosinolate ( $S^{VI}$ ) unterteilt. Die wichtigsten Strukturen der Glucosinolatseitenkette von *Brassicales*-Arten sind in Abbildung 2 aufgeführt.

Die Seitenketten der verschiedenen Glucosinolate können sehr komplexe Strukturen haben. Außerdem ist auch die Funktionalisierung an der C2'- oder C6'-Position der  $\beta$ -D-Thioglucoseeinheit durch Cinnamoyl-, Sinapoyl- und Benzoesäuresalze oder -ester bekannt.<sup>[12]</sup> Weitere ungewöhnliche aromatische Glucosinolate enthalten O-glycosidisch verknüpfte Zucker wie L-Rhamnose, L-Arabinose oder D-Apiose am aromatischen Ring der Seitenkette.<sup>[13]</sup> Außerdem gibt es schwefelhaltige aliphatische Glucosinolate, z.B. das dimere 4-Mercaptobutylglucosinolat **15** sowie 4-(Glucodisulfanyl)butyl- **14** und 4-(Cystein-S-yl)butylglucosinolat.<sup>[14]</sup>

### 1.3. Glucosinolate in Pflanzen – Biosynthese, Hydrolyse und Wirkungsweise

In Pflanzen sind Glucosinolate an der pflanzlichen Reaktion auf biotischen Stress beteiligt. Nach der Induktion

durch Pflanzenfresser<sup>[15]</sup> oder Pilzbefall<sup>[16]</sup> aktivieren enzymatisch gebildete Abbauprodukte von Glucosinolaten das Verteidigungssystem der Pflanzen und wirken als Abwehrmittel. Der Angriff durch Pflanzenfresser führt abhängig von der Insektenspezies und dem Pflanzengenotyp<sup>[17]</sup> zu einer Jasmonsäure-vermittelten Konzentrationserhöhung an Glucosinolat. Diese lässt sich auch durch eine UVB-Vorbehandlung<sup>[18]</sup> oder Wassermangel bewirken.<sup>[19]</sup> Da Glucosinolate zur natürlichen Widerstandsfähigkeit von Pflanzen beitragen können, indem Angriffe durch Phytopathogene verringert werden, sind Pflanzen mit hohem Glucosinolatgehalt potenzielle Biofumigantien in der Landwirtschaft, wenn sie in zerkleinerter Form in den Boden eingearbeitet werden.<sup>[20]</sup>

Die Vorstufen für ihre Biosynthese sind Aminosäuren, wobei sich aliphatische Glucosinolate hauptsächlich von Methionin, Indolglucosinolate von Tryptophan und aromatische Glucosinolate meist von Phenylalanin ableiten. Die Biosynthese verläuft über drei separate Schritte: 1) die Kettenverlängerung ausgewählter Vorläuferaminosäuren (für Glucosinolate, die sich von Methionin und Phenylalanin ableiten), 2) die Bildung der Glucosinolat-Kernstruktur und 3) Modifizierungen der Seitenkette.<sup>[10c,21]</sup> Die Glucosinolatbiosynthese beginnt mit der Umwandlung der Vorläuferaminosäuren in die entsprechenden Aldoxime durch Cytochrom-P450-Monooxygenasen aus der CYP79-Familie. Das Aldoxim wird im Biosyntheseweg der Glucosinolat-Kernstruktur durch CYP83s oxidiert und an den S-Donor konjugiert, vermutlich über ein ähnliches Enzym wie die Glutathion-S-Transferase.

Danach wird das Thiohydroximat unter Katalyse durch eine C-S-Lyase zur Thiohydroximinsäure gespalten. Schließlich wird das Schwefelatom durch eine S-Glucosyltransferase mit Glucose zum Desulfoglucosinolat verknüpft, das dann durch eine Sulfotransferase zum endgültigen Glucosinolat



Franziska Hanschen studierte Lebensmittelchemie an der Technischen Universität Berlin und promovierte 2012 mit einer Arbeit über den thermischen Abbau von Glucosinolaten. Seither forscht sie als Postdoktorandin am Leibniz-Institut für Gemüse- und Zierpflanzenbau in Großbeeren. Ihr Forschungsschwerpunkt sind die Abbauewege von Glucosinolaten sowie die bioaktiven Wirkungen der zugehörigen Abbauprodukte.



Monika Schreiner erhielt ihren Master für Internationale Agrarentwicklung und ihren Dokortitel an der Technischen Universität Berlin. Nach einem Postdoktorat am Leibniz-Institut für Agrartechnik in Bornim wurde sie Leiterin der Abteilung Qualität am Leibniz-Institut für Gemüse- und Zierpflanzenbau in Großbeeren/Erfurt und Professor an der Leibniz-Universität Hannover. Ihr Forschungsschwerpunkt ist die Untersuchung von sekundären Pflanzenmetaboliten, insbesondere den Glucosinolaten und ihren Wirkungen.

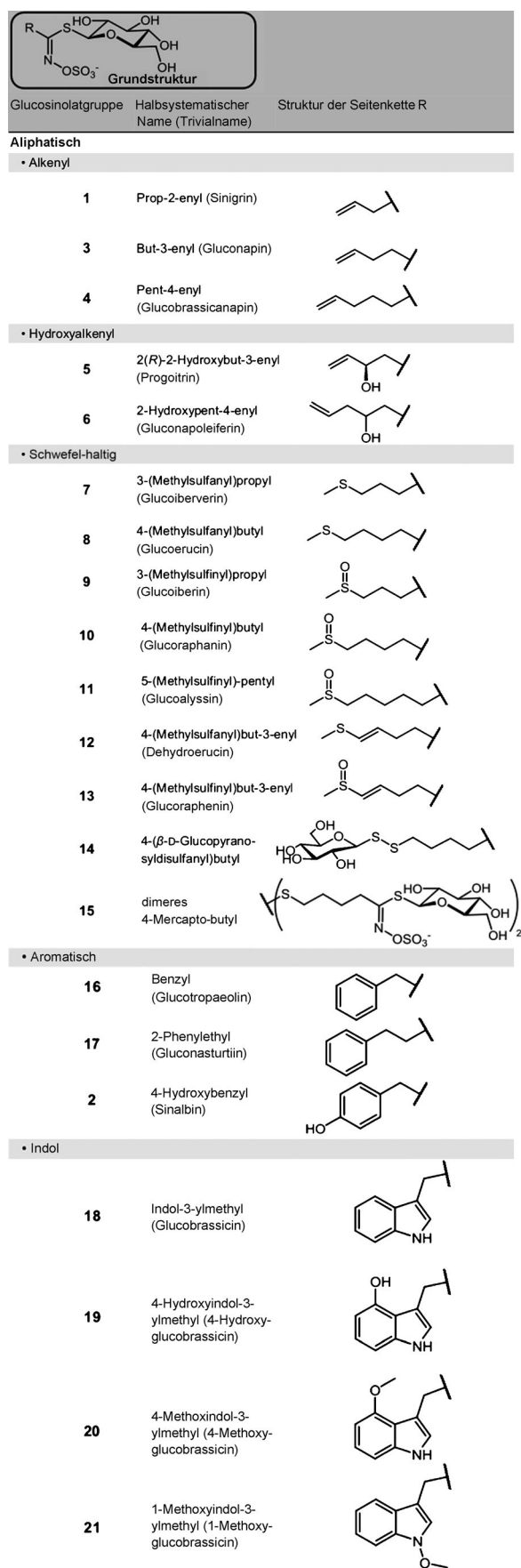


Evelyn Lamy, geboren 1979, promovierte 2008 in Humanbiologie an der Medizinischen Fakultät der Universität Gießen. Sie leitet eine Gruppe Nachwuchswissenschaftler am Institut für Umweltmedizin des Universitätsklinikums Freiburg. Zu ihren Hauptforschungsinteressen gehören die Antikrebseffekte pflanzlicher Verbindungen, insbesondere die Signalübermittlung bei der selektiven Zellalterung und der Regulierung von Telomerase.



Sascha Rohn, geboren 1973, ist Professor für Lebensmittelchemie an der Hamburg School of Food Science, Universität Hamburg. Seine Arbeitsgruppe befasst sich mit der Analyse sekundärer Pflanzenmetaboliten, ihrer antioxidativen Aktivität und besonders mit der Reaktivität und Stabilität dieser bioaktiven Verbindungen mit dem Ziel, Abbauprodukte zu identifizieren, die als Marker während der Lebensmittel-/Futtermittelverarbeitung oder als Biomarker in der Ernährungsphysiologie dienen.





**Abbildung 2.** Hauptstrukturen der Glucosinolat-Seitenketten von *Brassica*-Arten.

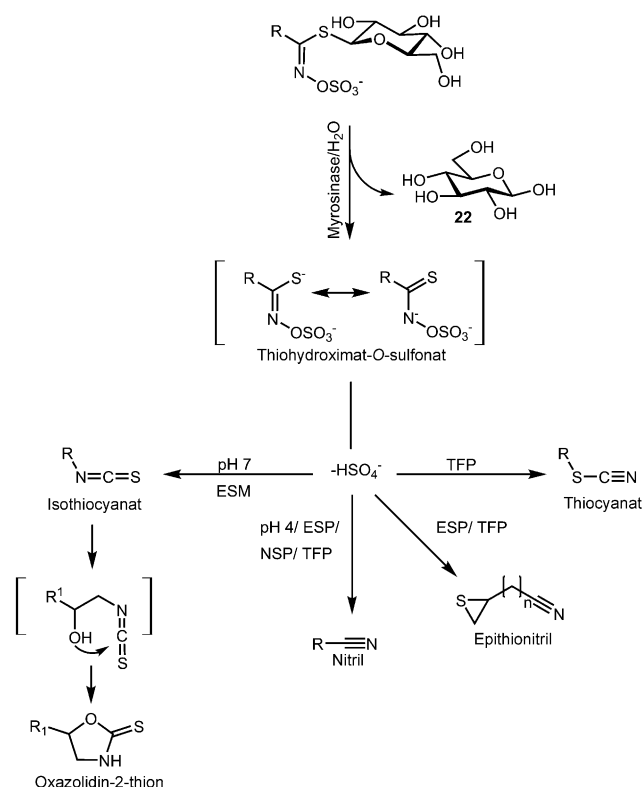
sulfoniert wird. Nachfolgende Modifizierungen aliphatischer Glucosinolate erfolgen durch Oxygenierung, Hydroxylierung, Alkenylierung und Benzoylierung, aromatische und Indolglucosinolate können hydroxyliert und methoxyliert werden.<sup>[22]</sup> Glucosinolate kommen zwar in allen Pflanzenorganen vor,<sup>[23]</sup> ihre Konzentrationen und Zusammensetzung können aber innerhalb der Pflanze enorm variieren, und ontogenetische Änderungen können in Abhängigkeit vom Entwicklungsstadium der Pflanze zu veränderlichen Glucosinolatprofilen führen. Normalerweise haben Saaten den höchsten Glucosinolatgehalt, der sich hauptsächlich aus aliphatischen und aromatischen Glucosinolaten zusammensetzt.<sup>[23,24]</sup> Nach der Keimung sinkt der Gesamtglucosinolatgehalt, kann aber später wieder steigen, wobei auch Indolglucosinolate gebildet werden, die besonders im Wurzelgewebe auftreten.<sup>[23–25]</sup> Glucosinolate reichern sich schließlich in den Blütenständen und Früchten mit der unreifen Saat an.<sup>[23,24]</sup>

Die Synthese von Glucosinolaten erfolgt nicht nur aufgrund der Ontogenese, sondern wird auch stark durch ökophysiologische Faktoren wie die Ernährung der Pflanzen und die Verfügbarkeit von Wasser bestimmt. Durch Düngen mit Schwefel bei mittlerem Stickstoffspiegel steigt der Anteil aliphatischer, von Methionin abgeleiteter Glucosinolate, dagegen kann die Gabe von Stickstoff bei niedrigem Schwefelangebot die Indolglucosinolatspiegel erhöhen und den Anteil aliphatischer Glucosinolate sogar senken.<sup>[26]</sup> Beide Effekte beruhen auf dem Aminosäurestoffwechsel und der Glucosinolatbiosynthese, da die Reduktion des schwefelhaltigen Cysteins zu Methionin stickstoffabhängig ist<sup>[27]</sup> und die Biosynthese von Indolglucosinolat aus L-Tryptophan durch den Schwefeldonor für das Thiohydroximat begrenzt wird.<sup>[28]</sup> Außerdem wirkt sich das Wasserangebot beträchtlich auf den Glucosinolatgehalt aus, und unter wasserarmen Bedingungen kann insbesondere der Anteil aliphatischer Glucosinolate steigen.<sup>[19b,29]</sup> Dieser Effekt wird durch die Ontogenese, den Genotyp und die Vegetationszeit beeinflusst.<sup>[29]</sup> Das Trocknen der obersten Bodenschicht hat sich als modernes Verfahren erwiesen, den Anteil aliphatischer Glucosinolate ohne Verringerung der Biomasse zu steigern.<sup>[30]</sup> Auch Temperatur und Strahlung beeinflussen den Glucosinolatgehalt.<sup>[31]</sup> Beispielsweise nimmt in Freilandbroccoli der Gehalt an aliphatischen Methylsulfinylglucosinolaten mit sinkender Temperatur und zunehmender Strahlung ab. Bei mittleren Tagestemperaturen  $\leq 12^\circ\text{C}$  und zunehmender Bestrahlung (bis zu  $100\text{ mol m}^{-2}\text{ d}^{-1}$ ) gewachsener Broccoli bildete hohe Anteile an Alkylglucosinolaten.<sup>[31c]</sup>

Die durch Strahlung induzierten Effekte beruhen auf lichtabhängigen Flavinmonooxygenasen, die an der Biosynthese von Methylsulfinylglucosinolaten beteiligt sind.<sup>[32]</sup> Zudem kann energiereiche UVB-Strahlung die Bildung von Glucosinolaten in ökologisch relevanter Dosis induzieren.<sup>[18,33]</sup> Dieser Effekt wird vom UVR8-Rezeptor vermittelt, der die Signalübermittlung und die Pflanzenreaktion initiiert,<sup>[34]</sup> indem er die Glucosinolatbiosynthese durch Signalmechanismen auslöst, an denen Jasmon- und Salicylsäure beteiligt sind.<sup>[18,34b,35]</sup> Dementsprechend führt auch die externe Anwendung dieser Signalverbindungen zu einer deutlichen Zunahme bestimmter Glucosinolate.<sup>[35a]</sup>

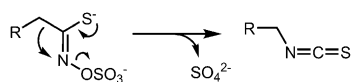
### 1.3.1. Enzymatischer Abbau

In der Pflanzenvakuole werden Glucosinolate getrennt von dem endogenen Glucosinolat-hydrolysierenden Enzym Myrosinase (eine  $\beta$ -D-Thioglucosidase) gespeichert.<sup>[36]</sup> Beim Aufbrechen der Zelle kommt es zum Kontakt zwischen den Glucosinolaten und Myrosinase, wodurch der enzymatische Abbau (Schema 1) zu zahlreichen Abbauprodukten initiiert wird.



**Schema 1.** Bildung enzymatischer Abbauprodukte von Glucosinolaten. ESP: Epithio-spezififizierendes Protein; TFP: Thiocyanat-bildendes Protein; ESM: Epithio-spezififizierendes Modifikatorprotein; NSP: Nitril-spezififizierende Proteine. R: variable Seitenkette; R<sup>1</sup>: Alkenylseitenkette.

Im ersten Schritt spaltet das Enzym das Glucosinolat zu  $\beta$ -D-Glucose (**22**) und einem instabilen Thiohydroximat-O-sulfonat. Dieses Aglucon geht anschließend eine so genannte Lossen-Umlagerung zum Isothiocyanat ein oder zerfällt in das zugehörige Nitril und molekularen Schwefel (Schema 2). Niedrige pH-Werte hemmen die Lossen-Umlagerung, daher werden Isothiocyanate normalerweise bei eher neutralen pH-Werten gebildet.<sup>[37]</sup> Einige Pflanzen regulieren diese Umwandlung aber durch bestimmte Proteine wie das Epithio-



**Schema 2.** Lossen-Umlagerung des Thiohydroximat-O-sulfonats zum Isothiocyanat. R: variable Seitenkette.

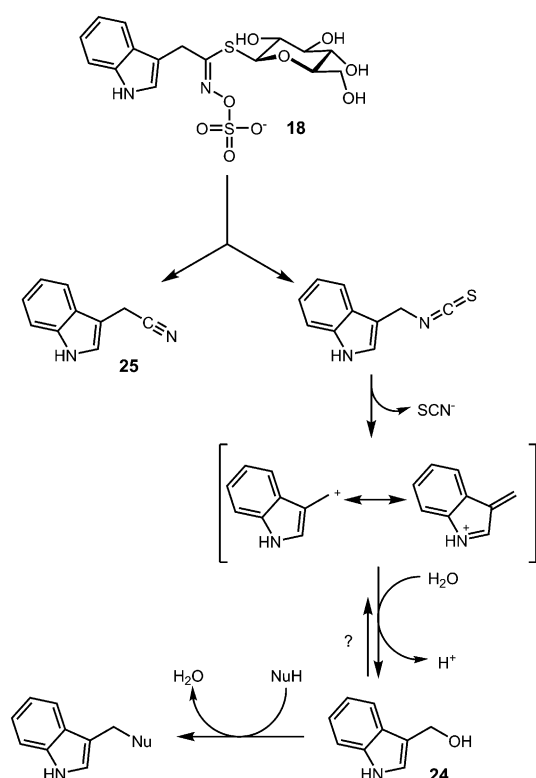
spezifizierende Protein (ESP),<sup>[38]</sup> die Nitril-spezifisierenden Proteine (NSPs)<sup>[39]</sup> oder das Thiocyanat-bildende Protein (TFP),<sup>[40]</sup> die mit dem instabilen Aglucon wechselwirken und die Bildung von Nitrilen begünstigen können. Eisen(II) wirkt sich auf die Aktivität von ESP und NSPs aus und kann selbst die Bildung von Nitrilen induzieren.<sup>[37,39a,41]</sup> Zudem fördert ESP die Bildung von Epithionitril aus ungesättigten aliphatischen Glucosinolaten wie **1**.<sup>[38a,41,42]</sup> Das Vorhandensein von TFP kann die Bildung von Thiocyanaten aus **1**, Benzylglucosinolat (**16**) und 4-Methylsulfanylbutylglucosinolat (**8**) oder von Nitrilen aus anderen Glucosinolaten begünstigen.<sup>[43]</sup> Dagegen blockiert das Epithio-spezifisierende Modifikatorprotein (ESM) die Bildung von Epithionitrilen und Nitrilen zugunsten der Isothiocyanatbildung.<sup>[44]</sup> Zu weiteren Einzelheiten der enzymatischen Glucosinolathydrolyse und der Wirkungsweise der spezifizierenden Proteine sei der Leser auf die Übersichten von Burow und Wittstock verwiesen.<sup>[45]</sup>

Einige Glucosinolate bilden instabile Isothiocyanate. 2-Hydroxyalkenylisothiocyanate cyclisieren zu Oxazolidin-2-thionen (Schema 1), dagegen zerfallen das 4-Hydroxybenzylisothiocyanat **23** und die sehr reaktiven Indolisothiocyanate – vermutlich über ein Indol-3-ylmethyl-Carbokation – unter Abspaltung des Thiocyanat-Ions in die entsprechenden Alkohole.<sup>[46]</sup> Das Indol-3-carbinol **24** beispielsweise kann danach, wahrscheinlich wieder über die Bildung des Carbokations, leicht mit Wasser, weiteren Molekülen **24** oder anderen Nucleophilen zu einer Reihe von Oligomeren reagieren (Schema 3).<sup>[46c,47]</sup>

Unter den Hydrolyseprodukten sind vor allem die Isothiocyanate für den scharfen Geschmack einiger *Brassica*-Gemüse sowie deren antimikrobielle,<sup>[48]</sup> antimykotische<sup>[49]</sup> und antiphytophage Eigenschaften<sup>[50]</sup> verantwortlich. Darüber hinaus gibt es zunehmend Hinweise darauf, dass sich diese Glucosinolat-Abbauprodukte positiv auf die menschliche Gesundheit auswirken könnten, beispielsweise durch die Krebsprävention oder die Entzündungshemmung.<sup>[10g,51]</sup>

