

HNNY

湖南 省 农 业 技 术 规 程

HNNY 477-2025

十字花科蔬菜中萝卜硫素的测定 高效液相色谱法

The testmethod for sulforaphane in cruciferous
vegetablesHigh-performance liquid chromatography

2025-12-26 发布

2025-12-26 实施

湖南省农业农村厅发布

目 次

前言	1
1 范围	2
2 规范性引用文件	2
3 术语和定义	2
4 试剂	2
5 仪器与设备	3
6 试样准备	3
7 萝卜硫素提取	3
8 色谱测定	4
9 档案管理	5
附录 A 标准样品高效液相色谱图	6

前 言

本文件按《湖南省农业技术规程制定与发布管理规范》相关规定起草。

本文件的某些内容可能涉及专利，本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本文件由湖南省农业标准化技术委员会提出并技术归口。

本文件起草单位：湖南农业大学，湖南省作物研究所，湖南省蔬菜研究所，邵阳职业技术学院，永州市农业科学研究所，湖南省常德市鼎城区镇德桥镇人民政府，湘西土家族苗族自治州农业科学研究院，湖南芝因生物科技有限公司。

本文件起草人：吴秋云，黄惠萍，黄科，毛舒香，费丹丹，吴琪，刘娟，陈璇，郭指君，徐达，闫航，王军伟，胡震竺。

十字花科蔬菜中萝卜硫素的测定高效液相色谱法

1 范围

本文件规定了十字花科蔬菜中萝卜硫素含量测定的试剂、仪器与设备、试样准备、萝卜硫素提取、色谱测定和档案管理。

本文件适用于十字花科蔬菜萝卜硫素含量的测定与分析。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 6682 实验室用水标准

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 试剂

所有检测试剂如下：

- 1) 去离子水：符合GB/T 6682 标准一级的规定；
- 2) 萝卜硫素标准品（芥基芥子油苷，Glucotropaeolin potassium salt, GC \geq 98%，PhytoLab, CAS: 5115-71-9）；
- 3) 分析纯二氯甲烷；
- 4) 无水硫酸钠；
- 5) 色谱级乙腈（ \geq 99.9% (GC), gradient grade, suitable for HPLC, Reag. Ph Eur, LiChrosolv®）；
- 6) 流动相A：去离子水，超声波脱气30 s；流动相B：色谱级乙腈，超声波脱气30 s。

5 仪器与设备

实验室常用仪器设备：

- 1) 研钵或微型研磨机；
- 2) 分析天平（精密度万分之一）；
- 3) 旋转蒸发仪；
- 4) 恒温水浴锅；
- 5) 恒温摇床；
- 6) 色谱柱C18柱， $250\text{ mm} \times 4.6\text{ mm}$, $5\text{ }\mu\text{m}$ ；
- 7) 高效液相色谱仪：DAD紫外检测器等。

6 试样准备

十字花科蔬菜不同组织部位（若需分部位检测，需单独取样，如：叶片、根部、花球、种子等）的鲜样或者保存于-80 °C超低温冰箱的液氮速冻样品，速冻样品保存时间不超过6个月。

7 萝卜硫素提取

7.1 称样

将样品经液氮速冻后研磨成粉状，称取2 g粉状待测试样至50 mL玻璃锥形瓶中。

7.2 提取

提取步骤如下：

- 1) 锥形瓶中加入4 mL去离子水，将锥形瓶用封口膜封口，置于沸水浴中3 min~5 min；
- 2) 锥形瓶放入25 °C恒温水浴锅中，静置水解4 h；
- 3) 锥形瓶中加入15 mL二氯甲烷，28 °C恒温摇床200 rpm震荡10 min；
- 4) 玻璃漏斗中放入滤纸，加5 g无水硫酸钠干燥，将混合溶剂进行过滤；
- 5) 锥形瓶中加入15 mL二氯甲烷，摇匀后再次过滤，重复1次~2次；
- 6) 滤液于38 °C旋转蒸发仪上真空浓缩；
- 7) 浓缩后的产物用2 mL乙腈洗脱，洗脱液用0.22 μm 有机滤膜过滤至进样瓶中，待上机检测。

7.3 标准品制备

采用外标法对十字花科蔬菜萝卜硫素含量进行检测。将20 mg 萝卜硫素标准样品（GC \geq 98%）溶于1 mL乙腈，配成20 mg/mL萝卜硫素标准品母液，稀释标准品分别至200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、

50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、12.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、6.125 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，经0.22 μm 有机滤膜过滤至进样瓶中，待上机检测，标准样品的线性范围为12.5 μg ~800 μg ；检测限 LOD \leq 0.5 $\mu\text{g}/\text{g}$ ，定量限 LOQ \leq 1.5 $\mu\text{g}/\text{g}$ 。

7.4 标准曲线绘制

以标准溶液浓度为x轴，峰面积为y轴，绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，($R^2 \approx 1$)，将测定的峰面积带入方程得到浓缩液中萝卜硫素浓度x ($\mu\text{g}/\text{mL}$)。