### 1.3.2. Stoffwechsel der Glucosinolate

Beim Kauen roher *Brassica*-Gemüse und später im Magen werden die pflanzlichen Gewebe zerstört und die Glucosinolate teilweise hydrolysiert, wobei die nachfolgende Freisetzung und Absorption von der Lebensmittelmatrix abhängt.<sup>[52]</sup> Da die entstandenen Isothiocyanate unpolar sind, werden sie passiv durch die Enterozytenmembran absorbiert und danach rasch umgewandelt. Sie werden als Glutathionkonjugate in den Enterozyten angereichert.<sup>[53]</sup> Die so erhaltenen Dithiocarbamate können die Isothiocyanate wieder freisetzen, die dann an andere Thiole oder Proteine binden können<sup>[10f,52,54]</sup> oder über das Multidrug-resistance-associated Protein 1 in das Blut oder zurück in den Darm abgegeben werden.<sup>[53a,55]</sup> Die Glutathionaddukte werden weiter über den Mercaptursäureweg metabolisiert und als *N*-Acetyl-L-Cysteinkonjugat im Urin ausgeschieden.<sup>[56]</sup> Die Bioverfügbarkeit freier Isothiocyanate ist vergleichsweise hoch, maximale Konzentrationen der Metaboliten in menschlichem Plasma werden eine bis sechs Stunden nach dem Gemüseverzehr erreicht.<sup>[56b,57]</sup> Die Konzentration einzelner Metaboliten im Plasma kann 16  $\mu$ M betragen, in den meisten Untersuchungen



**Schema 3.** Zerfall von Indolglucosinolaten und Reaktionen der Abbauprodukte. NuH: nucleophile Verbindung, **25**: Indol-3-acetonitril. Modifiziert nach Lit. [46c].

liegt sie aber bei 1–3  $\mu\text{M}$ .<sup>[56b,57]</sup> Zudem werden bis zu 85 % des aufgenommenen Glucosinolats/Isothiocyanats über den Urin ausgeschieden.<sup>[57]</sup>

Das weitere Schicksal intakter, nicht hydrolysierter Glucosinolate wird noch kontrovers diskutiert. Damit keine Hydrolyse stattfindet, muss zuvor die Myrosinase inaktiviert werden, was sich durch thermische Behandlung, beispielsweise Blanchieren, erreichen lässt. Ein gewisser Anteil der Glucosinolate scheint jedoch im Magen hydrolysiert<sup>[58]</sup> oder dort durch passiven Transport (in protonierter Form) oder im Dünndarm durch Diffusion aufgenommen zu werden.<sup>[59]</sup> Im Dickdarm gibt es schließlich mehrere Bakterienstämme, die Glucosinolate je nach Art der bakteriellen Myrosinase-ähnlichen Aktivität zu Isothiocyanaten, Aminen oder Nitrilen hydrolysieren können.<sup>[60]</sup> Eine neuere Untersuchung an gnotobiotischen (keimfrei gehaltenen) Mäusen ergab zudem, dass intakte Glucosinolate auch über die Faeces ausgeschieden werden können.<sup>[56c]</sup> Nach einer Hydrolyse werden die Isothiocyanate absorbiert, metabolisiert und über den Urin ausgeschieden.<sup>[61]</sup>

Die Informationen über die Aufnahme, den Stoffwechsel und die Ausscheidung von Nitrilen und Epithionitrilen sind bisher noch begrenzt. Man nimmt an, dass sie wegen ihrer Struktur und Molekülgröße passiv aufgenommen werden.<sup>[10f,62]</sup> Von Epithionitrilen ist bekannt, dass sie ähnlich wie Isothiocyanate an Glutathion konjugiert werden und als entsprechende Mercaptursäuren mit dem Urin ausgeschieden

werden.<sup>[62,63]</sup> Dagegen werden aliphatische Nitrile in der Leber verstoffwechselt, wobei ein Aldehyd und das Cyanidion gebildet werden. Dieses entsteht auch bei der Metabolisierung organischer Thiocyanate durch Glutathion-S-Transferasen<sup>[64]</sup> und kann nach der Metabolisierung als Thiocyanat-Ion über den Urin ausgeschieden werden.<sup>[65]</sup>

### 1.3.3. Physiologische Wirkungen von Glucosinolaten und Bedeutung für die Gesundheitsvorsorge

In der Vergangenheit wurden Glucosinolate und ihre Abbauprodukte überwiegend als toxisch und goitrogen (Kropfbildend) betrachtet.<sup>[65a,66]</sup> Insbesondere enzymatisch erhaltene Oxazolidin-2-thione haben sich in Tierversuchen als wirksame Goitrogene erwiesen.<sup>[66f,67]</sup> Die Schilddrüsenhormonachse wird außerdem durch eine kompetitive Wirkung von Thiocyanat-Ionen und Iod inhibiert, vor allem wenn eine Iodmangelernährung vorliegt.<sup>[68]</sup> Allerdings können nur wenige Glucosinolate hinsichtlich ihrer chemischen Struktur bevorzugt Oxazolidin-2-thione (Glucosinolate **5** und **6**) oder Thiocyanat-Ionen (Glucosinolate **2**, **18–21**) bilden. Diese goitrogenen Verbindungen sind alle Produkte chemisch instabiler Isothiocyanate (Schema 1 und 3), daher hängt ihr Vorkommen von dem enzymatischen Abbau, den Protein-Cofaktoren und den Verarbeitungsbedingungen ab (siehe auch Abschnitte 1.3.1 und 2). Da die meisten Gemüse mit einem hohen Anteil an 2-Hydroxyalkenylglucosinolaten, z. B. Rosenkohl, vor dem Verzehr gekocht werden, sollte die goitrogene Wirkung bei der durchschnittlichen menschlichen Ernährung belanglos sein.<sup>[69]</sup> Negative Auswirkungen können aber noch in einigen Teilen der Welt eine Rolle spielen, in denen die geringe Iodversorgung ein bestimmtes Ausmaß hat. Zudem wurde die Kropfbildung durch das Einschleppen von Oxazolidin-2-thionen in Kuhmilch induziert, dieser Expositionsweg sollte noch berücksichtigt und überwacht werden.<sup>[70]</sup> Weiterhin hatten goitrogene Wirkungen in der Tierernährung Bedeutung, als Rapssaat mit einem hohen Anteil an Glucosinolat **5** verfüttert wurde. Durch Verringern des Glucosinolatgehalts und Ergänzen von Iod lassen sich Fehlernährungseffekte aber vermeiden.<sup>[67b,68b,71]</sup>

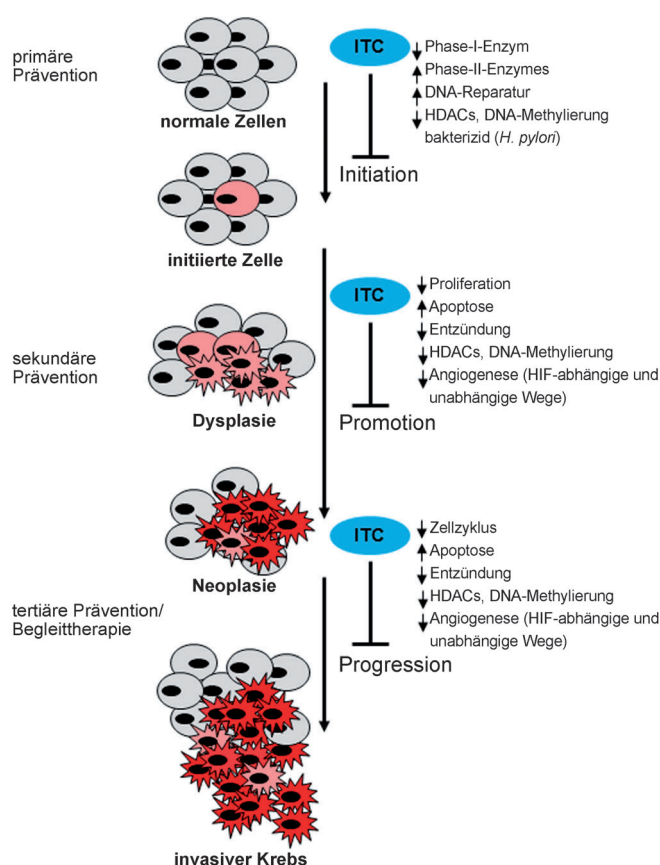
Auch wenn manche Glucosinolate goitrogenes Potenzial haben, lassen epidemiologische Untersuchungen und erste Forschungsergebnisse darauf schließen, dass Glucosinolate auch positiv auf die Gesundheit wirken können.<sup>[72]</sup> Seither werden negative und positive Gesundheitseffekte von Glucosinolaten in der Wissenschaft kontrovers diskutiert.<sup>[73]</sup>

Mehrere epidemiologischen Studien ließen einen umgekehrten Zusammenhang zwischen der Aufnahme von *Brassicaceae*-Gemüse und dem Risiko an verschiedenen Krebsarten zu erkranken erkennen.<sup>[74]</sup> Nachdem Zhang et al. 1992 4(R)-4-Methylsulfinylbutylisothiocyanat (Sulforaphan, **26**), ein Abbauprodukt von 4-(Methylsulfinyl)butylglucosinolat (**10**), als wesentlichen Bestandteil der krebshemmenden Wirkungen identifiziert hatten,<sup>[72]</sup> wurden **26** und andere Isothiocyanate eingehend auf ihre vorbeugenden Effekte gegen Krebs untersucht. So wurde nachgewiesen, dass Isothiocyanate bei Ratten und Mäusen die Entstehung von Krebs in verschiedenen Organen hemmen, darunter in Blase, Brust, Dickdarm, Lunge, Magen und Leber.<sup>[75]</sup> Auch Kurz-

zeit-Interventionsstudien unter Verwendung xenobiotischer Enzymmodulation sowie zytogenetischer Endpunkte, z.B. Mikronuklei und Induktion von DNA-Schäden, geben erste Hinweise auf die chemopräventiven Eigenschaften von isothiocyanathaltiger Nahrung beim Menschen.<sup>[76]</sup> Inzwischen haben erste klinische Phase-I-Studien die Sicherheit und Toleranz von Glucosinolaten und Isothiocyanaten in Broccolisprossen nachgewiesen,<sup>[77]</sup> und auf der Basis vielversprechender Ergebnisse aus vorklinischen Studien werden klinische Versuche mit dem Isothiocyanat **26** und Broccolisprossen zur Vorbeugung oder Behandlung von Lungen-, Brust- und Prostatakrebs durchgeführt.<sup>[78]</sup>

Zahlreiche Studien zur Identifizierung der Faktoren, die die Bioaktivität von Isothiocyanaten bestimmen, gaben Aufschluss über ihr Reaktionsverhalten in Zellkompartimenten und Organismen.<sup>[57]</sup> Im Wesentlichen reagieren Isothiocyanate mit elektrophilen Substituenten wie Thiol-, Amino- und Hydroxygruppen, beispielsweise der Phenolgruppe von Tyrosin.<sup>[79]</sup> Dabei verläuft die Reaktion mit Thiolgruppen  $10^3$ - bis  $10^4$ -mal schneller als mit Amino- oder Hydroxygruppen.<sup>[80]</sup> Die Bindung von Isothiocyanaten an kleine Thioleinheiten ist reversibel, dagegen führt die Reaktion mit Aminogruppen irreversibel zu Thioharnstoffderivaten. Glutathion ist in der Zelle die häufigste antioxidative Thiolverbindung, ihre Kupplungsreaktion und der folgende Austritt aus der Zelle bilden den ersten Schritt der Inaktivierung von Isothiocyanaten. Dies führt wiederum zu Änderungen im Redoxgleichgewicht der Zelle und erfordert Kompensationsmechanismen wie die Neusynthese von Glutathion. Bei steigenden Isothiocyanatkonzentrationen tritt jedoch ein Glutathionmangel auf, sodass die Reaktion mit anderen Zellproteinen überwiegt und zu kontrolliertem und schließlich unkontrolliertem Zelltod führt.<sup>[57]</sup> Bei einer neueren Proteomanalyse wurden mehr als 30 Proteine des Zytoskeletts, der Redoxregulierung, des Proteasoms und der Signaltransduktion bei Apoptose als Zielorte für intrazelluläre Wechselwirkungen mit Isothiocyanaten identifiziert.<sup>[81]</sup> Die Reaktivität der Isothiocyanate mit Thioleinheiten und damit die Bioaktivität variiert sehr stark und hängt von der Carbonylkettenlänge, den Substituenten, der Molekülgeometrie und der chemischen Stabilität ab.<sup>[57]</sup>

Der Karzinogeneseprozess lässt sich in die drei Phasen Initiation, Promotion und Progression unterteilen (Abbildung 3). Die Initiation einer Zelle kann durch Bindung eines Karzinogens und irreversible DNA-Schädigung erfolgen. In der Promotionsphase vermehren sich Klone der initiierten Zellen, weil regulatorische Proteine und zelluläre Kontrollpunkte, die wichtig für Proliferation und Apoptose sind, einen Funktionsverlust erleiden. Die Progression ist definiert als das Stadium, in dem sich die Tumorzellen phänotypisch und genotypisch irreversibel verändert haben und erhöhte Wachstumsgeschwindigkeit und Invasivität aufweisen. In diesem Modell sind Isothiocyanate als pleiotrop wirkende Biochemikalien gekennzeichnet, die in alle drei Stufen der Chemoprävention eingreifen. Zu den am besten untersuchten Wirkmechanismen einer Blockierung der Initiation gehören die aufeinanderfolgenden und zusammenwirkenden Inhibitoreffekte von Isothiocyanaten auf Phase-I-Cytochrom-P450-metabolisierende Enzyme. Diese Wirkung wird vermutlich



**Abbildung 3.** Wirkungsweise der durch Isothiocyanate vermittelten Krebsvorbeugung.

durch eine Kombination aus Enzymsuppression und direkter Inhibition ihrer katalytischen Aktivität vermittelt.<sup>[82]</sup> Dadurch sinken die Spiegel des in der Zelle gebildeten ultimatsten Karzinogens, und die Wahrscheinlichkeit mutagener Ereignisse, die zur Zellinitiation führen, verringert sich. Die Aktivierung der Phase-II-Enzymexpression über den KEAP1/Nrf2/ARE-Signalweg ist ein weiterer wichtiger Mechanismus, der die Zelle durch erhöhte Entgiftung karzinogener Verbindungen vor Initiation schützt. Für die Verbindung **26** lieferten In-vitro-Untersuchungen und Studien an Tieren und Menschen Hinweise auf eine Induktion von Phase-II-Enzymen.<sup>[83]</sup> Mechanismen zur Verhinderung der Promotions- und Progressionsphase umfassen die Inhibition von Ereignissen, die durch Kaskaden zellulärer Signalübertragungsmoleküle gesteuert werden. Neben Hormonen und Wachstumsfaktoren werden Entzündungen als wichtige tumorfördernde Stimuli angesehen, und die entzündungshemmende Wirkung von Isothiocyanaten durch Inhibition des NF- $\kappa$ B-Signalwegs wurde eindeutig nachgewiesen.<sup>[84]</sup> Neuere Ergebnisse lassen darauf schließen, dass Isothiocyanate aus *Brassica*-Arten auch als Regulatoren epigenetischer Mechanismen dienen; sie können Histondeacetylase-Transferasen (HDAC) und die Methylierung anomaler CpG-Inseln auf verschiedenen Genen, aber auch kurze nichtkodierende MicroRNAs inhibieren.<sup>[85]</sup>

Isothiocyanate verhindern das Wachstum und Überleben von Zellen, deren Entartung bereits vorbestimmt ist. Dabei



führt eine Behandlung mit Isothiocyanaten zu einer erhöhten Sensibilität von Krebszellen für einen Wachstumsarrest in der G1-, S- oder G2M-Phase<sup>[86]</sup> und löst auch in chemoresistenten Krebszellen, die hohe Spiegel an antiapoptisch wirkenden Bcl-2-Proteinen exprimieren, Apoptose (intrinsisch und extrinsisch) aus.<sup>[87]</sup> Darüber hinaus inhibieren Isothiocyanate und speziell das Isothiocyanat **26** in verschiedenen Krebszellen das antiapoptotisch wirkende Enzym Telomerase.<sup>[88]</sup> Auch Hypoxie-induzierte Faktoren (HIF) können wichtige Ziele sein und die antiangiogene Aktivität von Isothiocyanaten vermitteln, d.h. die Hemmung der Neubildung von Blutgefäßen in präneoplastischem Gewebe oder Neoplasien, für die aber auch HIF-unabhängige Mechanismen beschrieben wurden.<sup>[89]</sup> Zu diesen gehören andere Transkriptionsfaktoren wie NF- $\kappa$ B, AP1, MYC und Tubulin. Die entscheidende Frage ist, ob die normale Aufnahme von *Brassica*-Gemüse mit der Nahrung ausreichende Mengen von Isothiocyanaten liefern könnte, um in vitro/in vivo Ergebnisse auf den Menschen zu übertragen, oder ob eine pharmakologische Anwendung reiner Isothiocyanate erforderlich ist. Wie oben erwähnt, wurden einige Mechanismen der Krebsvorbeugung bereits beim Menschen nach dem Verzehr von *Brassica*-Gemüse nachgewiesen. Mit weiteren Untersuchungen müssen jedoch die für eine schützende Wirkung erforderlichen minimalen Aufnahmemengen wie auch die oberen Dosisgrenzen ermittelt werden. Isothiocyanate können wegen ihrer Reaktivität prinzipiell genotoxisch wirken, DNA-Addukte bilden und DNA-Mutationen induzieren. Auch über karzinogene Wirkungen wurde berichtet.<sup>[90]</sup>

Metaboliten von Indolglucosinolaten haben andere Wirkungsweisen. Das aus dem Glucosinolat **18** gebildete Carbinol **24** wird in wässriger Umgebung und im sauren Magensaft in zahlreiche Kondensationsprodukte umgewandelt, von denen das Dimer 3,3-Diindolylmethan das wirksamste Stoffwechselprodukt ist.<sup>[91]</sup> Zudem lassen Studien beim Menschen darauf schließen, dass **24** als Vorstufe des therapeutisch wirksamen Dimers dient.<sup>[92]</sup> Zahlreiche epidemiologische und präklinische Studien haben die krebshemmenden Eigenschaften der beiden Verbindungen nachgewiesen. Sie sollen mehrere Signalübertragungswege modulieren, die DNA-Reparaturmechanismen, Entzündungsprozesse, Zellwachstum, Apoptose und Angiogenese steuern.<sup>[91a,93]</sup> Dagegen soll ihre Wirksamkeit gegen hormonabhängige Krebsarten wie Brust-, Zervix- und Prostatakrebs auf ihrer Fähigkeit beruhen, den Östrogenstoffwechsel zu regulieren. Diese in vitro und in vivo nachgewiesene Wirkung wurde durch klinische Versuche beim Menschen bestätigt.<sup>[94]</sup> Beide Verbindungen hemmen die Signalübertragung am Östrogenrezeptor- $\alpha$  (ER $\alpha$ ) und verändern den Cytochrom-P450-vermittelten Östrogenmetabolismus.<sup>[95]</sup> Für das 3,3-Diindolylmethan wurde auch die ligandenunabhängige Aktivierung von ER $\beta$  nachgewiesen.<sup>[96]</sup> Die derzeit verfügbaren klinischen Daten für diese Verbindungen ergeben ein gutes Sicherheitsprofil und nur geringe Nebenwirkungen.<sup>[97]</sup> Allerdings wurde eine Krebspromotion in Rattenleber nach der Behandlung mit dem Carbinol **24** nachgewiesen.<sup>[98]</sup> Außerdem zeigten Abbauprodukte des Glucosinolats **21** in Bakterien- und Säugetierzellen genotoxische und mutagene Wirkungen.<sup>[99]</sup> Dessen äußerst instabiles Isothiocyanat kann mit der DNA wechselwirken und ein re-

sonanzstabilisiertes Carbokation bilden, das rasch mit nucleophilen Strukturen reagiert (Schema 3).<sup>[99b,100]</sup> Außerdem kann das zugehörige 1-Methoxyindol-3-carbinol durch die menschliche Sulfotransferase hSULT1A1 zum Sulfat aktiviert werden, das ebenfalls zu dem reaktiven Carbokation zerfallen kann.<sup>[99b,101]</sup> Ob das Glucosinolat **21** aber ein karzinogenes Risiko für Menschen darstellt, ist noch nicht bekannt. Zweifellos haben die genotoxischen Wirkungen von Isothiocyanaten die klinische Entwicklung reiner Isothiocyanate als chemopräventive Wirkstoffe erschwert. Allerdings ist bei den mit der Nahrung aufgenommenen Mengen stabiler Isothiocyanate wie **26** unwahrscheinlich, dass diese toxischen Wirkungen bei Menschen auftreten. Wenn aber Nahrungsergänzungsmittel oder pflanzliche Stoffe mit hoch angereichertem Isothiocyanat chronisch aufgenommen werden, ist eine gründlichere toxikologische Untersuchung essentiell, um den Sicherheitsanforderungen zu genügen und die Akzeptanz zu fördern. Im Gegensatz zu den Isothiocyanaten und **24** sind die Kenntnisse über mögliche gesundheitsfördernde Wirkungen von Nitrilen und Epithionitrilen begrenzt. Einigen Studien zufolge ist ihre Bedeutung für die Krebsvorbeugung durch *Brassica*-Arten eher gering,<sup>[102]</sup> andere berichten hingegen über eine moderate Induktion von Phase-II-Enzymen, beispielsweise durch das Nitril von 2(R)-2-Hydroxybut-3-enylglucosinolat (**5**).<sup>[102c,103]</sup> Diese Untersuchungen führten zu der Annahme, dass Nitrile in Abhängigkeit von der chemischen Struktur ihrer Seitenkette deutlich verschiedene Wirksamkeit haben.

Der Stoffwechsel von Glucosinolaten hängt demnach stark davon ab, ob Myrosinase oder ähnliche bakterielle Enzyme vorhanden sind oder ob vor dem Verzehr weitere chemische Umwandlungen erfolgen. Allerdings erfolgt der Verzehr der meisten *Brassica*-Gemüse nach häuslicher Verarbeitung, z.B. durch Kochen, wobei die Myrosinase inaktiviert werden kann. Daher müssen die Veränderungen von Glucosinolaten während der Lebensmittelverarbeitung ebenso bestimmt werden wie die Faktoren, die den Glucosinolatabbau und die Bildung von Abbauprodukten beeinflussen, und auch die Stabilität dieser Verbindungen ist von Bedeutung. Ohne diese Kenntnisse scheinen tiefere Einblicke in die Mechanismen der möglichen physiologischen Wirkung (eines Gemischs) von Glucosinolaten und ihren Abbauprodukten sowie die zugehörige Risiko-Nutzen-Bewertung von *Brassica*-Lebensmitteln unmöglich zu sein.

Wir berichten hier über Einzelheiten der Reaktivität von Glucosinolaten und ihren Abbauprodukten in Lebensmitteln unter besonderer Berücksichtigung der Lebensmittelmatrix.

## 2. Glucosinolate in Nahrungspflanzen – Umwandlungen während der Lebensmittelverarbeitung

Mit einer Produktion von 100 Millionen Tonnen weltweit im Jahr 2011 sind *Brassica*-Arten und damit Glucosinolate ein integraler Bestandteil der menschlichen Ernährung.<sup>[104]</sup> Die Verteilung und die Konzentrationen von Glucosinolaten in häufig verzehrten Gemüsen der *Brassicaceae*-Familie sind in den Hintergrundinformationen erhältlich. Die durchschnittliche tägliche Aufnahme von Glucosinolaten in der deutschen



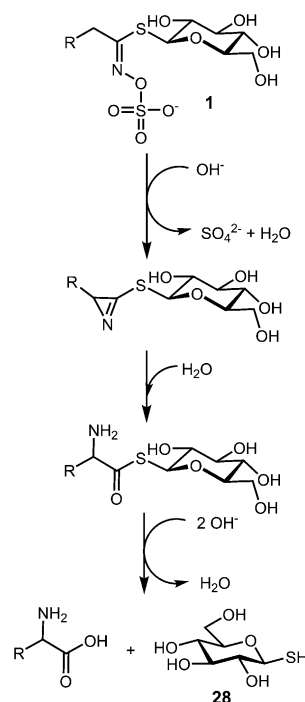
Bevölkerung beträgt 14.2 mg bei Männern und 14.8 mg bei Frauen, wovon etwa 10 % auf das Glucosinolat **10** entfallen. Broccoli, Rosenkohl, Blumenkohl und Rettich liefern in Deutschland den größten Beitrag zur Gesamtaufnahme an Glucosinolaten.<sup>[105]</sup> Broccoli ist reich an Glucosinolat **10** [11–34 mg/100 g Frischgewicht (FW) und **18** (7–17 mg/100 g FW),<sup>[105,106]</sup> während Rosenkohl vor allem die Glucosinolate **1** (22–45 mg/100 g FW), **5** (7–14 mg/100 g FW), **9** (6–14 mg/100 g FW) und **18** (25–44 mg/100 g FW) enthält.<sup>[31a,105]</sup> In Blumenkohl kommen ebenfalls hauptsächlich die Glucosinolate **1** (1–6 mg/100 g FW), **9** (0–6 mg/100 g FW) und **18** (5–19 mg/100 g FW) vor,<sup>[31a,105,106]</sup> dagegen ist in Rettich der Anteil des Glucosinolats **12** sehr hoch (50–119 mg/100 g FW).<sup>[31a,105]</sup> Manche dieser Gemüse werden roh gegessen, beispielsweise Rettich, Rucolasalat, Sprossen, Kresse, Senf oder Kohlsalate, aber normalerweise erfolgt vor dem Verzehr ein Verarbeitungsprozess. Diese Lebensmittelverarbeitung kann sich erheblich auf die Konzentration von Glucosinolaten und der zugehörigen Abbauprodukte auswirken.

Über Vor- und Nacherntefaktoren, die den Glucosinolatspiegel beeinflussen, verarbeitungsinduzierte Veränderungen und auch über genetisch beeinflusste Effekte der Verarbeitungsmethoden auf die Gemüsequalität sind vor kurzem Übersichten erschienen.<sup>[107]</sup> Daher bilden die chemischen Änderungen von Glucosinolaten und die damit verknüpften Mechanismen zusammen mit der Reaktivität von Abbauprodukten der Glucosinolate in Lebensmitteln den Schwerpunkt dieses Aufsatzes.

Durch Lagern sinken die Glucosinolatspiegel normalerweise,<sup>[108]</sup> und das Einfrieren roher *Brassica*-Gemüse verursacht den enzymatischen Abbau von Glucosinolaten induziert durch kristallisationsbedingte Zellzerstörung der Pflanzenzellen.<sup>[109]</sup> Dagegen werden die Glucosinolate in blanchierten Gemüsen bei der Tiefkühlagerung nicht angegriffen.<sup>[110]</sup> Auch das Schneiden führt zum gleichen enzymatischen Abbaumechanismus und verursacht erhebliche Glucosinolatverluste. Allerdings wurde nachgewiesen, dass der Gehalt an Indolglucosinolat sogar steigen kann, wenn Gemüse in größere Stücke geschnitten und 48 h gelagert werden.<sup>[111]</sup> Die in Deutschland übliche Fermentierung von Weißkohl („Sauerkraut“) umfasst zwei verschiedene Abbauewege: 1) den enzymatischen Abbau durch Myrosinase, der durch Aufweichen oder Zerreißen der Zellwand initiiert wird, und 2) den mikrobiellen Abbau durch Mikroorganismen mit Myrosinase-ähnlichen Enzymen.<sup>[60d,f,112]</sup> Die wichtigsten Abbauprodukte in fermentiertem Weißkohl sind aliphatische Isothiocyanate und Ascorbigen, ein aus **24** und der nucleophilen Ascorbinsäure gebildetes Reaktionsprodukt (siehe Schema 3, NuH = Ascorbinsäure).<sup>[112]</sup> Des Weiteren wirken sich Wärmebehandlungen wie Blanchieren, Kochen oder das Konservieren in Dosen unterschiedlich auf den enzymatischen Abbaumechanismus aus und beeinflussen den Glucosinolatgehalt und die Bildung von Abbauprodukten. Beispielsweise bleibt bei milder Wärmebehandlung die Myrosinaseaktivität erhalten, aber das Protein ESP wird inaktiviert, wodurch die Bildung von Isothiocyanat zunimmt.<sup>[113]</sup> Durch längeres Erhitzen wird auch die Myrosinase inaktiviert und folglich der enzymatische Abbau (nahezu) vollständig inhibiert.<sup>[114]</sup> Durch schonendes Kochen mit Mikrowellen

oder durch Dampfgaren bleiben die Glucosinolate größtenteils erhalten,<sup>[109,113c,114a,115]</sup> dagegen können Blanchieren und haushaltsübliches Kochen zu einem Glucosinolatverlust von mehr als 50 % führen – ein Vorgang, der hauptsächlich durch Auslaugen verursacht wird.<sup>[109,115,116]</sup>

Die Inaktivierung von Myrosinase durch den Kochvorgang bedeutet aber nicht unbedingt, dass der Glucosinolatabbau beendet ist. Glucosinolate sind keine inerten Verbindungen, sondern werden in Abhängigkeit von anderen Bedingungen, z. B. starker Säure oder Basen oder verschiedenen Metallsalzen, abgebaut.<sup>[6,11,71a,117]</sup> Durch protonenkatalysierte Hydrolyse entstehen Carbonsäuren und der Zucker **22**,<sup>[6,118]</sup> dagegen verläuft die basische Hydrolyse des Glucosinolats über eine Neber-Umlagerung zur Alkylaminosäure und 1- $\beta$ -D-Thioglucose (**28**; Schema 4).<sup>[117b]</sup> Neben dem Auslaugen



**Schema 4.** Basenkatalysierte Neber-Umlagerung des Glucosinolats **1** zu einer Aminosäure und dem Zucker **28**. Modifiziert nach Lit. [117b], R: CH<sub>2</sub>=CH<sub>2</sub>.

und dem enzymatischen Abbau könnte daher bei der Lebensmittelzubereitung auch ein thermisch induzierter chemischer Abbau stattfinden, vor allem bei längeren Kochzeiten und höheren Temperaturen, wie sie bei der Konservierung in Dosen (z. B. Broccolisuppe), beim Backen (z. B. Broccoligratin), Braten (z. B. pfannengerührter Broccoli) oder Frittieren (z. B. im Teig frittierter Broccoli) auftreten.

#### 2.1. Thermische Stabilität einzelner Glucosinolate und thermisch induzierte Bildung von Abbauprodukten

Bei den meisten Untersuchungen an gekochten *Brassica*-Gemüsen lassen sich die Beiträge durch enzymatischen

Abbau, Auslaugen und thermisch induzierten Zerfall nicht exakt trennen. Daher werden in diesem Abschnitt nur Studien besprochen, die ein Auslaugen oder einen enzymatischen Abbau ausschließen, sodass der thermische Abbau eindeutig der wichtigste Faktor ist. Angesichts der strukturellen Diversität von Glucosinolaten in *Brassica*-Arten ist ihre unterschiedliche Empfindlichkeit gegenüber Wärme nicht überraschend. Inzwischen ist allgemein bekannt, dass Indolglucosinolate bei der Wärmebehandlung von *Brassica*-Gemüsen thermisch instabiler sind als aliphatische Glucosinolate.<sup>[119]</sup> Da Indolglucosinolate resonanzstabilisierte Produkte bilden können, unterscheiden sich ihre Reaktionen signifikant von denen aliphatischer Glucosinolate. Beim Erhitzen von *Brassica*-Pflanzen unter Bedingungen, die Verluste durch Auslaugen und enzymatischen Abbau ausschlossen, erwies sich 4-Hydroxyindol-3-ylmethylglucosinolat (**19**) als am wenigsten stabil.<sup>[119a,d,e]</sup> Dagegen waren 1-Methoxyindol-3-ylmethylglucosinolat (**21**) und 3-Indolylmethylglucosinolat (**18**) weniger empfindlich<sup>[119a,d]</sup> wie schon von McDannell et al. 1988 vermutet wurde.<sup>[120]</sup> Slominski und Campbell berichten 1989 über den thermisch induzierten Abbau von Indolglucosinolaten in *Brassica*-Arten und identifizierten die entsprechenden Indol-3-acetonitrile als wichtigste thermische Abbauprodukte.<sup>[121]</sup> Dagegen beobachteten Chevolleau et al. (1997, 2002) bei einer Untersuchung der thermischen Stabilität des reinen Glucosinolats **18** nach 60-minütigem Erhitzen in Wasser nur 10 % Abbau. Zudem konnten sie das Nitril **25** nicht nachweisen, sondern erhielten als einziges Reaktionsprodukt 2-(Indolyl-3'-methyl)indolyl-3-methylglucosinolat.<sup>[122]</sup>

Verglichen mit den Indolglucosinolaten sind aliphatische Glucosinolate stabiler. Hanschen et al. (2012) wiesen durch Erhitzen gemahlener Broccolisprossen nach, dass die Abbaugeschwindigkeit aliphatischer Glucosinolate von ihrer Struktur bestimmt wird. Bei den schwefelhaltigen aliphatischen Glucosinolaten waren die Methylsulfinylalkylglucosinolate stabiler als die entsprechenden Methylsulfanylalkylverbindungen.<sup>[119d,123]</sup> Dabei wurde 3-(Methylsulfanyl)propylglucosinolat (**7**) als das instabilste aliphatische Glucosinolat identifiziert, das nach einstündigem Kochen bei 100 °C und dem natürlichen pH-Wert 5.3 zu 59 % abgebaut war.<sup>[123]</sup> Auch das ungesättigte 4-(Methylsulfanyl)but-3-enylglucosinolat (**12**) ist sehr instabil: Durch Dämpfen frischer Daikon-Rettichsprossen (Kaiware) bei 121 °C im Autoklav wurden innerhalb von 15 min 22 % des natürlich vorkommenden *E*-konfigurierten Glucosinolats in das *Z*-Isomer umgewandelt und 18 % vollständig abgebaut. Nach 90 min unter den gleichen Bedingungen waren 89 % vollständig abgebaut.<sup>[124]</sup>

In Bezug auf Struktur-Aktivitäts-Beziehungen wurde allgemein beobachtet, dass Glucosinolate mit einer Hydroxygruppe in der Seitenkette, z. B. **5** oder **19**, labiler sind als die entsprechenden nicht hydroxylierten Glucosinolate **3** und **18**.<sup>[119d,123]</sup> Oerlemans et al. (2006) berichteten über eine ähnliche Stabilitätsreihenfolge (unterhalb 110 °C). Sie konnten durch kinetische Modellierung aber zeigen, dass sich die Abbaukinetiken von aliphatischen und Indolglucosinolaten bei Ausgangstemperaturen über 110 °C in wässrigem Medium angleichen.<sup>[119a]</sup> Demnach kann sich die Temperatur ebenfalls auf die Kinetik des thermischen Abbaus auswirken. Dagegen

hatten aliphatische und Indolglucosinolate in Broccolisprossen bei trockenem Erhitzen (Rösten) sowohl bei 100 °C als auch bei 130 °C unterschiedliche thermische Stabilitäten.<sup>[119d]</sup>

Aliphatische Glucosinolate bilden während eines thermisch induzierten Abbauprozesses Isothiocyanate und Nitrile. 1970 schlugen MacLeod und MacLeod das Nitril als Hauptprodukt des thermischen Abbaus von Glucosinolaten vor<sup>[125]</sup> und belegten ihre Vermutung später durch Erhitzen der reinen Glucosinolate **1**, **16** und 2-Phenylethylglucosinolat (**17**) auf einer Gaschromatographiesäule. Dabei zerfielen die Glucosinolate überwiegend zu Nitrilen. Isothiocyanate traten erst bei höheren Temperaturen ( $\geq 150$  °C) auf.<sup>[126]</sup> Auch bei der direkten Behandlung der natürlichen Pflanzenmatrix wurden Nitrile als Hauptprodukte des thermisch induzierten Abbaus beschrieben,<sup>[123,127]</sup> und Isothiocyanate wurden nur bei vergleichsweise „niedriger“ Temperatur (100 °C) nachgewiesen, bei höheren Temperaturen dagegen überhaupt nicht.<sup>[123]</sup>

## 2.2. Weitere Einflussfaktoren des thermisch induzierten Abbaus

Neben der chemischen Struktur des Glucosinolats und den thermischen Bedingungen bestimmen weitere Faktoren wie die umgebende Matrix, der Wassergehalt, die Eisenkonzentration und der pH-Wert die Bildung chemischer Produkte im Glucosinolatabbau.

### 2.2.1. Einfluss des pH-Werts

Beim Kochen von *Brassica*-Gemüse bei dem natürlichen pH-Wert der Pflanze von 5.3 werden Glucosinolate als vergleichsweise stabil beschrieben. Bei höheren pH-Werten ( $\text{pH} > 8.0$ ) sind aliphatische wie auch Indolglucosinolate hingegen weniger stabil.<sup>[119d,123]</sup> Unter diesen Bedingungen war die Wiederfindung der Nitrile – der durch thermisch induzierten Abbau gebildeten Hauptprodukte – niedriger als in schwach saurer Umgebung, was auf eine thermische Instabilität der Nitrile selbst deutet.<sup>[123]</sup> Demgegenüber sind reine Glucosinolate stabiler,<sup>[123]</sup> und der prozentuale Anteil der Isothiocyanatabbauprodukte ist höher.<sup>[123,128]</sup> Gronowitz et al. (1978) berichteten über eine höhere thermische Stabilität des reinen Glucosinolats **5** bei pH 8 gegenüber pH 5.<sup>[129]</sup> Diese unterschiedlichen Ergebnisse sind ein klarer Hinweis darauf, dass sich die Pflanzenmatrix auf die Glucosinolatstabilität auswirkt. Außerdem wurde ein starker Einfluss von Pufferlösungen auf die thermischen Modelluntersuchungen beschrieben. So wurden Glucosinolate durch Natriumtetraaboratpuffer schon bei Raumtemperatur sehr effektiv abgebaut.<sup>[129]</sup>

### 2.2.2. Einfluss der Lebensmittelmatrix

Dekker et al. wiesen 2009 den „Pflanzenmatrixeffekt“ durch Kochen von fünf verschiedenen *Brassica*-Gemüsen nach. Sie beobachteten, dass die thermische Empfindlichkeit von Glucosinolaten innerhalb der Gemüse differierte, die Stabilitätsreihenfolge aber gleich blieb (**3** > **18** > **20**).<sup>[119b]</sup> Eine ähnliche Untersuchung durch kinetische Modellierung mit

vier *Brassica*-Gemüsen ergab kürzlich ebenfalls unterschiedliche thermische Stabilitäten im Kochwasser.<sup>[130]</sup> Weiterhin berichteten Hennig et al. (2012), dass Glucosinolate in verschiedenen *Brassica*-Gemüsen, die am gleichen Standort während derselben Jahreszeit gewachsen waren, die gleiche thermische Stabilität hatten; die Stabilitäten von Glucosinolaten gleicher Gemüse, die zu unterschiedlichen Jahreszeiten gewachsen waren, unterschieden sich jedoch.<sup>[131]</sup> Diese Ergebnisse lassen vermuten, dass der thermische Abbau eher durch die Wachstumsbedingungen als durch den Genotyp des Gemüses beeinflusst wird. Weitere Untersuchungen durch die gleiche Arbeitsgruppe ergaben jedoch, dass die thermische Stabilität der Glucosinolate auch genetisch reguliert zu werden scheint.<sup>[132]</sup> Bisher sind aber noch keine spezifischen, an dieser Regulierung beteiligten Gene bekannt.