8 色谱测定

8.1 测定条件

测定参数见表1。

精密度：6次重复测定RSD \leq 5%；准确度：3个水平加标回收率在85%~110%之间。

表 1 高效液相色谱法测定条件

主要参数		主要参数	
流动相	超纯水：乙腈=4:1	柱温	30 °C
洗脱方式	等度洗脱	流速	1 mL/min
检测波长	240 nm	检测时间	20 min

8.2 测定

使用自动进样器进样10 μL ，记录峰面积，重复三次。

8.3 计算

萝卜硫素含量按下列公式计算。

$$\text{萝卜硫素含量 } (\mu\text{g}/\text{g} \text{ 鲜重}) = X \times V \div W$$

式中：

X ----浓缩后萝卜硫素浓度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)；

V ----浓缩后总体积，单位为 (2 mL)；

W ----样本质量，单位为 (g)。

9 档案管理

应建立检测档案，其内容包括但不限于药品规格、用量及使用方法等，记录档案应保存2年以上。

附录 A
(资料性)
标准样品高效液相色谱图

萝卜硫素标准样品高效液相色谱图见图A. 1。

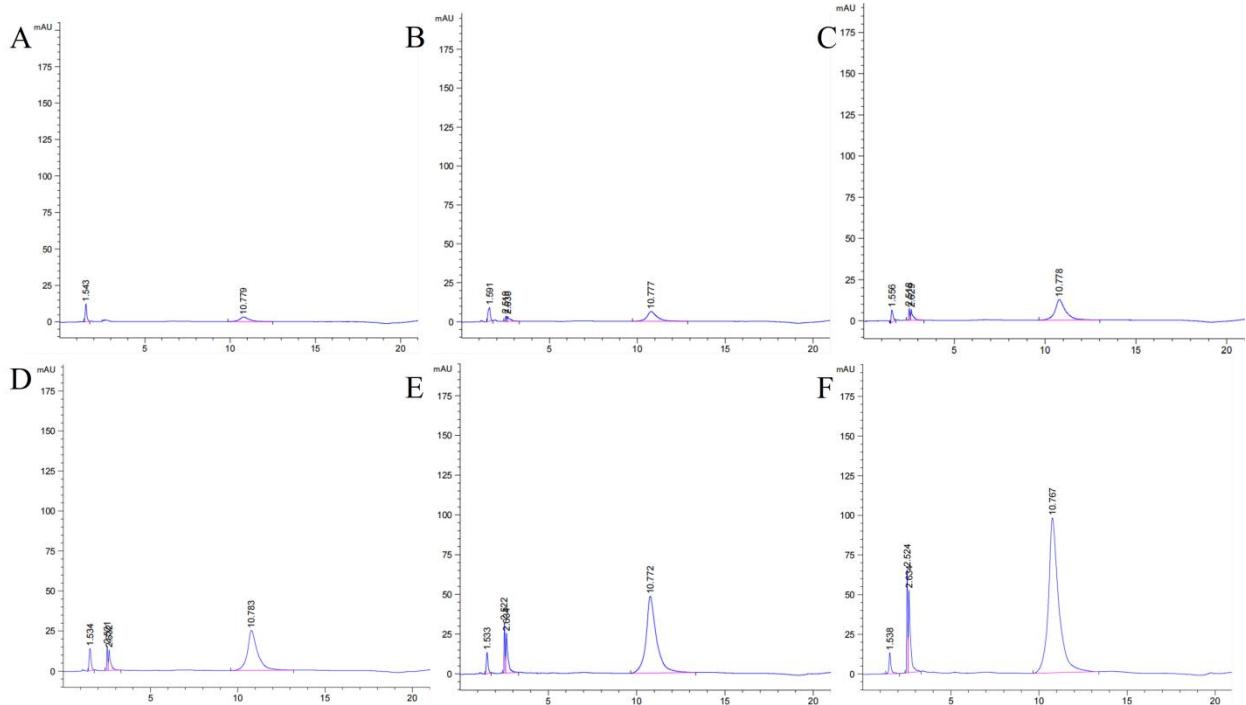


图 A.1 萝卜硫素标准样品高效液相色谱图

图A.1中，各图参数识别如下：

- A: 标准品浓度: $6.125\mu\text{g/mL}$; 出峰时间: 10.779; 峰面积: 123.06433。
- B: 标准品浓度: $12.5\mu\text{g/mL}$; 出峰时间: 10.777; 峰面积: 255.65085。
- C: 标准品浓度: $25\mu\text{g/mL}$; 出峰时间: 10.778; 峰面积: 501.74435。
- D: 标准品浓度: $50\mu\text{g/mL}$; 出峰时间: 10.783; 峰面积: 1017.37024。
- E: 标准品浓度: $100\mu\text{g/mL}$; 出峰时间: 10.772; 峰面积: 1989.26477。
- F: 标准品浓度: $200\mu\text{g/mL}$; 出峰时间: 10.767; 峰面积: 3979.04102。