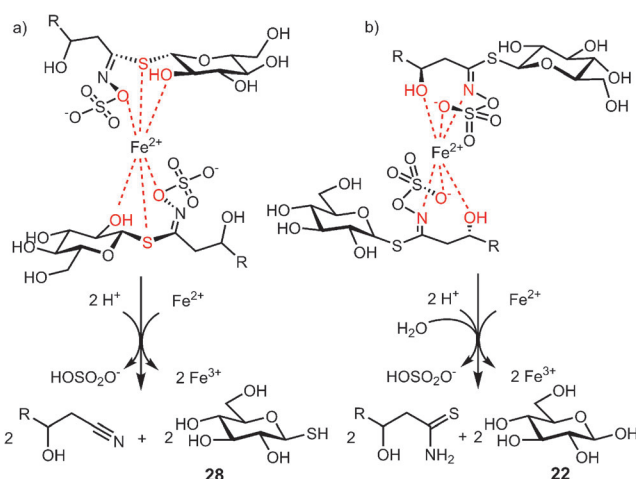
### 2.2.3. Einfluss des Wassergehalts im Pflanzenmaterial

Der Wassergehalt des pflanzlichen Materials wirkt sich ebenfalls auf den thermisch induzierten Abbau von Glucosinolaten aus. In pflanzlichen Proben mit niedrigem Wassergehalt waren Glucosinolate bei 120 °C am wenigsten stabil im Vergleich zu Proben mit höherem Wassergehalt. Bei 100 °C war dagegen der Abbau in Proben mit niedriger Restfeuchte geringer.<sup>[123, 128, 133]</sup> Bezüglich der chemischen Struktur hatte die Kettenlänge von Methylsulfanylalkyl- und Methylsulfanylalkylglucosinolaten zwar keine Auswirkungen auf die thermische Stabilität von Glucosinolaten in Broccolisprossen unter wässrigen Bedingungen, unter trockenen Bedingungen dagegen schon.<sup>[123]</sup>

### 2.2.4. Einfluss der Eisenkonzentration

Ein weiterer Faktor, der sich auf den thermisch induzierten Abbau auswirkt, ist die Konzentration von Eisenionen in den Proben. Es ist bekannt, dass  $\text{Fe}^{\text{II}}$  Glucosinolate über einen nicht enzymatischen Mechanismus abbauen kann. So wiesen Youngs und Perlin 1967 nach, dass das Glucosinolat **1** durch  $\text{Fe}^{\text{II}}$  abgebaut wird. Sie identifizierten die Abbauprodukte But-3-enitril (**29**) und Bis( $\beta$ -D-glucopyranosyl)disulfid und vermuteten die Bildung eines Glucosinolat-Metallkomplexes aus zwei Glucosinolatmolekülen und dem  $\text{Fe}^{\text{II}}$ -Ion vor dem Abbau.<sup>[134]</sup> Diese Annahme basierte auf der Beschreibung eines stabilen 1:2-Komplexes aus  $\text{Ni}^{\text{II}}$  und Methylthiohydroxamsäure,<sup>[135]</sup> das ähnliche Strukturmerkmale aufweist wie das Glucosinolat. Auf Hydroxyalkenylglucosinolate wirkt sich  $\text{Fe}^{\text{II}}$  hingegen anders aus, und neben dem Nitril entsteht das Thionamid als Hauptabbauprodukt.<sup>[136]</sup> Wärme steigert diese Abbaureaktion – ein Phänomen, das auch bei Indolglucosinolaten beobachtet wurde.<sup>[127, 134, 137]</sup> Bei äquimolarer  $\text{Fe}^{\text{II}}$ -Konzentration war (S)-2-Hydroxybut-3-enylglucosinolat (Epiprogoitrin) bereits nach 14 min bei 95 °C vollständig abgebaut.<sup>[136a]</sup> Auf der Basis des von Youngs und Perlin (1967) postulierten Komplexes<sup>[134]</sup> schlugen Bellostas et al. (2008) einen Mechanismus für diesen nichtenzymatischen Abbaueg vor (Schema 5).<sup>[138]</sup>

Die Wirkung geringer, aber pflanzenrelevanter  $\text{Fe}^{\text{II}}$ -Konzentrationen auf den thermischen Abbau von Glucosinolaten wurde untersucht, indem die 1.3-fache Konzentration



**Schema 5.** Mechanismen des  $\text{Fe}^{\text{II}}$ -katalysierten nichtenzymatischen Abbaus von Glucosinolaten. A) Abbau eines 2-Hydroxyalkenylglucosinolats zum Nitril und **28**. B) Abbau von 2-Hydroxyalkenylglucosinolaten zu Thionamiden und **22**. Nach Lit. [138].

löslichen Eisens oder das 1.3-fache der Gesamteisenkonzentration in Broccolisprossen als  $\text{Fe}^{\text{II}}$ -Ionen zugegeben wurde. Dadurch verminderte sich die Stabilität der Glucosinolate, und die Bildung von Nitrilen nahm um das Doppelte oder sogar Dreifache zu.<sup>[123]</sup> Mithilfe von Modellversuchen wurde die Wirkung von  $\text{Fe}^{\text{II}}$  oder  $\text{Fe}^{\text{III}}$ , der Broccolisprossenmatrix sowie der Zugabe von Vitamin C auf den thermisch induzierten Abbau des reinen Glucosinolats **1** untersucht.<sup>[128]</sup> Dabei hatte  $\text{Fe}^{\text{III}}$  überhaupt keinen Einfluss auf den thermisch induzierten Abbauprozess,  $\text{Fe}^{\text{II}}$  verringerte dagegen sogar in sehr geringen Konzentrationen (0.008 Moläquiv.  $\text{Fe}^{\text{II}}$ ) die thermische Stabilität des Glucosinolats und beschleunigte die Nitrilbildung, was gut mit der Bildung des Zuckers **28** anstelle der Freisetzung von **22** korrelierte.<sup>[128]</sup> Vitamin C kann den  $\text{Fe}^{\text{II}}$ -katalysierten Abbau durch Redoxcycling fördern.<sup>[128]</sup> Zudem wurde kürzlich ein Zusammenhang zwischen anderen Oxidantien wie Kaempferol- und Quercetinderivaten und der thermischen Stabilität nachgewiesen, und man vermutet, dass sie ebenfalls über Redoxcycling von  $\text{Fe}^{\text{III}}$  zu  $\text{Fe}^{\text{II}}$  wirken.<sup>[132b]</sup>

Demnach haben neben der Temperatur auch die Pflanzenmatrix und damit das Vorliegen von  $\text{Fe}^{\text{II}}$ -Ionen erheblichen Einfluss auf die Stabilität von Glucosinolaten bei der thermischen Lebensmittelzubereitung von *Brassica*-Gemüsen. Die Klärung der Mechanismen im Zusammenhang mit diesen Faktoren wäre daher ein entscheidender Schritt zum Verständnis der (thermischen) Glucosinolatstabilität und zur Vorhersage von Ergebnissen.

## 2.3. Thermisch induzierte Abbauege

Eine Untersuchung zum thermisch induzierten Abbau des Glucosinolats **1** führte zum Nachweis weiterer Abbauprodukte.<sup>[128]</sup> So identifizierten Hanschen et al. (2012) nach trockenem Erhitzen von **1** das Desulfoprop-2-enylglucosinolat **30** als eines der Hauptabbauprodukte.<sup>[128]</sup> Die Autoren ver-



muteten daher, dass **30** eine wichtige Zwischenstufe des thermisch induzierten Abbaus ist und belegten ihre Hypothese mit dem weiteren Abbau von Desulfoglucosinolaten zu den entsprechenden Nitrilen. Shahidi und Gabon hatten 1990 die Bildung eines Desulfoglucosinolats durch chemischen Abbau postuliert und Senfsaaten mit hohem Gehalt an Glucosinolat **1** bei Raumtemperatur mit einem Lösungsmittelgemisch aus Methanol/Ammoniak/Wasser-Hexan behandelt. Dabei wurde das Glucosinolat entfernt und geringe Mengen des Desulfoglucosinolats **30** nachgewiesen, das als Zwischenstufe dieses basenkatalysierten Abbaus vermutet wurde.<sup>[117c]</sup>

Für den thermisch induzierten Abbau von Glucosinolaten sollen drei unabhängige Wege von Bedeutung sein (Schema 6). Weg **A** hat Ähnlichkeit mit dem enzymatischen Abbau und läuft unter wässrigen Bedingungen ab. Dabei wird der Zucker **22** unter Bildung des Nitrils **29** oder des thermisch instabilen Allylisothiocyanats **31** abgespalten. Dieses kann weiter zu *N,N'*-1,3-Diallylthioharnstoff (**32**) abgebaut werden. Weg **B** enthält Schritte des Fe<sup>II</sup>-katalysierten Abbaus und beruht auf dem von Bellostas et al. (2008) vorgeschlagenen Mechanismus,<sup>[138]</sup> der zum Nitril und dem Zucker **28** führt. Weg **C** kann bei trockenem Erhitzen ablaufen und liefert vorwiegend durch Desulfatation die Verbindung **30**, die anschließend weiter zum Zucker **28** und dem Nitril **29** abgebaut wird.<sup>[128]</sup>

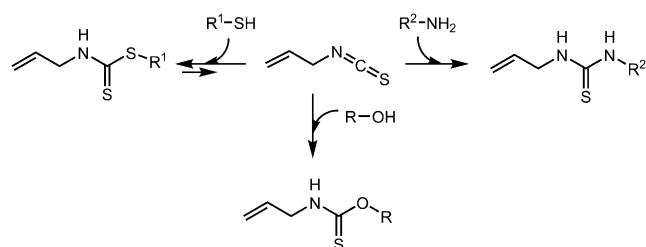
Die Ergebnisse für die thermische Stabilität von Glucosinolaten und den sie beeinflussenden Faktoren führten zu nützlichen Vorschlägen für chemische Mechanismen, die die Produktbildung durch thermisch induzierten Abbau erklären. Eine Interpretation der Mechanismen ist in den Hintergrundinformationen enthalten.

Der thermisch induzierte Abbau von Glucosinolaten während der Verarbeitung hängt folglich stark von der chemischen Struktur, dem Wassergehalt und dem pH-Wert sowie dem Gehalt an Fe<sup>II</sup> und Vitamin C im Pflanzengewebe ab.

### 3. Reaktivität der Abbauprodukte von Glucosinolaten

Glucosinolate werden normalerweise zu Nitrilen und Isothiocyanaten abgebaut. Nitrile sind vergleichsweise stabile Verbindungen,<sup>[139]</sup> die auch beim Erhitzen auf mehr als 100 °C kaum weiter abgebaut werden.<sup>[123]</sup> Verluste während des Kochens sind daher überwiegend eine Folge ihrer Flüchtigkeit. Isothiocyanate besitzen dagegen ein sehr elektrophiles Kohlenstoffatom und reagieren leicht mit Nucleophilen wie Hydroxy-, Amino- oder Thiolgruppen zu *O*-Thiocarbamaten, Thioharnstoffen bzw. Dithiocarbamaten (Schema 7).<sup>[80,140]</sup> In Senfpaste wurde die Reaktion mit Sulfid-Ionen zu Alkylaminothiocarbonylsulfonaten nachgewiesen.<sup>[141]</sup>

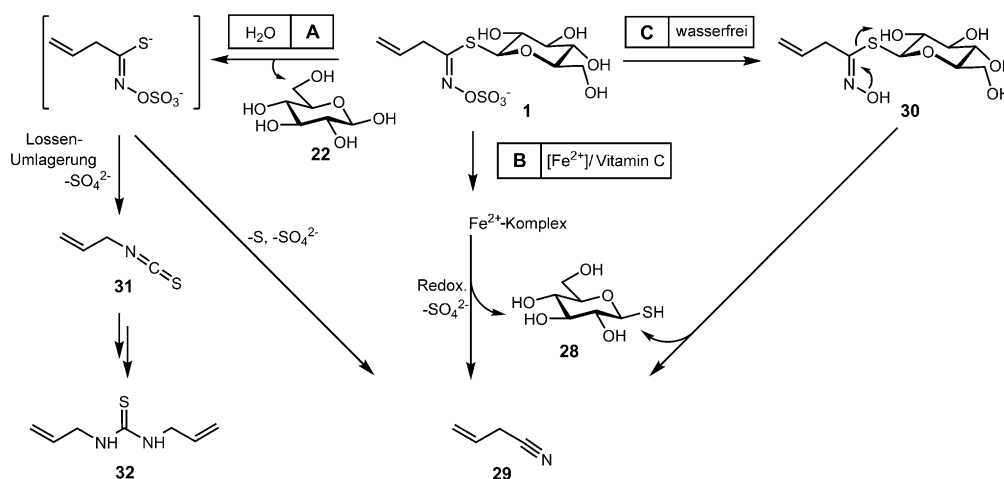
In pflanzlichen Lebensmitteln könnten vor allem die Kenntnis von Reaktionen mit Wasser, Aminosäuren und Proteinen sowie weiteren Produkten des thermisch induzierten Abbaus von Isothiocyanaten dazu beitragen, die auf Glucosinolaten basierende Bioaktivität und die Qualität von Lebensmitteln besser zu beurteilen.



Schema 7. Reaktionen von Isothiocyanaten mit Nucleophilen.

#### 3.1. Reaktionen von Isothiocyanaten unter wässrigen Bedingungen

Da Isothiocyanate aus *Brassica*-Arten normalerweise unter wässrigen Bedingungen entstehen, ist ihre Reaktion mit Wasser besonders wichtig, vor allem bei der thermischen Verarbeitung. Indolisothiocyanate sind sehr labil und zerfallen

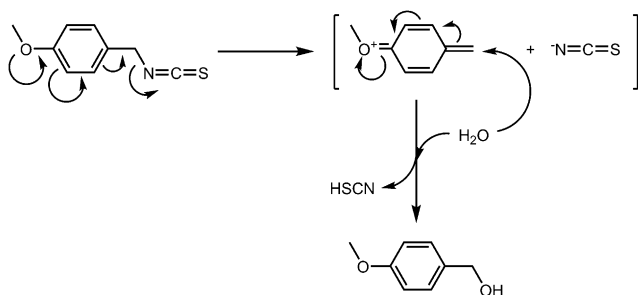


Schema 6. Thermische Abbauewege (A–C) aliphatischer Glucosinolats am Beispiel des Alkenylglucosinolats **1** [nach Hanschen et al. (2012)].<sup>[128]</sup>

A) Thermisch induzierter Abbau unter wässrigen Bedingungen. B) Fe<sup>II</sup>-katalysierter Abbau. C) Thermisch induzierter Abbau unter wasserfreien Bedingungen über das Desulfoglucosinolat **30**.

len in Wasser sofort unter Bildung eines Alkohols und des Thiocyanat-Ions.<sup>[46e]</sup> Man nimmt an, dass der Zerfall von Indolisothiocyanaten über ein resonanzstabilisiertes Carbokation verläuft, das sehr reaktiv ist.<sup>[99,100,142]</sup> Beispielsweise reagiert das Carbokation des Glucosinolats **21** mit ausgewählten DNA-Basen unter Bildung von DNA-Addukten (vgl. Schema 3 in Abschnitt 1.3).<sup>[99,100,142]</sup>

Einige *ortho*- oder *para*-hydroxylierte (oder methoxylierte) Benzylisothiocyanate bilden ebenfalls einen Alkohol und Thiocyanat als Abbauprodukte.<sup>[143]</sup> Dabei scheint eine Elektronendonorguppe in *ortho*- oder *para*-Position die Bildung des für diesen Reaktionsweg postulierten resonanzstabilisierten Kations zu erleichtern (Schema 8).<sup>[143]</sup> Andere

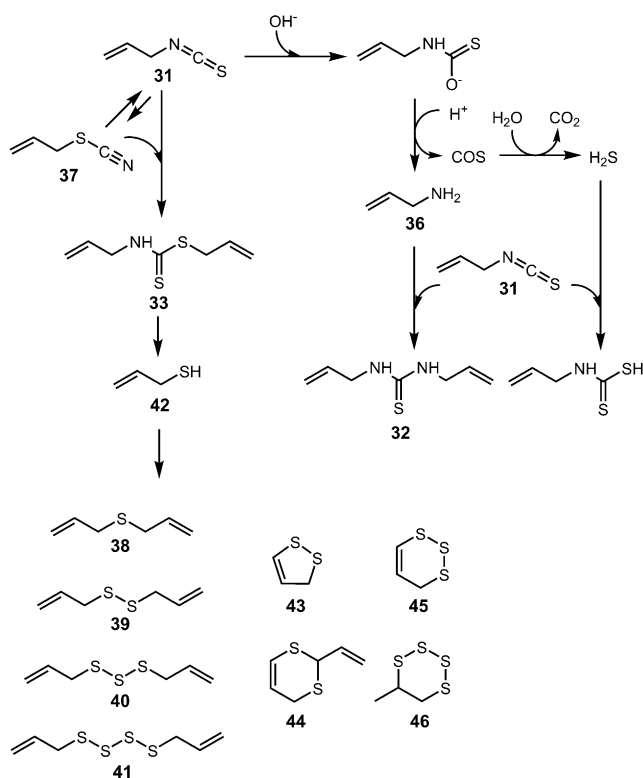


**Schema 8.** Abbau instabiler aromatischer Isothiocyanate zu einem Alkohol und dem Thiocyanat-Ion, nach Lit. [143].

aromatische Isothiocyanate, z.B. Benzyl- oder 3-Methoxybenzylisothiocyanat, werden ebenso wie aliphatische Isothiocyanate auf anderem Weg abgebaut. Letztere bilden durch den Angriff von Hydroxid-Ionen oder Wasser eine instabile *O*-Thiocarbaminsäure. Es zerfällt rasch zum Amin und Carbonylsulfid, das weiter zu Kohlendioxid (siehe Schema 9) und Schwefelwasserstoff abgebaut wird. Das Amin kann mit noch vorhandenen aromatischen Isothiocyanaten zu den entsprechenden *N,N'*-Diarylthioharnstoffen reagieren (siehe auch Schema 9).<sup>[80,144]</sup> In Gegenwart von Methanol entstehen in wässrigem Milieu auch von Isothiocyanaten abgeleitete Methyl-*O*-carbamate.<sup>[145]</sup>

Kawakishi und Namiki (1969) untersuchten den Zerfall des durch enzymatischen Abbau des Glucosinolats **1** erhaltenen Isothiocyanats **31** unter wässrigen Bedingungen.<sup>[146]</sup> Nach 10 Tagen bei 37°C und pH 5.2 waren 75 % des Isothiocyanats **31** abgebaut, wobei ein knoblauchähnlicher Geruch auftrat. Neben Diallyldithiocarbamat (**33**), dessen Abbauprodukten Diallyltetrasulfid (**34**) und Diallylpentasulfid (**35**) sowie molekularem Schwefel wurde auch die Verbindung **32** nachgewiesen, die durch Reaktion von Allylamin (**36**) mit dem Isothiocyanat **31** entsteht.<sup>[146]</sup>

Ähnlich wie der chemische Abbau von Glucosinolaten wird auch der Abbau von Isothiocyanaten in wässrigem Medium durch höhere pH-Werte und Temperaturen gefördert.<sup>[147]</sup> So werden Isothiocyanate durch Wärmebehandlung wie das Kochen rasch in eine Vielzahl von Abbauprodukten umgewandelt (Schema 9). In ihrer thermischen Stabilität unterscheiden sich die Isothiocyanate allerdings. So wurde das Isothiocyanat **31** als relativ instabil beschrieben: Bei



**Schema 9.** Thermischer Abbau des Isothiocyanats **31**, nach Lit. [146, 147b, 148].

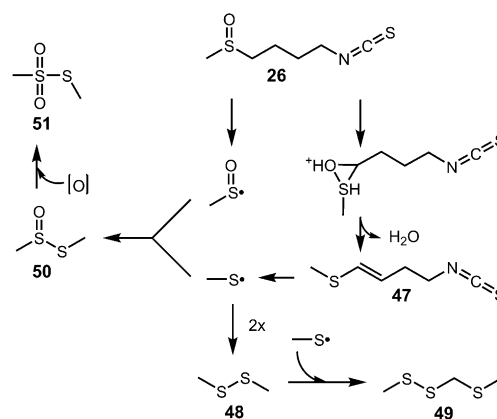
100°C und einem pH-Wert von 5.3 oder 7–7.3 sind nach einer Stunde 57 % bzw. 71 % der Verbindung abgebaut.<sup>[145c,148]</sup> Das Isothiocyanat **26** ist dagegen stabiler, denn unter den gleichen Bedingungen zerfielen nur 21 % (pH 5.3) bzw. 39 % (pH 7.3).<sup>[145c]</sup> Außerdem findet bei höherer Temperatur eine Isomerisierung der Isothiocyanate zu den entsprechenden Thiocyanaten statt, wobei das aliphatische Thiocyanat mit Isothiocyanaten zu Dithiocarbamaten weiterreagieren kann.<sup>[148,149]</sup> Bisher wurden mehrere Abbauprodukte nachgewiesen, deren Konzentrationen ebenfalls von den pH-Werten während der Reaktion abhängen.

Die Zersetzung des Isothiocyanats **31** bei 80°C und pH 4 lieferte das Amin **36**, Kohlenstoffdisulfid und Allylthiocyanat (**37**) als Hauptabbauprodukte. Bei 80°C und pH 8 war der Anteil an Amin noch höher, außerdem entstanden das Dithiocarbamat **33** und die Verbindung **32**.<sup>[147b]</sup> Chen und Ho (1998) konnten das Diallyldithiocarbamat **33** dagegen nicht nachweisen, nachdem sie das Isothiocyanat **31** 1 h bei 100°C und verschiedenen pH-Werten erhitzt hatten,<sup>[148]</sup> sondern identifizierten unter den flüchtigen Hauptabbauprodukten Diallylsulfid (**38**), Diallyldisulfid (**39**) und Diallyltrisulfid (**40**) sowie Spuren von Diallyltetrasulfid (**41**). Das nichtflüchtige Hauptabbauprodukt war interessanterweise die Verbindung **32**. Allylmercaptan (**42**) konnten Chen und Ho (1998) im Gegensatz zu Pecháček et al. (1997) nicht direkt nachweisen, bestimmten aber Spuren seiner Cyclisierungsprodukte 3H-1,2-Dithiolen (**43**), 2-Vinyl-4H-1,3-dithiin (**44**), 4H-1,2,3-Trithiin (**45**) und 5-Methyl-1,2,3,4-tetrathian (**46**; Schema 9).<sup>[147b,148]</sup> Verbindungen wie **44** und die verschiedenen Allylsulfide sind auch Abbauprodukte von Alliin (*S*-2-Pro-

penyl-L-cysteinsulfoxid), einer Vorstufe des Knoblaucharomas.<sup>[150]</sup> Der Nachweis dieser Verbindungen, vor allem des Disulfids **39**,<sup>[150b,c]</sup> erklärt den knoblauchähnlichen Geruch beim Erhitzen des Isothiocyanats **31** in wässrigem Medium, der auch für Senfpaste beschrieben wurde.<sup>[151]</sup>

Der thermische Abbau des Methylsulfinylisothiocyanats **26** erfolgt zum Teil auf einem anderen Weg als der des Isothiocyanats **31**. Wie bei **31** wird der überwiegende Teil der Verbindung **26** zum Amin hydrolysiert, das zu *N,N'*-Di(methylsulfinyl)butylthioharnstoff weiterreagiert.<sup>[145c,152]</sup> Der vorgeschlagene Mechanismus für die Bildung flüchtiger Abbauprodukte unterscheidet sich jedoch signifikant von dem, der für das Isothiocyanat **31** angenommen wurde, und soll Jin et al. (1999) zufolge über Radikale verlaufen.<sup>[152]</sup> Die vermutete Spaltung des Methylsulfinylradikals könnte auch die Bildung von But-3-enylisothiocyanat aus dem Isothiocyanat **26** im Probeneinlass eines Gaschromatographen erklären.<sup>[153]</sup>

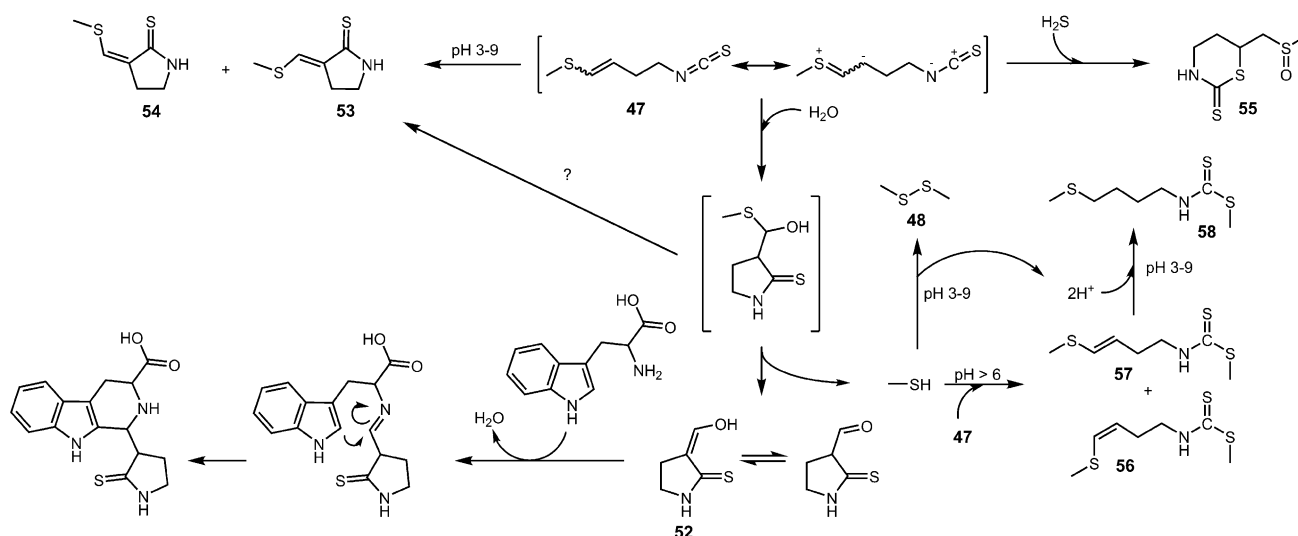
Weiterhin nahmen Jin et al. (1999) an, dass das Sauerstoffatom der Methylsulfinylgruppe über ein Epoxid ein 4-Methylsulfonyl-4-hydroxybutylisothiocyanat bilden könnte, das nach der Abspaltung von Wasser zu 4-Methylsulfonyl-3-butenylisothiocyanat (**47**) reagiert. Dieses könnte das Methylsulfonylradikal freisetzen, das zusammen mit dem Methylsulfinylradikal die übrigen nachgewiesenen Abbauprodukte bilden könnte: Dimethyldisulfid (**48**), 1,2,4-Trithiolan, Methyl(methylsulfonyl)methylidisulfid (**49**), *S*-Methylmethylsulfonylsulfonat (**50**) und das entsprechende Sulfonat **51** (Schema 10). Das Isothiocyanat **47** ist das wichtigste aus Rettich (*Raphanus sativus*) stammende Isothiocyanat<sup>[31a]</sup> und – wie auch sein oxidiertes Sulfinyl-Analogon – sogar bei Raumtemperatur sehr instabil.<sup>[145a,b,154]</sup> Seine Reaktivität und die verwandter Verbindungen beruht zweifellos auf der Doppelbindung in  $\alpha$ -Position zur Sulfonylgruppe, die Mesomerie ermöglicht, sodass das nucleophile C-Atom in  $\beta$ -Stellung die elektrophile Isothiocyanatgruppe angreifen kann. Dementsprechend wurden ausgehend von **47** mehrere cyclische Produkte nachgewiesen, darunter 3-(Hydroxy)methylen-2-thioxopyrrolidin (**52**), (*Z*)-3-(Methylsulfonyl)methylen-



**Schema 10.** Bildungsmechanismen für die flüchtigen thermischen Abbauprodukte des Isothiocyanats **26**, nach Lit. [152].

2-thioxopyrrolidin (**53**), das zugehörige (*E*)-Isomer **54**, sowie 6-(Methylsulfonyl)methyl-1,3-thiazinan-2-thion **55** ausgehend vom 4-(Methylsulfonyl)but-3-enylisothiocyanat (Schema 11). Da die Bildung von **55** durch Addition von Hydrogensulfid-Ionen initiiert wird, lässt sich die Stabilität des ungesättigten Sulfinylisothiocyanats durch Metall-Ionen erhöhen.<sup>[154]</sup> Des Weiteren reagiert das cyclische Produkt **52** leicht mit Tryptophan, Ascorbinsäure und mehreren Dihydroxyphenolverbindungen unter Bildung gelber Farbstoffe, die das Gelbwerden von verarbeitetem Rettich verursachen.<sup>[155]</sup> Die Bildung von **52** könnte Methanthiol freisetzen, das zu dem übelriechenden Sulfid **48** oxidiert wird oder mit dem Isothiocyanat **47** zu dem nachgewiesenen Methyl-(*Z*)-4-methylsulfonylbut-3-enyldithiocarbamat (**56**) und dessen (*E*)-Isomer **57** oder zu Methyl-4-methylsulfonylbutyldithiocarbamat (**58**) reagieren kann.<sup>[145a,b,154]</sup>

Da die Diversität der Struktur von Isothiocyanaten aus *Brassica*-Arten groß ist und nur einige ihrer Abbauege untersucht sind, ist es sehr wahrscheinlich, dass unter wässrigen Bedingungen weitere Möglichkeiten existieren, Abbaupro-



**Schema 11.** Reaktionen des Isothiocyanats **47** und dessen Sulfinylanalogon unter wässrigen Bedingungen, modifiziert nach Lit. [145b,154–156]. Verbindung **55** wird aus 4-(Methylsulfonyl)but-3-enylisothiocyanat gebildet, alle anderen Verbindungen leiten sich von **47** ab.



dukte von Isothiocyanaten zu bilden, die alle das Potenzial besitzen, zu Aroma und Farbe beizutragen und sogar in physiologische Prozesse eingreifen zu können.

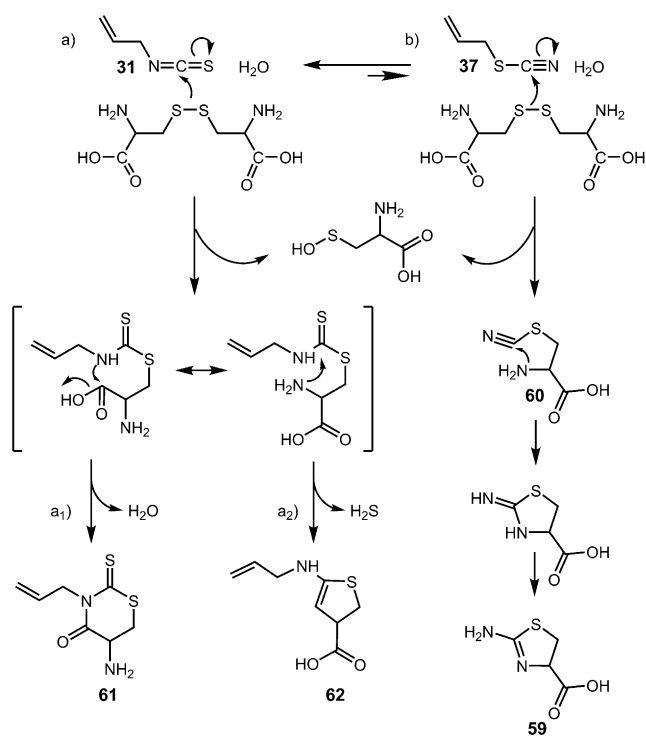
### 3.2. Reaktivität von Isothiocyanaten mit anderen Nucleophilen in Lebensmitteln

Außer durch thermisch induzierte Hydrolyse reagieren Isothiocyanate auch mit anderen Nucleophilen, die in den meisten Lebensmitteln in Form von Aminosäuren, Peptiden und Proteinen vorkommen. Diese enthalten Amino-, Thiol- oder Hydroxygruppen, die als Elektronendonoren wirken können. Mehrere kinetische Studien der Reaktion von Isothiocyanaten mit Aminen und Thiolen ließen erkennen, dass Isothiocyanate mit der dissoziierten Form von enthaltenen Amino-, Thiol- oder Hydroxygruppen (freie Basen) reagieren, daher begünstigt ein hoher pH-Wert diese nucleophilen Additionen, wobei die Reaktivität der Reihenfolge Thiolgruppe  $\gg$  Aminogruppe  $>$  Hydroxygruppe entspricht.<sup>[80,157]</sup> Die Kinetik der Reaktion hängt ab von 1) dem pH-Wert, der sich auf die Reaktion erster Ordnung der Amino- oder Thiolgruppe zur freien Base auswirkt, 2) der Isothiocyanatstruktur und 3) dem nucleophilen Substituenten/Reaktionspartner.

Die Reaktivität von Amino- oder Thiolverbindungen gegenüber Isothiocyanaten steigt mit ihrer Basizität.<sup>[157a,158]</sup> Sie hängt außerdem von der Struktur der Seitenkette im Isothiocyanat ab, wobei geringere Größe und zunehmende elektrophile Eigenschaften der Seitenkette die Reaktivität steigern. Das bedeutet, dass eine geringere Elektronendichte am reagierenden Kohlenstoffatom der Isothiocyanatgruppe die Reaktivität fördert, wie Drobnica und Augustin (1965) nachgewiesen haben. Sie untersuchten die Reaktivität verschiedener Arylisothiocyanate mit Thioglycolat und Glycin und stellten fest, dass elektronenziehende Substituenten die Reaktivität erheblich verbessern.<sup>[157b]</sup> Diese Additionsreaktionen haben eine Kinetik zweiter Ordnung, die auch von der Konzentration der Reaktionspartner abhängt.<sup>[157a,b]</sup>

In Lebensmitteln reagieren Isothiocyanate mit freien Aminosäuren, Peptiden und Proteinen bei den dort relevanten pH-Werten (pH 4–8). Während die Bildung von Thioharnstoff durch Reaktion mit den Aminogruppen von Aminosäuren langsam verläuft und zumindest neutrale Bedingungen erfordert, um von Bedeutung zu sein,<sup>[145c]</sup> entstehen Thiocarbamate mit Cystein oder Glutathion in saurem Medium vergleichsweise rasch.<sup>[145c,157a]</sup> Zudem reagieren Isothiocyanate nicht nur mit freien Thiolen, sondern können auch Disulfidbindungen von Cystin und oxidiertem Glutathion oxidativ spalten,<sup>[159]</sup> wobei das Dithiocarbamat und eine Sulfinoverbindung entstehen (Schema 12).

Auch das Thiocyanat **37**, das durch Isomerisierung des zugehörigen Isothiocyanats **31** entsteht, kann die Disulfidbindung aufbrechen (Schema 12b). Der Nachweis von 2-Amino-2-thiazolin-4-carbonsäure (**59**) führte zu der Annahme, dass diese Verbindung durch Cyclisierung und Isomerisierung des Spaltungsprodukts  $\beta$ -Thiocyanoalanin (**60**) gebildet wird.<sup>[159c]</sup> Die durch Reaktion mit Cystein entstandenen Dithiocarbamate können unter Abspaltung von Wasser zu



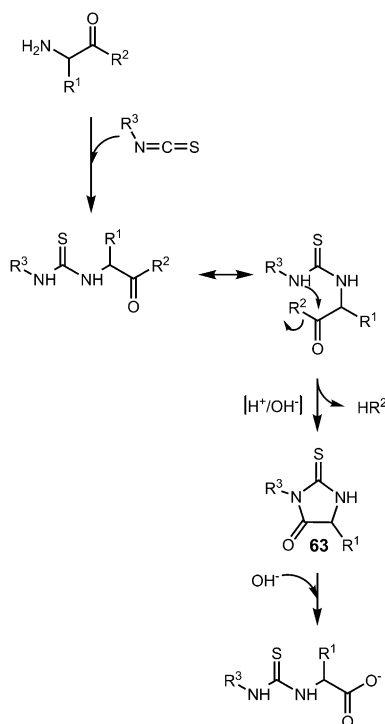
**Schema 12.** Vorgeschlagener Mechanismus für die Reaktion von Cystin mit dem Isothiocyanat **31**, nach Lit. [159a,c]. a) Isothiocyanat-induzierte Spaltung. Das Dithiocarbamat cyclisiert danach unter Abspaltung von a<sub>1</sub>) Wasser oder a<sub>2</sub>) Schwefelwasserstoff. b) Thiocyanat-induzierte Spaltung der Disulfidbindung.

3(3*H*)-Allyl-5,6-dihydro-5-amino-2(2*H*)-thioxo-1,3-thiazin-4-on **61** cyclisieren (Schema 12, a<sub>1</sub>) oder Schwefelwasserstoff freisetzen und 2-Allylamino-2-thiazolin-4-carbonsäure **62** bilden (Schema 12, a<sub>2</sub>).<sup>[159a,c]</sup>

Da die nucleophile Addition jedoch reversibel ist, können die Dithiocarbamate unter Basenkatalyse wieder zu Isothiocyanaten und Aminosäuren zerfallen.<sup>[160]</sup> Diese Rückreaktion läuft auch unter physiologischen Bedingungen (pH 7.3, 37°C) ab, und Cystein- und Glutathiondithiocarbamate sind als *In-vivo*-Transportmittel für Isothiocyanate beschrieben.<sup>[161]</sup> Eine detaillierte Untersuchung der Stabilität dieser Dithiocarbamate durch Conaway et al. (2001) ergab, dass die Cysteinaddukte verschiedener Isothiocyanate weniger stabil sind als die entsprechenden Glutathionaddukte.<sup>[54]</sup> Außerdem wurde nachgewiesen, dass die Konzentration der Dithiocarbamate sehr rasch abnimmt, wenn konkurrierende Thiole, die stabilere Dithiocarbamate bilden, oder Aminoverbindungen vorhanden sind.<sup>[160,161]</sup> Nakamura et al. berichteten 2009 über die Austauschreaktion zwischen dem Addukt **31**-*N*<sup>α</sup>-Acetyl-L-cystein und synthetischem *N*<sup>ε</sup>-Benzoylglycyl-L-lysin und stellten fest, dass das Thiol nach 24 h fast vollständig gegen die Aminogruppe ausgetauscht war. Da die Reaktion unter annähernd physiologischen Bedingungen (pH 7.4, 37°C) durchgeführt wurde,<sup>[160]</sup> könnte sie auch in Lebensmitteln von Bedeutung sein. Die Aminogruppen von Aminosäuren reagieren zwar langsamer, aber die entstehenden Addukte sind stabil und können auch als Marker zur Bestimmung von

Isothiocyanat-/Glucosinolatspiegeln in menschlichem Blutplasma verwendet werden.<sup>[162]</sup>

Ähnlich wie die oben erwähnten Dithiocarbamate können Thioharnstoffderivate, die aus der Reaktion von Isothiocyanaten mit der Aminogruppe von Peptiden stammen, cyclisieren und mit Wasser oder durch N-terminale Spaltung der Peptidkette 2-Thiohydantoin wie **63** bilden (Schema 13).<sup>[159b, 163]</sup> Diese Reaktion ist bei höherem pH-Wert



**Schema 13.** Reaktion von Isothiocyanaten mit Aminosäuren oder Peptiden unter wässrigen Bedingungen zu den 2-Thiohydantoinen **63**, nach Lit. [163]. R<sup>1</sup> = Aminosäurerest; R<sup>2</sup> = N-gebundenes Peptid (Aminosäure), O<sup>-</sup>; R<sup>3</sup> = Alkylrest.

(pH 8) begünstigt, läuft aber auch in saurem Medium (pH 6) ab.<sup>[159b, 163]</sup> Die Bildung von 2-Thiohydantoinen durch Spaltung der Peptidkette ist als Edman-Abbau bei der Aminosäuresequenzierung von Proteinen allgemein bekannt.<sup>[164]</sup> Die Reaktivität der Aminogruppen von Aminosäuren ist recht niedrig, wobei Hanschen et al. (2012) mit synthetischen Lysinderivaten nachwiesen, dass die  $\alpha$ -Aminogruppe bei Raumtemperatur und einem pH-Wert von 7.3 mit Isothiocyanaten wie **31** oder **26** schneller reagiert als die  $\epsilon$ -Aminogruppe.<sup>[145c]</sup> Demnach scheinen die  $\epsilon$ -Aminogruppen von Lysin in Lebensmittelproteinen auf den ersten Blick ein vergleichsweise unattraktives Ziel für den Angriff durch Isothiocyanate zu sein. Da die  $\epsilon$ -Thioharnstoffe aber stabiler sind als die  $\alpha$ -Thioharnstoffe,<sup>[145c]</sup> werden die Lysinseitenketten in Proteinen trotzdem durch Isothiocyanate modifiziert.<sup>[79, 165]</sup>

Als nucleophile Verbindungen in Lebensmitteln sind auch Proteine ein mögliches Ziel für den Angriff durch Isothiocyanate. Mehrere Untersuchungen galten daher Proteinen, die durch Isothiocyanate aus *Brassica*-Arten modifiziert waren. Allerdings wurden diese Studien meist an isolierten

Proteinen oder Proteinfractionen durchgeführt, nur für wenige wurden proteinreiche Lebensmittel verwendet.<sup>[79, 165, 166]</sup> Da Proteine aber *in vitro*<sup>[167]</sup> und auch *in vivo*<sup>[162, 168]</sup> durch den Angriff von Isothiocyanaten modifiziert werden, finden diese Reaktionen sehr wahrscheinlich auch in Lebensmitteln statt und sollten berücksichtigt werden. Der Nachweis bestimmter Aminosäureaddukte oder Proteinmodifizierungen in komplexen Lebensmittel- oder physiologischen Matrices ist noch sehr schwierig, doch auch wenn diesbezügliche Ansätze bisher ohne Erfolg waren, mindern sie nicht die Bedeutung dieser Reaktionen. Zudem sind sie Ausdruck für die Schwierigkeiten, die die Analyse derart komplexer Reaktionsgemische mit hunderten heterogener Abbau- und Reaktionsprodukte bietet. Wie der Blick in die Literatur zeigt, wurden die meisten Untersuchungen als Modellstudien durchgeführt, um diese Schwierigkeiten schrittweise zu überwinden. Die Bedeutung dieser Additionsreaktionen für einzelne *Brassica*-Lebensmittel und ihre Wirkung auf die Lebensmittelqualität erfordert weitere Untersuchungen.

Björkman (1973) untersuchte die Wechselwirkungen zwischen Serumalbumin und Rapssaatproteinen mit mehreren <sup>35</sup>S-markierten Glucosinolaten nach Zugabe von Myrosinase bei verschiedenen pH-Werten. Er beobachtete eine rasche Zunahme der Radioaktivität durch Addition von Isothiocyanat bei pH > 6, wobei die Isothiocyanate vorwiegend mit der niedermolekularen basischen Proteinfraction reagierten.<sup>[169]</sup>

Murthy und Rao (1986) berichteten über Wechselwirkung des Isothiocyanats **31** mit der hochmolekularen Proteinfraction 12S (die wenig Cystein enthält) von Senf. Bei pH-Werten oberhalb von 7 war der Gehalt an verfügbarem Lysin durch Modifizierung des  $\epsilon$ -Aminosäurerests zu Thioharnstoff-ähnlichen Derivaten vermindert. Außerdem war die Abbaubarkeit durch Trypsin verringert, was die Autoren auf die Modifizierung einiger OH-Gruppen von Tyrosin zurückführten.<sup>[79]</sup> Über die verminderte tryptische Verdaubarkeit von Proteinen infolge einer Modifizierung durch Isothiocyanat bei pH-Werten zwischen 7.5 und 9 haben auch andere Arbeitsgruppen berichtet und sie einer Veränderung der Seitenketten von Lysin und vermutlich Arginin zugeschrieben.<sup>[166b, 170]</sup> Das Stickstoffatom des sekundären Amins Tryptophan kann ebenfalls durch Isothiocyanate modifiziert werden, wie Untersuchungen an Myoglobin zeigten, das nur Amino-, aber keine Thiolgruppen enthält.<sup>[165, 171]</sup> Dabei konnten durch MALDI-TOF-Massenspektrometrie bis zu 16 Moleküle Benzylisothiocyanat addiert an die Aminogruppen nur eines Moleküls Myoglobin nachgewiesen werden.<sup>[165]</sup>

Die Thiolgruppen der Seitenketten von Cysteinproteinen können sogar noch empfindlicher gegenüber einer Veränderung durch Isothiocyanate sein als Aminogruppen und auch in saurem Medium reagieren.<sup>[170b, 172]</sup> Rade-Kukic et al. (2011) berichteten, dass Isothiocyanate zuerst mit den vorhandenen Thiolen reagieren und Aminogruppen nur modifiziert werden, wenn die Isothiocyanate im Überschuss vorliegen.<sup>[172]</sup> Als Marker für die Bildung von Dithiocarbamat (und dessen weiteren Abbau) wirkt die Abspaltung von Kohlenstoffdisulfid aus diesen Proteinen, wie mit Eiweißproteinen und dem Enzym Bromelain aus Ananas (*Ananas comosus*) nachge-

wiesen wurde.<sup>[166a,170a]</sup> Des Weiteren untersuchten Kawakishi und Kaneko (1987) Reaktionen des Isothiocyanats **31** mit verschiedenen Lebensmittelproteinen bei pH-Werten von 6–7.5. Sie entdeckten, dass vor allem Rinderserumalbumin, das vergleichsweise viele Disulfidbindungen enthält, rasch mit dem Isothiocyanat reagiert.<sup>[170b]</sup>

Die Spaltung von Disulfidbindungen durch den Angriff von Isothiocyanat kann auch zur Polymerisation von Proteinen führen.<sup>[170b]</sup> Als Folge dieser Proteinmodifizierung durch Isothiocyanat wurden eine Verschiebung des isoelektrischen Bereichs zu niedrigeren pH-Werten, eine verringerte Löslichkeit sowie eine Entfaltung und der Verlust der allgemeinen Proteinstruktur aufgrund verminderter elektrostatischer Anziehung und zunehmender hydrophober Eigenschaften beschrieben.<sup>[166,170,172]</sup> Dadurch ändern sich die technofunktionellen Eigenschaften oder die Bioaktivität der „derivatisierten“ Proteine. Beispielsweise waren die Aggregationseigenschaften bei Wärmeeinwirkung, das Schäumen und die Emulgiereigenschaften von  $\beta$ -Lactoglobulin-Isothiocyanat-Addukten verändert.<sup>[172]</sup> Außerdem hatte das proteolytische Enzym Bromelain seine Enzymaktivität verloren.<sup>[170a]</sup> Bezüglich der Ernährung ergab eine Fütterungsstudie bei Ratten in vivo einen Verlust an verfügbarem Lysin und damit eine Abnahme der biologischen Nutzbarkeit von Stickstoff, und auch die Proteinverdaubarkeit war insgesamt niedriger.<sup>[173]</sup> Was die menschliche Ernährung angeht, kann ein einfaches Rezept gelten: In einigen Teilen der Welt werden Eier zusammen mit Senf gegessen. Der Verzehr von einem Ei (60 g, 12.5 % Protein) mit einer normalen Portion Senf (10 g, 126.8  $\mu$ mol Isothiocyanat)<sup>[76g]</sup> entspricht 16.9  $\mu$ mol Isothiocyanat als potenzielle Reaktionspartner je Gramm Protein. Kroll et al. (1994) berichteten, dass eine ähnliche Isothiocyanatkonzentration (15.2  $\mu$ mol Benzylisothiocyanat je Gramm Protein) den verfügbaren Lysingehalt von Eiweiß um 6.6 % verringerte.<sup>[166b]</sup> Demnach treten diese Reaktionen in schwefel- oder lysinreichen Lebensmitteln in einer Kombination mit Zutaten/Beilagen aus Pflanzen der Ordnung *Brassicales* und beispielsweise Fleisch oder Eiern auf, und es ist zu erwarten, dass die ernährungsphysiologische Qualität modifizierter Proteine geringer ist. Dagegen könnten die Reaktionen mit Thiolgruppen von Enzymen und Proteinen die Ursache für die potenzielle gesundheitliche Präventivwirkung von Isothiocyanaten in vivo sein, wie die Induktion von Phase-II-Enzymen und Apoptose sowie antithrombotische Effekte belegen.<sup>[81b,167,174]</sup>

Fast alle Untersuchungen zur Reaktivität von Isothiocyanaten mit Lebensmittelnucleophilen wurden an Modellsystemen durchgeführt, die meisten davon bei basischen pH-Werten. Lebensmittel haben aber normalerweise saure pH-Werte (pH 4–6), und nur sehr wenige, z. B. Eiweiß, sind basisch (pH bis zu 9.5<sup>[173]</sup>). Thiolgruppen reagieren mit Isothiocyanaten auch bei sauren pH-Werten,<sup>[145c]</sup> und schwefelreiche Proteine und Thiole wie Cystein oder Glutathion werden von Isothiocyanaten in Lebensmitteln angegriffen und leicht modifiziert.

#### 4. Zusammenfassung und Ausblick

Die Konzentration von Glucosinolaten und Isothiocyanaten in Lebensmitteln auf der Basis von *Brassica*-Arten variiert sehr viel stärker als früher angenommen. Beide Verbindungsklassen unterliegen während der Lebensmittelverarbeitung zahlreichen Änderungen. Dazu gehört unter anderem der thermische Abbau, der Glucosinolate über mehrere chemische Mechanismen vorwiegend in Nitrile umwandelt. Neben der chemischen Struktur des Glucosinolats haben Faktoren wie der pH-Wert, die Pflanzenmatrix, Fe<sup>II</sup>-Ionen, Vitamin C und andere Oxidantien sowie der Wassergehalt starke Auswirkungen auf die Empfindlichkeit und den Reaktionsweg. Isothiocyanate, denen gesundheitsfördernde Wirkungen zugeschrieben werden, können durch thermische Behandlung erheblich angegriffen werden und sich zu einer Vielzahl flüchtiger und nichtflüchtiger Verbindungen zersetzen. Dadurch haben sie auch indirekte Auswirkungen auf das Aroma gekochter Lebensmittel.

Da diese Verbindungen unter lebensmittelrelevanten Bedingungen mit Aminosäuren und Proteinen reagieren, ist es sehr wahrscheinlich, dass sie die ernährungsphysiologische Qualität und die technofunktionellen Eigenschaften von Proteinen beeinflussen. In der menschlichen Ernährung ist Lysin die limitierende Aminosäure, ihre Konzentration ist in den meisten pflanzlichen Proteinen sehr viel niedriger als in tierischen Proteinen.<sup>[175]</sup> In Entwicklungsländern und auch bei vegetarischer Ernährung entspricht die tägliche Aminosäureaufnahme oft nicht den Empfehlungen der WHO.<sup>[175a,176]</sup> Außerdem könnte ein hoher Verzehr von *Brassica*-Gemüsen die Aminosäureaufnahme verringern, weil Qualität und Verdaubarkeit der Proteine abnehmen. Hierzu sind weitere Forschungen notwendig, die die Auswirkungen solcher Reaktionen auf die Gesamtqualität der Nahrung untersuchen. Da die Analyse von Abbau- und Reaktionsprodukten sehr schwierig ist, müssen Analysestrategien und analytische Methoden verbessert oder entwickelt werden. Bezüglich der Reaktionsprodukte von Isothiocyanaten und Proteinen scheinen sogar die üblichen Methoden der Proteomik nur begrenzten Erfolg zu haben. Hier sind innovative Neoproteomikstrategien mit chromatographisch-massenspektrometrischen Methoden erforderlich.

Dementsprechend ist der Nachweis gesundheitlicher Präventivwirkungen dieser Verbindungen eine schwierige Aufgabe, und die Perspektiven für die Ernährungswissenschaft scheinen wegen derzeit noch unzureichender Kenntnisse ernüchternd zu sein. Die hohe Zahl heterogener Abbau- und Reaktionsprodukte, die zur Bioaktivität beitragen könnten, erschwert die Risiko/Nutzen-Abwägung. Zur Lösung der genannten Schwierigkeiten sollte der Schwerpunkt künftiger Forschungsansätze daher vor allem auf den chemischen Mechanismen liegen. Die Chemie von Isothiocyanaten und Nitrilen muss reaktiviert und in die Glucosinolatforschung integriert werden.

Nach Veröffentlichung dieses Manuskripts in *Angewandte Chemie* Early-View wurden Änderungen an Text und Bildmaterial vorgenommen. Die Redaktion.



## Danksagung

Wir danken Dr. Ronald Maul für seine Hilfe.

Eingegangen am 21. Februar 2014

Online veröffentlicht am 27. August 2014

Übersetzt von Dr. Kathrin-M. Roy, Langenfeld

- [1] J. W. Fahey, A. T. Zalcmann, P. Talalay, *Phytochemistry* **2001**, 56, 5–51.
- [2] G. R. Fenwick, R. K. Heaney, W. J. Mullin, C. H. VanEtten, *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **1982**, 18, 123–201.
- [3] F. Boutron, P. J. Robiquet, *J. Pharm. Sci. Accessoires* **1831**, 17, 279–298.
- [4] A. Bussy, *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1840**, 34, 223–230.
- [5] J. Gadamer, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1897**, 30, 2322–2327.
- [6] M. G. Ettlinger, A. J. Lundeen, *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, 78, 4172–4173.
- [7] M. G. Ettlinger, A. J. Lundeen, *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, 79, 1764–1765.
- [8] R. E. Marsh, J. Waser, *Acta Crystallogr. Sect. B* **1970**, 26, 1030–1037.
- [9] D. B. Clarke, *Anal. Methods* **2010**, 2, 310–325.
- [10] a) A. Kjaer, *Fortschr. Chem. Org. Naturst.* **1960**, 18, 122–176; b) H. L. Tookey, C. H. Van Etten, M. E. Daxenbichler in *Toxic Constituents of Plant Foodstuffs*, 2 (Hrsg.: I. E. Liener), Academic Press, New York, **1980**, S. 103–142; c) B. A. Halkier, J. Gershenzon, *Annu. Rev. Plant Biol.* **2006**, 57, 303–333; d) A. Kjaer, P. Olesen Larsen, *Biosynthesis* **1973**, 2, 71–105; e) A. Kjaer, P. Olesen Larsen, *Biosynthesis* **1976**, 5, 120–135; f) B. Holst, G. Williamson, *Nat. Prod. Rep.* **2004**, 21, 425–447; g) M. Traka, R. Mithen, *Phytochem. Rev.* **2009**, 8, 269–282; h) R. F. Mithen, M. Dekker, R. Verkerk, S. Rabot, I. T. Johnson, *J. Sci. Food Agric.* **2000**, 80, 967–984; i) E. A. S. Rosa, R. K. Heaney, G. R. Fenwick, C. A. M. Portas in *Horticultural Reviews*, Wiley, New York, **1997**, S. 99–215.
- [11] A. M. Bones, J. T. Rossiter, *Phytochemistry* **2006**, 67, 1053–1067.
- [12] a) M. Linscheid, D. Wendisch, D. Strack, *Z. Naturforsch. C* **1980**, 35, 907–914; b) A. A. M. Andersson, A. Merker, P. Nilsson, H. Sørensen, P. Åman, *J. Sci. Food Agric.* **1999**, 79, 179–186; c) M. Reichelt, P. D. Brown, B. Schneider, N. J. Oldham, E. Stauber, J. Tokuhisa, D. J. Kliebenstein, T. Mitchell-Olds, J. Gershenzon, *Phytochemistry* **2002**, 59, 663–671.
- [13] a) R. N. Bennett, F. A. Mellon, P. A. Kroon, *J. Agric. Food Chem.* **2004**, 52, 428–438; b) L. M. Larsen, J. K. Nielsen, H. Sørensen, *Entomol. Exp. Appl.* **1992**, 64, 49–55; c) R. N. Bennett, F. A. Mellon, N. Foidl, J. H. Pratt, M. S. Dupont, L. Perkins, P. A. Kroon, *J. Agric. Food Chem.* **2003**, 51, 3546–3553; d) N. Bellostas, A. D. Sørensen, J. C. Sørensen, H. Sørensen in *Advances in Botanical Research*, Vol. 45 (Hrsg.: M. D. Surinder Kumar Gupta, J. C. Kader), Academic Press, New York, **2007**, S. 369–415.
- [14] a) S.-J. Kim, S. Jin, G. Ishii, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2004**, 68, 2444–2450; b) S.-J. Kim, C. Kawaharada, S. Jin, M. Hashimoto, G. Ishii, H. Yamauchi, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2007**, 71, 114–121; c) R. N. Bennett, F. A. Mellon, N. P. Botting, J. Eagles, E. A. S. Rosa, G. Williamson, *Phytochemistry* **2002**, 61, 25–30.
- [15] S. Textor, J. Gershenzon, *Phytochem. Rev.* **2009**, 8, 149–170.
- [16] A. Matsumura, S. Horii, T. Ishii, *J. Jpn. Soc. Hortic. Sci.* **2007**, 76, 224–229.
- [17] a) F. Rohr, C. Ulrichs, M. Schreiner, R. Zrenner, I. Mewis, *Plant Physiol. Biochem.* **2012**, 55, 52–59; b) I. Mewis, J. G. Tokuhisa, J. C. Schultz, H. M. Appel, C. Ulrichs, J. Gershenzon, *Phytochemistry* **2006**, 67, 2450–2462.
- [18] I. Mewis, M. Schreiner, C. N. Nguyen, A. Krumbein, C. Ulrichs, M. Lohse, R. Zrenner, *Plant Cell Physiol.* **2012**, 53, 1546–1560.
- [19] a) M. A. M. Khan, C. Ulrichs, I. Mewis, *Chemoecology* **2011**, 21, 235–242; b) I. Mewis, M. A. M. Khan, E. Glawischnig, M. Schreiner, C. Ulrichs, *PLoS ONE* **2012**, 7, e48661.
- [20] a) A. Gimsing, J. Kirkegaard, *Phytochem. Rev.* **2009**, 8, 299–310; b) P. D. Brown, M. J. Morra, *J. Agric. Food Chem.* **1995**, 43, 3070–3074; c) J. N. Matthiessen, J. A. Kirkegaard, *Crit. Rev. Plant Sci.* **2006**, 25, 235–265.
- [21] a) U. Wittstock, B. A. Halkier, *Trends Plant Sci.* **2002**, 7, 263–270; b) I. E. Sønderby, M. Burrow, H. C. Rowe, D. J. Kliebenstein, B. A. Halkier, *Plant Physiol.* **2010**, 153, 348–363.
- [22] C. D. Grubb, S. Abel, *Trends Plant Sci.* **2006**, 11, 89–100.
- [23] P. D. Brown, J. G. Tokuhisa, M. Reichelt, J. Gershenzon, *Phytochemistry* **2003**, 62, 471–481.
- [24] a) N. Bellostas, P. Kachlicki, J. C. Sørensen, H. Sørensen, *Sci. Hortic.* **2007**, 114, 234–242; b) S. Pérez-Balibrea, D. A. Moreno, C. García-Viguera, *J. Food Sci.* **2010**, 75, C673–C677.
- [25] M. Wiesner, R. Zrenner, A. Krumbein, H. Glatt, M. Schreiner, *J. Agric. Food Chem.* **2013**, 61, 1943–1953.
- [26] a) S. Li, I. Schonhof, A. Krumbein, L. Li, H. Stützel, M. Schreiner, *J. Agric. Food Chem.* **2007**, 55, 8452–8457; b) E. Stavridou, H. L. Kristensen, A. Krumbein, M. Schreiner, K. Thorup-Kristensen, *J. Agric. Food Chem.* **2012**, 60, 6268–6278; c) I. Schonhof, D. Blankenburg, S. Müller, A. Krumbein, *J. Plant Nutr. Soil Sci.* **2007**, 170, 65–72; d) A. Krumbein, I. Schonhof, I. Smetanska, E. T. Scheuner, J. Rühlmann, M. Schreiner, *Acta Hortic.* **2010**, 856, 37–48; e) M. D. Omirou, K. K. Papadopoulou, I. Papastilianou, M. Constantinou, D. G. Karpouzias, I. Asimakopoulos, C. Ehaliotis, *J. Agric. Food Chem.* **2009**, 57, 9408–9417.
- [27] A. Koprivova, M. Suter, R. O. den Camp, C. Brunold, S. Kopriva, *Plant Physiol.* **2000**, 122, 737–746.
- [28] V. Nikiforova, J. Freitag, S. Kempa, M. Adamik, H. Hesse, R. Hoefgen, *Plant J.* **2003**, 33, 633–650.
- [29] a) H. Zhang, I. Schonhof, A. Krumbein, B. Gutezeit, L. Li, H. Stützel, M. Schreiner, *J. Plant Nutr. Soil Sci.* **2008**, 171, 255–265; b) M. Schreiner, B. Beyene, A. Krumbein, H. Stützel, *J. Agric. Food Chem.* **2009**, 57, 7259–7263.
- [30] Y. Tong, E. Gabriel-Neumann, B. Ngwene, A. Krumbein, E. George, S. Platz, S. Rohn, M. Schreiner, *Food Chem.* **2014**, 152, 190–196.
- [31] a) E. Ciska, B. Martyniak-Przybyszewska, H. Kozłowska, *J. Agric. Food Chem.* **2000**, 48, 2862–2867; b) F. M. V. Pereira, E. Rosa, J. W. Fahey, K. K. Stephenson, R. Carvalho, A. Aires, *J. Agric. Food Chem.* **2002**, 50, 6239–6244; c) I. Schonhof, H. P. Kläring, A. Krumbein, W. Claußen, M. Schreiner, *Agric. Ecosyst. Environ.* **2007**, 119, 103–111.
- [32] R. M. Wallsgrove, R. N. Bennett in *Amino Acids and their Derivates in Higher Plants (Society for Experimental Biology Seminar Series)* (Hrsg.: R. M. Wallsgrove), University Press, Cambridge, **1995**, S. 243–259.
- [33] a) M. Schreiner, A. Krumbein, I. Mewis, C. Ulrichs, S. Huyskens-Keil, *Innovative Food Sci. Emerging Technol.* **2009**, 10, 93–96; b) M. S. C. Pedras, Q.-A. Zheng, *Phytochemistry* **2010**, 71, 581–589.
- [34] a) K. Tilbrook, A. B. Arongaus, M. Binkert, M. Heijde, R. Yin, R. Ulm, *The Arabidopsis Book* **2013**, 11, e0164; b) M. Schreiner, I. Mewis, S. Huyskens-Keil, M. A. K. Jansen, R. Zrenner, J. B. Winkler, N. O'Brien, A. Krumbein, *Crit. Rev. Plant Sci.* **2012**, 31, 229–240.
- [35] a) M. Wiesner, F. S. Hanschen, M. Schreiner, H. Glatt, R. Zrenner, *Int. J. Mol. Sci.* **2013**, 14, 14996–15016; b) G. I. Jenkins, *Annu. Rev. Plant Biol.* **2009**, 60, 407–431.
- [36] a) P. J. Kelly, A. Bones, J. T. Rossiter, *Planta* **1998**, 206, 370–377; b) R. Kissen, J. Rossiter, A. Bones, *Phytochem. Rev.* **2009**,

- 8, 69–86; c) A. M. Bones, O. P. Thangstad, O. A. Haugen, T. Espevik, *J. Exp. Bot.* **1991**, 42, 1541–1550.
- [37] Y. Uda, T. Kurata, N. Arakawa, *Agric. Biol. Chem.* **1986**, 50, 2735–2740.
- [38] a) H. L. Foo, L. M. Grønning, L. Goodenough, A. M. Bones, B.-E. Danielsen, D. A. Whiting, J. T. Rossiter, *FEBS Lett.* **2000**, 468, 243–246; b) R. Bernardi, A. Negri, S. Ronchi, S. Palmieri, *FEBS Lett.* **2000**, 467, 296–298.
- [39] a) M. Burow, A. Losansky, R. Müller, A. Plock, D. J. Kliebenstein, U. Wittstock, *Plant Physiol.* **2009**, 149, 561–574; b) M. Burow, J. Markert, J. Gershenzon, U. Wittstock, *FEBS J.* **2006**, 273, 2432–2446.
- [40] M. Burow, A. Bergner, J. Gershenzon, U. Wittstock, *Plant Mol. Biol.* **2007**, 63, 49–61.
- [41] D. J. Williams, C. Critchley, S. Pun, M. Chaliha, T. J. O'Hare, *J. Agric. Food Chem.* **2010**, 58, 8512–8521.
- [42] J. Lüthy, M. Benn, *Phytochemistry* **1979**, 18, 2028–2029.
- [43] a) J. Lüthy, M. H. Benn, *Can. J. Biochem.* **1977**, 55, 1028–1031; b) X. Hasapis, A. J. MacLeod, *Phytochemistry* **1982**, 21, 1009–1013.
- [44] a) A. M. Wentzell, D. J. Kliebenstein, *Plant Physiol.* **2008**, 147, 415–428; b) Z. Zhang, J. A. Ober, D. J. Kliebenstein, *The Plant Cell Online* **2006**, 18, 1524–1536.
- [45] a) M. Burow, U. Wittstock, *Phytochem. Rev.* **2009**, 8, 87–99; b) U. Wittstock, M. Burow, *The Arabidopsis Book* **2010**, 8, e0134.
- [46] a) S. Kawakishi, K. Muramatsu, *Agric. Biol. Chem.* **1966**, 30, 688–692; b) S. Kawakishi, M. Namiki, H. Watanabe, K. Muramatsu, *Agric. Biol. Chem.* **1967**, 31, 823–830; c) N. Agerbirk, M. De Vos, J. Kim, G. Jander, *Phytochem. Rev.* **2009**, 8, 101–120; d) V. Borek, M. J. Morra, *J. Agric. Food Chem.* **2005**, 53, 8650–8654; e) A. Bryan Hanley, K. R. Parsley, *Phytochemistry* **1990**, 29, 769–771.
- [47] N. Agerbirk, C. Bjerregaard, C. E. Olsen, H. Sørensen, *J. Chromatogr. A* **1996**, 745, 239–248.
- [48] a) G. D. Bending, S. D. Lincoln, *Soil Biol. Biochem.* **2000**, 32, 1261–1269; b) J. W. Fahey, X. Haristoy, P. M. Dolan, T. W. Kensler, I. Scholtus, K. K. Stephenson, P. Talalay, A. Lozniewski, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, 99, 7610–7615.
- [49] a) L. M. Manici, L. Lazzeri, G. Baruzzi, O. Leoni, S. Galletti, S. Palmieri, *Pest Manage. Sci.* **2000**, 56, 921–926; b) U. Smolinska, M. J. Morra, G. R. Knudsen, P. D. Brown, *Phytopathology* **1997**, 87, 77–82; c) P. V. Nielsen, R. Rios, *Int. J. Food Microbiol.* **2000**, 60, 219–229.
- [50] a) V. Borek, L. R. Elbertson, J. P. McCaffrey, M. J. Morra, *J. Agric. Food Chem.* **1998**, 46, 5318–5323; b) F. Rohr, C. Ulrichs, M. Schreiner, C. Nguyen, I. Mewis in *Chemoecology*, Vol. 21, Birkhäuser, Basel, **2011**, S. 171–180.
- [51] E. Jeffery, M. Araya, *Phytochem. Rev.* **2009**, 8, 283–298.
- [52] C. C. Conaway, S. M. Getahun, L. L. Liebes, D. J. Pusateri, D. K. W. Topham, M. a. Botero-Omary, F.-L. Chung, *Nutr. Cancer* **2000**, 38, 168–178.
- [53] a) Y. Zhang, E. C. Callaway, *Biochem. J.* **2002**, 364, 301–307; b) Y. Zhang, *Carcinogenesis* **2000**, 21, 1175–1182.
- [54] C. C. Conaway, J. Krzeminski, S. Amin, F.-L. Chung, *Chem. Res. Toxicol.* **2001**, 14, 1170–1176.
- [55] N. Petri, C. Tannergren, B. Holst, F. A. Mellon, Y. Bao, G. W. Plumb, J. Bacon, K. A. O'Leary, P. A. Kroon, L. Knutson, P. Forsell, T. Eriksson, H. Lennernas, G. Williamson, *Drug Metab. Dispos.* **2003**, 31, 805–813.
- [56] a) T. A. Shapiro, J. W. Fahey, K. L. Wade, K. K. Stephenson, P. Talalay, *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* **1998**, 7, 1091–1100; b) S. Platz, C. Kühn, S. Schiess, M. Schreiner, I. Mewis, M. Kemper, A. Pfeiffer, S. Rohn, *Anal. Bioanal. Chem.* **2013**, 1–10; c) J. Budnowski, F. S. Hanschen, C. Lehmann, M. Haack, R. Brigelius-Flohé, L. W. Kroh, M. Blaut, S. Rohn, L. Hanske, *Anal. Biochem.* **2013**, 441, 199–207.
- [57] E. Lamy, C. Scholtes, C. Herz, V. Mersch-Sundermann, *Drug Metab. Rev.* **2011**, 43, 387–407.
- [58] a) H. G. M. Tiedink, C. E. Malingre, L. W. Van Broekhoven, W. M. F. Jongen, J. Lewis, G. R. Fenwick, *J. Agric. Food Chem.* **1991**, 39, 922–926; b) I. Maskell, R. Smithard, *Br. J. Nutr.* **1994**, 72, 455–466.
- [59] a) S. Michaelsen, J. Otte, L.-O. Simonsen, H. Sørensen, *Acta Agric. Scand. Sect. A* **1994**, 44, 25–37; b) A. H. Freig, L. D. Campbell, N. E. Stanger, B. Slominski, *Can. J. Anim. Sci.* **1986**, 66, 331.
- [60] a) C. Krul, C. L. Humblot, C. Philippe, M. Vermeulen, M. van Nuenen, R. Havenaar, S. Rabot, *Carcinogenesis* **2002**, 23, 1009–1016; b) L. Elfoul, S. Rabot, N. Khelifa, A. Quinsac, A. Duguay, A. Rimbault, *FEMS Microbiol. Lett.* **2001**, 197, 99–103; c) D.-L. Cheng, K. Hashimoto, Y. Uda, *Food Chem. Toxicol.* **2004**, 42, 351–357; d) M. L. Palop, J. P. Smiths, B. ten Brink, *Int. J. Food Microbiol.* **1995**, 26, 219–229; e) B. Combourieu, L. Elfoul, A.-M. Delort, S. Rabot, *Drug Metab. Dispos.* **2001**, 29, 1440–1445; f) J. A. Mullaney, W. J. Kelly, T. K. McGhie, J. Ansell, J. A. Heyes, *J. Agric. Food Chem.* **2013**, 61, 3039–3046.
- [61] G. B. Martínez-Hernández, P. A. Gómez, N. V. García-Talavera, F. Artés-Hernández, T. Monedero-Saiz, C. Sánchez-Álvarez, F. Artés, *Food Res. Int.* **2013**, 53, 403–408.
- [62] E. R. Bocker, M. H. Benn, J. Lüthy, A. von Däniken, *Food Chem. Toxicol.* **1984**, 22, 227–232.
- [63] J. L. Vansteenhout, J. S. Prescott, S. A. Barker, *J. Appl. Toxicol.* **2000**, 20, 1–10.
- [64] a) H. Ohkawa, R. Ohkawa, I. Yamamoto, J. E. Casida, *Pestic. Biochem. Physiol.* **1972**, 2, 95–112; b) W. H. Habig, J. H. Keen, W. B. Jakoby, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1975**, 64, 501–506; c) R. Lange, R. Baumgrass, M. Diedrich, K. P. Henschel, M. Kujawa, *Ernaehr.-Umsch.* **1992**, 39, 292–296.
- [65] a) M. A. Wallig, D. H. Gould, M. J. Fettman, C. C. Willhite, *Food Chem. Toxicol.* **1988**, 26, 149–157; b) A. E. Ahmed, M. Y. H. Farooqui, *Toxicol. Lett.* **1982**, 12, 157–163; c) H. Tanii, K. Hashimoto, A. Harada, *Environ. Res.* **1993**, 61, 140–149; d) P. Boadas-Vaello, E. Jover, S. Saldaña-Ruiz, C. Soler-Martín, C. Chabbert, J. M. Bayona, J. Llorens, *Toxicol. Sci.* **2009**, 107, 461–472.
- [66] a) D. H. Gould, M. R. Gumbmann, M. E. Daxenbichler, *Food Cosmet. Toxicol.* **1980**, 18, 619–625; b) M. A. Wallig, D. H. Gould, M. J. Fettman, *Food Chem. Toxicol.* **1988**, 26, 137–147; c) B. Eggum, O. Olsen, H. Sørensen in *Advances in the Production and Utilization of Cruciferous Crops* (Hrsg.: H. Sørensen), Springer, Dordrecht, **1985**, S. 50–60; d) T. Yamaguchi, *Agric. Biol. Chem.* **1980**, 44, 3017–3018; e) J. Lüthy, B. Carden, U. Friederich, M. Bachmann, *Experientia* **1984**, 40, 452–453; f) E. B. Astwood, M. A. Greer, M. G. Ettlinger, *J. Biol. Chem.* **1949**, 181, 121–130.
- [67] a) G. R. Fenwick, N. M. Griffiths, *Z. Lebensm.-Unters. -Forsch. A* **1981**, 172, 90–92; b) M. K. Tripathi, A. S. Mishra, *Anim. Feed Sci. Technol.* **2007**, 132, 1–27.
- [68] a) R. Lakshmy, P. S. Rao, B. Sesikeran, P. Suryaprakash, *Horm. Metab. Res.* **1995**, 27, 450–454; b) F. Schöne, B. Groppel, A. Hennig, G. Jahreis, R. Lange, *J. Sci. Food Agric.* **1997**, 74, 69–80.
- [69] a) M. McMillan, E. A. Spinks, G. R. Fenwick, *Hum. Exp. Toxicol.* **1986**, 5, 15–19; b) K. Renko, I. Mewis, M. Schreiner, L. Schomburg, J. Köhrle in *13th European Congress of Endocrinology*, *Endocrine Abstracts*, Vol. 26, Rotterdam, The Netherlands, **2011**, S. P51.
- [70] E. Gaitan, *Annu. Rev. Nutr.* **1990**, 10, 21–37.
- [71] a) G. R. Fenwick, E. A. Spinks, A. P. Wilkinson, R. K. Heaney, M. A. Legoy, *J. Sci. Food Agric.* **1986**, 37, 735–741; b) G. R. Fenwick, R. F. Curtis, *Anim. Feed Sci. Technol.* **1980**, 5, 255–298.

- [72] Y. Zhang, P. Talalay, C. G. Cho, G. H. Posner, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1992**, *89*, 2399–2403.
- [73] R. Lange, R. Baumgras, M. Diedrich, K. P. Henschel, M. Kujawa, *Ernaehr.-Umsch.* **1992**, *39*, 252–257.
- [74] a) L. N. Kolonel, J. H. Hankin, A. S. Whittemore, A. H. Wu, R. P. Gallagher, L. R. Wilkens, E. M. John, G. R. Howe, D. M. Dreon, D. W. West, R. S. Paffenbarger, *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* **2000**, *9*, 795–804; b) M. G. Jain, G. T. Hislop, G. R. Howe, P. Ghadirian, *Nutr. Cancer* **1999**, *34*, 173–184; c) P. Terry, A. Wolk, I. Persson, C. Magnusson, *JAMA J. Am. Med. Assoc.* **2001**, *285*, 2975–2977; d) L. E. Voorrips, R. A. Goldbohm, G. van Poppel, F. Sturmans, R. J. J. Hermus, P. A. van den Brandt, *Am. J. Epidemiol.* **2000**, *152*, 1081–1092.
- [75] S. S. Hecht, *Cancer Chemoprevention, Vol. 1*, Humana, Totowa, **2004**, S. 21–35.
- [76] a) J. J. P. Bogaards, H. Verhagen, M. I. Willems, G. van Poppel, P. J. van Bladeren, *Carcinogenesis* **1994**, *15*, 1073–1075; b) W. A. Nijhoff, M. J. A. L. Grubben, F. M. Nagengast, J. B. M. J. Jansen, H. Verhagen, G. van Poppel, W. H. M. Peters, *Carcinogenesis* **1995**, *16*, 2125–2128; c) W. A. Nijhoff, T. P. J. Mulder, H. Verhagen, G. van Poppel, W. H. M. Peters, *Carcinogenesis* **1995**, *16*, 955–957; d) J. W. Lampe, C. Chen, S. Li, J. Prunty, M. T. Grate, D. E. Meehan, K. V. Barale, D. A. Dightman, Z. Feng, J. D. Potter, *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* **2000**, *9*, 787–793; e) H. Steinkellner, S. Rabot, C. Freywald, E. Nobis, G. Scharf, M. Chabicosky, S. Knasmüller, F. Kassie, *Mutat. Res. Fundam. Mol. Mech. Mutagen.* **2001**, *480*–481, 285–297; f) E. Lamy, M. Garcia-Käufel, J. Prinzhorn, V. Mersch-Sundermann, *Eur. J. Cancer Prev.* **2012**, *21*, 400–406; g) E. Lamy, S. Schmitz, A. Krumbein, V. Mersch-Sundermann, *Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen.* **2011**, *726*, 146–150; h) C. I. Gill, S. Haldar, L. A. Boyd, R. Bennett, J. Whiteford, M. Butler, J. R. Pearson, I. Bradbury, I. R. Rowland, *Am. J. Clin. Nutr.* **2007**, *85*, 504–510; i) C. Hoelzl, H. Glatt, W. Meinel, G. Sontag, G. Haidinger, M. Kundi, T. Simic, A. Chakraborty, J. Bichler, F. Ferik, K. Angelis, A. Nersesyan, S. Knasmüller, *Mol. Nutr. Food Res.* **2008**, *52*, 330–341.
- [77] a) M. A. Riedl, A. Saxon, D. Diaz-Sanchez, *Clin. Immunol.* **2009**, *130*, 244–251; b) T. A. Shapiro, J. W. Fahey, A. T. Dinkova-Kostova, W. D. Holtzclaw, K. K. Stephenson, K. L. Wade, L. Ye, P. Talalay, *Nutr. Cancer* **2006**, *55*, 53–62; c) „Clinical development plan: Phenethyl isothiocyanate“, *J. Cell. Biochem.* **1996**, *63*, 149–157.
- [78] <http://www.cancer.gov/clinicaltrials>.
- [79] N. V. K. K. Murthy, M. S. N. Rao, *J. Agric. Food Chem.* **1986**, *34*, 448–452.
- [80] L. Drobnica, P. Kristián, J. Augustín in *The Chemistry of Cyanates and Their Thio Derivatives, Part 2* (Hrsg.: S. Patai), Wiley, Chichester, **1977**, S. 1003–1221.
- [81] a) L. Mi, F.-L. Chung, *Nutr. Cancer* **2008**, *60*, 12–20; b) L. Mi, X. Wang, S. Govind, B. L. Hood, T. D. Veenstra, T. P. Conrads, D. T. Saha, R. Goldman, F.-L. Chung, *Cancer Res.* **2007**, *67*, 6409–6416; c) L. Mi, Z. Xiao, T. D. Veenstra, F.-L. Chung, *J. Proteomics* **2011**, *74*, 1036–1044.
- [82] a) C. C. Conaway, D. Jiao, F.-L. Chung, *Carcinogenesis* **1996**, *17*, 2423–2427; b) S. S. Hecht, *Drug Metab. Rev.* **2000**, *32*, 395–411; c) K. Mahéo, F. Morel, S. Langouët, H. Kramer, E. Le Ferrec, B. Ketterer, A. Guillouzo, *Cancer Res.* **1997**, *57*, 3649–3652.
- [83] a) D. James, S. Devaraj, P. Bellur, S. Lakkanna, J. Vicini, S. Boddupalli, *Nutr. Rev.* **2012**, *70*, 654–665; b) S. Boddupalli, J. R. Mein, D. R. James, S. Lakkanna, *Front. Genet.* **2012**, *3*, DOI: 10.3389/fgene.2012.00007.
- [84] Y.-S. Keum, W.-S. Jeong, A. N. Tony Kong, *Mutat. Res. Fundam. Mol. Mech. Mutagen.* **2004**, *555*, 191–202.
- [85] C. Gerhäuser, *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* **2013**, *16*, 405–410.
- [86] a) P. Rose, M. Whiteman, S. H. Huang, B. Halliwell, C. N. Ong, *CMLS Cell. Mol. Life Sci.* **2003**, *60*, 1489–1503; b) L. Tang, Y. Zhang, *J. Nutr.* **2004**, *134*, 2004–2010; c) Y. Zhang, L. Tang, V. Gonzalez, *Mol. Cancer Ther.* **2003**, *2*, 1045–1052.
- [87] a) S. Kalkunte, N. Swamy, D. S. Dizon, L. Brard, *J. Exp. Ther. Oncol.* **2006**, *5*, 287–300; b) D. Xiao, V. Vogel, S. V. Singh, *Mol. Cancer Ther.* **2006**, *5*, 2931–2945; c) C.-T. Yeh, G.-C. Yen, *Carcinogenesis* **2005**, *26*, 2138–2148.
- [88] a) S. M. Meeran, S. N. Patel, T. O. Tollefsbol, *PLoS ONE* **2010**, *5*, e11457; b) E. Lamy, C. Herz, S. Lutz-Bonengel, A. Hertrampf, M.-R. Márton, V. Mersch-Sundermann, *PLoS ONE* **2013**, *8*, e53240; c) E. Lamy, D. Oey, F. Eißmann, C. Herz, K. Münstedt, H.-R. Tinneberg, V. Mersch-Sundermann, *Phytother. Res.* **2013**, *27*, 1036–1041.
- [89] B. E. Cavell, S. S. Syed Alwi, A. Donlevy, G. Packham, *Biochem. Pharmacol.* **2011**, *81*, 327–336.
- [90] C. Fimognari, E. Turrini, L. Ferruzzi, M. Lenzi, P. Hrelia, *Mutat. Res. Rev. Mutat. Res.* **2012**, *750*, 107–131.
- [91] a) B. B. Aggarwal, H. Ichikawa, *Cell Cycle* **2005**, *4*, 1201–1215; b) K. R. Grose, L. F. Bjeldanes, *Chem. Res. Toxicol.* **1992**, *5*, 188–193.
- [92] G. A. Reed, D. W. Arneson, W. C. Putnam, H. J. Smith, J. C. Gray, D. K. Sullivan, M. S. Mayo, J. A. Crowell, A. Hurwitz, *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* **2006**, *15*, 2477–2481.
- [93] a) J.-R. Weng, C.-H. Tsai, S. K. Kulp, D. Wang, C.-H. Lin, H.-C. Yang, Y. Ma, A. Sargeant, C.-F. Chiu, M.-H. Tsai, C.-S. Chen, *Cancer Res.* **2007**, *67*, 7815–7824; b) K. Kunimasa, T. Kobayashi, K. Kaji, T. Ohta, *J. Nutr.* **2010**, *140*, 1–6.
- [94] a) J. J. Michnovicz, H. L. Bradlow, *Nutr. Cancer* **1991**, *16*, 59–66; b) J. J. Michnovicz, H. Adlercreutz, H. L. Bradlow, *J. Natl. Cancer Inst.* **1997**, *89*, 718–723.
- [95] a) K. J. Auburn, S. Fan, E. M. Rosen, L. Goodwin, A. Chandrasekaran, D. E. Williams, D. Chen, T. H. Carter, *J. Nutr.* **2003**, *133*, 2470S–2475S; b) Q. Meng, F. Yuan, I. D. Goldberg, E. M. Rosen, K. Auburn, S. Fan, *J. Nutr.* **2000**, *130*, 2927–2931.
- [96] O. I. Vivar, E. F. Saunier, D. C. Leitman, G. L. Firestone, L. F. Bjeldanes, *Endocrinology* **2010**, *151*, 1662–1667.
- [97] C. A. Rosen, P. C. Bryson, *J. Voice* **2004**, *18*, 248–253.
- [98] a) D. J. Kim, K. K. Lee, B. S. Han, B. Ahn, J. H. Bae, J. J. Jang, *Cancer Sci.* **1994**, *85*, 578–583; b) G. Stoner, B. Casto, S. Ralston, B. Roebuck, C. Pereira, G. Bailey, *Carcinogenesis* **2002**, *23*, 265–272.
- [99] a) C. Baasanjav-Gerber, B. H. Monien, I. Mewis, M. Schreiner, J. Barillari, R. Iori, H. Glatt, *Mol. Nutr. Food Res.* **2011**, *55*, 783–792; b) H. Glatt, C. Baasanjav-Gerber, F. Schumacher, B. H. Monien, M. Schreiner, H. Frank, A. Seidel, W. Engst, *Chem.-Biol. Interact.* **2011**, *192*, 81–86.
- [100] F. Schumacher, K. Herrmann, S. Florian, W. Engst, H. Glatt, *Anal. Biochem.* **2013**, *434*, 4–11.
- [101] M. Wiesner, M. Schreiner, H. Glatt, *Food Chem. Toxicol.* **2014**, *67*, 10–16.
- [102] a) N. V. Matusheski, E. H. Jeffery, *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 5743–5749; b) G. P. Basten, Y. Bao, G. Williamson, *Carcinogenesis* **2002**, *23*, 1399–1404; c) C. W. Nho, E. Jeffery, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2004**, *198*, 40–48; d) H. Tani, T. Higashi, F. Nishimura, Y. Higuchi, K. Saijoh, *J. Agric. Food Chem.* **2005**, *53*, 8993–8996.
- [103] C. W. Nho, E. Jeffery, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2001**, *174*, 146–152.
- [104] FAOSTAT, Food and Agriculture Organization of the United Nations, **2013**.
- [105] A. Steinbrecher, J. Linseisen, *Ann. Nutr. Metab.* **2009**, *54*, 87–96.
- [106] I. Schonhof, A. Krumbein, B. Brückner, *Food/Nahrung* **2004**, *48*, 25–33.
- [107] a) R. Verkerk, M. Schreiner, A. Krumbein, E. Ciska, B. Holst, I. Rowland, R. De Schrijver, M. Hansen, C. Gerhäuser, R.



- Mithen, M. Dekker, *Mol. Nutr. Food Res.* **2009**, *53*, S219–265;
- b) P. Y. Nugraheddi, R. Verkerk, B. Widianarko, M. Dekker, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2013**, DOI: 10.1080/10408398.2012.688076; c) K. Hennig, R. Verkerk, M. van Boekel, M. Dekker, G. Bonnema, *Trends Food Sci. Technol.* **2014**, *35*, 61–68.
- [108] a) M. Schreiner, P. Peters, A. Krumbein, *J. Food Sci.* **2007**, *72*, S585–S589; b) F. Vallejo, F. Tomás-Barberán, C. García-Viguera, *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 3029–3034.
- [109] L. Song, P. J. Thornalley, *Food Chem. Toxicol.* **2007**, *45*, 216–224.
- [110] J. Volden, G. B. Bengtsson, T. Wicklund, *Food Chem.* **2009**, *112*, 967–976.
- [111] R. Verkerk, M. Dekker, W. M. Jongen, *J. Sci. Food Agric.* **2001**, *81*, 953–958.
- [112] a) M. Tolonen, S. Rajaniemi, J. M. Pihlavan, T. Johansson, P. E. J. Saris, E. L. Ryhänen, *Food Microbiol.* **2004**, *21*, 167–179; b) E. Ciska, D. R. Pathak, *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 7938–7943.
- [113] a) R. B. Jones, C. L. Frisina, S. Winkler, M. Imsic, R. B. Tomkins, *Food Chem.* **2010**, *123*, 237–242; b) N. V. Matusheski, J. A. Juvik, E. H. Jeffery, *Phytochemistry* **2004**, *65*, 1273–1281; c) V. Rungapamestry, A. J. Duncan, Z. Fuller, B. Ratcliffe, *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 7628–7634.
- [114] a) R. Verkerk, M. Dekker, *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 7318–7323; b) D. Van Eylen, I. Oey, M. Hendrickx, A. Van Loey, *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 2163–2170.
- [115] a) A. Gliszczyńska-Świgło, E. Ciska, K. Pawlak-Lemańska, J. Chmielewski, T. Borkowski, B. Tyrakowska, *Food Addit. Contam.* **2006**, *23*, 1088–1098; b) J. Volden, G. I. A. Borge, M. Hansen, T. Wicklund, G. B. Bengtsson, *LWT-Food Sci. Technol.* **2009**, *42*, 63–73; c) J. Volden, G. I. A. Borge, G. B. Bengtsson, M. Hansen, I. E. Thygesen, T. Wicklund, *Food Chem.* **2008**, *109*, 595–605.
- [116] a) E. Cieślík, T. Leszczyńska, A. Filipiak-Florkiewicz, E. Sikora, P. M. Pisulewski, *Food Chem.* **2007**, *105*, 976–981; b) M. Francisco, P. Velasco, D. A. Moreno, C. García-Viguera, M. E. Cartea, *Food Res. Int.* **2010**, *43*, 1455–1463; c) E. A. S. Rosa, *Phytochemistry* **1997**, *44*, 1415–1419; d) E. Ciska, H. Kozłowska, *Eur. Food Res. Technol.* **2001**, *212*, 582–587.
- [117] a) J. M. Bell, M. O. Keith, J. A. Blake, D. I. McGregor, *Can. J. Anim. Sci.* **1984**, *64*, 1023–1033; b) P. Friis, P. O. Larsen, C. E. Olsen, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1977**, 661–665; c) F. Shahidi, J.-E. Gabon, *J. Food Sci.* **1990**, *55*, 793–795.
- [118] O. Olsen, H. Sørensen, *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1981**, *58*, 857–865.
- [119] a) K. Oerlemans, D. M. Barrett, C. B. Suades, R. Verkerk, M. Dekker, *Food Chem.* **2006**, *95*, 19–29; b) M. Dekker, K. Hennig, R. Verkerk, *Czech J. Food Sci.* **2009**, *27*, S85–S88; c) B. A. Slominski, L. D. Campbell, *J. Sci. Food Agric.* **1987**, *40*, 131–143; d) F. S. Hanschen, S. Rohn, I. Mewis, M. Schreiner, L. W. Kroh, *Food Chem.* **2012**, *130*, 1–8; e) S. K. Jensen, Y.-G. Liu, B. O. Eggum, *Anim. Feed Sci. Technol.* **1995**, *53*, 17–28.
- [120] R. McDanell, A. E. M. McLean, A. B. Hanley, R. K. Heaney, G. R. Fenwick, *Food Chem. Toxicol.* **1988**, *26*, 59–70.
- [121] a) B. A. Slominski, L. D. Campbell, *J. Agric. Food Chem.* **1989**, *37*, 1297–1302; b) B. A. Slominski, L. D. Campbell, *J. Sci. Food Agric.* **1989**, *47*, 75–84; c) L. Campbell, B. Slominski, *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1990**, *67*, 73–75.
- [122] a) S. Chevolleau, L. Debrauwer, G. Boyer, J. Tulliez, *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 5185–5190; b) S. Chevolleau, N. Gasc, P. Rollin, J. Tulliez, *J. Agric. Food Chem.* **1997**, *45*, 4290–4296.
- [123] F. S. Hanschen, S. Platz, I. Mewis, M. Schreiner, S. Rohn, L. W. Kroh, *J. Agric. Food Chem.* **2012**, *60*, 2231–2241.
- [124] G. Ishii in *Biologically-Active Phytochemicals in Food: The Proceedings of the EUROFOODCHEM XI Meeting, Norwich, UK, 26–28 September 2001* (Hrsg.: W. Pfannhauser, G. R. Fenwick, S. Khokhar), Royal Society of Chemistry, Cambridge, **2001**, S. 485–487.
- [125] a) A. J. MacLeod, G. MacLeod, *J. Food Sci.* **1970**, *35*, 734–738; b) A. J. MacLeod, G. MacLeod, *J. Food Sci.* **1970**, *35*, 739–743.
- [126] A. J. MacLeod, S. S. Panesar, V. Gil, *Phytochemistry* **1981**, *20*, 977–980.
- [127] D. J. Williams, C. Critchley, S. Pun, M. Chaliha, T. J. O'Hare, *Phytochemistry* **2009**, *70*, 1401–1409.
- [128] F. S. Hanschen, A. Bauer, I. Mewis, C. Keil, M. Schreiner, S. Rohn, L. W. Kroh, *J. Agric. Food Chem.* **2012**, *60*, 9890–9899.
- [129] S. Gronowitz, L. Svensson, R. Ohlson, *J. Agric. Food Chem.* **1978**, *26*, 887–890.
- [130] I. Sarvan, R. Verkerk, M. van Boekel, M. Dekker, *Innovative Food Sci. Emerging Technol.* **2014**, DOI: 10.1016/j.ifset.2014.01.007.
- [131] K. Hennig, R. Verkerk, G. Bonnema, M. Dekker, *J. Agric. Food Chem.* **2012**, *60*, 7859–7865.
- [132] a) K. Hennig, R. Verkerk, M. Dekker, G. Bonnema, *Theor. Appl. Genet.* **2013**, 1–12; b) K. Hennig, R. C. H. de Vos, C. Maliepaard, M. Dekker, R. Verkerk, G. Bonnema, *Food Chem.* **2014**, *155*, 287–297.
- [133] T. Oliviero, R. Verkerk, M. Dekker, *Food Chem.* **2012**, *132*, 2037–2045.
- [134] C. G. Youngs, A. S. Perlin, *Can. J. Chem.* **1967**, *45*, 1801–1804.
- [135] T. Sato, K. Nagata, M. Shiro, H. Koyama, *Chem. Commun.* **1966**, 192–192.
- [136] a) F. L. Austin, C. A. Gent, I. A. Wolff, *J. Agric. Food Chem.* **1968**, *16*, 752–755; b) F. L. Austin, C. A. Gent, *Chem. Commun.* **1967**, 71b–72; c) F. L. Austin, C. A. Gent, I. A. Wolff, *Can. J. Chem.* **1968**, *46*, 1507–1512; d) A. J. MacLeod, J. T. Rossiter, *Phytochemistry* **1986**, *25*, 855–858.
- [137] L. M. Searle, K. Chamberlain, T. Rausch, D. N. Butcher, *J. Exp. Bot.* **1982**, *33*, 935–942.
- [138] N. Bellostas, A. D. Sørensen, J. C. Sørensen, H. Sørensen, *J. Nat. Prod.* **2008**, *71*, 76–80.
- [139] V. Y. Kukushkin, A. J. L. Pombeiro, *Inorg. Chim. Acta* **2005**, *358*, 1–21.
- [140] Y. Zhang, P. Talalay, *Cancer Res.* **1994**, *54*, 1976–1981.
- [141] K. Cejpek, J. Urban, J. Velíšek, H. Hrabcová, *Food Chem.* **1998**, *62*, 53–57.
- [142] C. Baasanjav-Gerber, H. M. Hollnagel, J. Brauchmann, R. Iori, H. Glatt, *Mutagenesis* **2011**, *26*, 407–413.
- [143] G. R. De Nicola, M. Bagatta, E. Pagnotta, D. Angelino, L. Gennari, P. Ninfali, P. Rollin, R. Iori, *Food Chem.* **2013**, *141*, 297–303.
- [144] C.-W. Chen, T. Rosen Robert, C.-T. Ho in *Flavor Analysis, Vol. 705*, American Chemical Society, New York, **1998**, S. 152–166.
- [145] a) S. Kosemura, S. Yamamura, K. Hasegawa, *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 481–484; b) H. Matsuoka, Y. Toda, K. Yanagi, A. Takahashi, K. Yoneyama, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **1997**, *61*, 2109–2112; c) F. S. Hanschen, N. Brüggemann, A. Brodehl, I. Mewis, M. Schreiner, S. Rohn, L. W. Kroh, *J. Agric. Food Chem.* **2012**, *60*, 7735–7745.
- [146] S. Kawakishi, M. Namiki, *Agric. Biol. Chem.* **1969**, *33*, 452–459.
- [147] a) Y. Ohta, K. Takatani, S. Kawakishi, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **1995**, *59*, 102–103; b) R. Pecháček, J. Velíšek, H. Hrabcová, *J. Agric. Food Chem.* **1997**, *45*, 4584–4588.
- [148] C.-W. Chen, C.-T. Ho, *J. Agric. Food Chem.* **1998**, *46*, 220–223.
- [149] a) G. Slater, *Chromatographia* **1992**, *34*, 461–467; b) P. A. S. Smith, D. W. Emerson, *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, *82*, 3076–3082.
- [150] a) T. H. Yu, C. M. Wu, R. T. Rosen, T. G. Hartman, C. T. Ho, *J. Agric. Food Chem.* **1994**, *42*, 146–153; b) E. Block, *Angew. Chem.* **1992**, *104*, 1158–1203; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1992**, *31*, 1135–1178; c) G. Kiss, H. Neukom, *Experientia* **1968**, *24*, 326–326.

- [151] J. E. R. Frijters, N. M. Griffiths, A. M. Mather, J. Reynolds, G. R. Fenwick, *Chem. Senses* **1981**, 6, 33–43.
- [152] Y. Jin, M. Wang, R. T. Rosen, C.-T. Ho, *J. Agric. Food Chem.* **1999**, 47, 3121–3123.
- [153] W. C. K. Chiang, D. J. Pusateri, R. E. A. Leitz, *J. Agric. Food Chem.* **1998**, 46, 1018–1021.
- [154] D. Song, H. Liang, P. Kuang, P. Tang, G. Hu, Q. Yuan, *J. Agric. Food Chem.* **2013**, 61, 5097–5102.
- [155] a) Y. Ozawa, Y. Uda, S. Kawakishi, *Agric. Biol. Chem.* **1990**, 54, 1849–1851; b) Y. Ozawa, Y. Uda, T. Ohshima, K. Saito, Y. Maeda, *Agric. Biol. Chem.* **1990**, 54, 605–611.
- [156] Y. Uda, Y. Ozawa, K. Yoneyama, *Stud. Nat. Prod. Chem.* **2002**, 26, Part G, 1073–1111.
- [157] a) D. Podhradský, L. Drobnica, P. Kristian, *Experientia* **1979**, 35, 154–155; b) L. Drobnica, J. Augustín, *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1965**, 30, 1618–1625; c) J. Kroll, H. J. Jancke, *Food/Nahrung* **1994**, 38, 96–98.
- [158] L. Drobnica, D. Podhradský, P. Gemeiner, *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1975**, 40, 3688–3697.
- [159] a) S. Kawakishi, T. Goto, M. Namiki, *Agric. Biol. Chem.* **1983**, 47, 2071–2076; b) S. Kawakishi, T. Kaneko, *Phytochemistry* **1985**, 24, 715–718; c) S. Kawakishi, M. Namiki, *J. Agric. Food Chem.* **1982**, 30, 618–620.
- [160] T. Nakamura, Y. Kawai, N. Kitamoto, T. Osawa, Y. Kato, *Chem. Res. Toxicol.* **2009**, 22, 536–542.
- [161] a) K. Kassahun, M. Davis, P. Hu, B. Martin, T. Baillie, *Chem. Res. Toxicol.* **1997**, 10, 1228–1233; b) I. M. Bruggeman, J. H. M. Temmink, P. J. van Bladeren, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **1986**, 83, 349–359; c) G. Brüsewitz, B. D. Cameron, L. F. Chasseaud, K. Görler, D. R. Hawkins, H. Koch, W. H. Mennicke, *Biochem. J.* **1977**, 162, 0.
- [162] A. Kumar, G. Sabbioni, *Chem. Res. Toxicol.* **2010**, 23, 756–765.
- [163] K. Cejpek, J. Valušek, J. Velíšek, *J. Agric. Food Chem.* **2000**, 48, 3560–3565.
- [164] P. Edman, *Acta Chem. Scand.* **1950**, 4, 283–293.
- [165] H. Rawel, J. Kroll, S. Haebel, M. G. Peter, *Phytochemistry* **1998**, 48, 1305–1311.
- [166] a) J. Kroll, H. Rawel, R. Kröck, W. Schnaak, *Food/Nahrung* **1993**, 37, 179–181; b) J. Kroll, H. Rawel, R. Kröck, J. Proll, W. Schnaak, *Food/Nahrung* **1994**, 38, 53–60.
- [167] a) L. Mi, Z. Xiao, B. L. Hood, S. Dakshanamurthy, X. Wang, S. Govind, T. P. Conrads, T. D. Veenstra, F.-L. Chung, *J. Biol. Chem.* **2008**, 283, 22136–22146; b) L. Mi, N. Gan, A. Cheema, S. Dakshanamurthy, X. Wang, D. C. H. Yang, F.-L. Chung, *J. Biol. Chem.* **2009**, 284, 17039–17051.
- [168] A. Kumar, P. Vineis, C. Sacerdote, L. Fiorini, G. Sabbioni, *Biomarkers* **2010**, 15, 739–745.
- [169] R. Björkman, *Phytochemistry* **1973**, 12, 1585–1590.
- [170] a) H. M. Rawel, J. Kroll, I. Schröder, *Nahrung/Food* **1998**, 42, 197–199; b) S. Kawakishi, T. Kaneko, *J. Agric. Food Chem.* **1987**, 35, 85–88.
- [171] J. Kroll, H. Rawel, *J. Sci. Food Agric.* **1996**, 72, 376–384.
- [172] K. Rade-Kukic, C. Schmitt, H. M. Rawel, *Food Hydrocolloids* **2011**, 25, 694–706.
- [173] M. Hernández-Triana, J. Kroll, J. Proll, J. Noack, K. J. Petzke, *J. Nutr. Biochem.* **1996**, 7, 322–326.
- [174] a) K. Xu, P. J. Thornalley, *Biochem. Pharmacol.* **2001**, 61, 165–177; b) K. Xu, P. J. Thornalley, *Biochem. Pharmacol.* **2000**, 60, 221–231; c) Y. Morimitsu, K. Hayashi, Y. Nakagawa, H. Fujii, F. Horio, K. Uchida, T. Osawa, *Mech. Ageing Dev.* **2000**, 116, 125–134; d) R.-K. Lin, N. Zhou, Y. L. Lyu, Y.-C. Tsai, C.-H. Lu, J. Kerrigan, Y.-t. Chen, Z. Guan, T.-S. Hsieh, L. F. Liu, *J. Biol. Chem.* **2011**, 286, 33591–33600.
- [175] a) Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Health Organization, United Nations University, **2007**, S. 1–265; b) V. R. Young, P. L. Pellett, *Am. J. Clin. Nutr.* **1994**, 59, 1203S–1212S.
- [176] M. de Onis, C. Monteiro, J. Akre, G. Clugston, *Bull. W. H. O.* **1993**, 71, 703–712.