

萝卜硫素和莱菔素提取、纯化及检测方法研究进展

李秀霞¹, 曲杨¹, 励建荣^{1*}, 崔方超¹, 杨昊铮¹, 俞张富², 沈荣虎²

(1. 渤海大学食品科学与工程学院, 生鲜农产品贮藏加工及安全控制技术国家地方联合工程研究中心, 辽宁锦州 121013) (2. 杭州萧山农业发展有限公司, 浙江杭州 311200)

摘要: 流行病学研究表明, 西兰花、萝卜等十字花科蔬菜具有抗炎、抗癌、预防心血管疾病等功能作用, 主要是由于这类蔬菜富含硫代葡萄糖苷类化合物, 被切碎或咀嚼后水解生成异硫氰酸酯类物质。萝卜硫素和莱菔素是抗癌活性最高的天然异硫氰酸酯类化合物, 文中阐明了萝卜属和芸薹属的几种主要蔬菜及种子中萝卜硫素及莱菔素的提取纯化方法, 着重概述了常用的萝卜硫素和莱菔素的溶剂萃取法及现代提取技术; 比较了 1,2-苯二硫醇 (BDT) 比色法、高效液相色谱法 (HPLC)、超高压液相色谱法 (UPLC) 和气相色谱-质谱联用技术 (GC-MS) 等萝卜硫素和莱菔素定量分析方法; 分析了开口柱色谱层析、固相微萃取 (SPE)、高速逆流色谱分析 (HSCCC)、制备液相色谱法等纯化方法的优缺点; 并对各类提取检测、分离纯化方法进行了分析和总结, 讨论了萝卜硫素和莱菔素提取纯化技术的未来发展趋势, 以期对萝卜等十字花科蔬菜的加工利用及营养保持技术提供理论参考。

关键词: 萝卜硫素; 莱菔素; 提取; 纯化; 检测

文章编号: 1673-9078(2023)10-324-330

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2023.10.1308

Research Progress on the Extraction, Purification and Detection Method of Sulforaphane and Sulforaphene

LI Xiuxia¹, QU Yang¹, LI Jianrong^{1*}, CUI Fangchao¹, YANG Haozheng¹, YU Zhangfu², SHEN Ronghu²

(1.College of Food Science and Technology, Bohai University; National & Local Joint Engineering Research Center of Storage, Jinzhou 121013, China) (2.Hangzhou Xiaoshan Agricultural Development Co. Ltd., Hangzhou 311200, China)

Abstract: Epidemiological studies have shown that cruciferous vegetables such as broccoli and radish possess effects such as anti-inflammatory, anti-cancer and cardiovascular disease-preventing functions, mainly because such vegetables are rich in glucosinolates (which are hydrolyzed to isothiocyanates after the vegetable is chopped or chewed). Sulforaphane and sulforaphene are natural isothiocyanate compounds with the highest anticancer activities. In this paper, the extraction and purification methods of sulforaphane and sulforaphene from several main vegetables and seeds of *Raphanus sativus* and *Brassica oleracea* are described, with the emphasis on the solvent extraction method and modern extraction techniques for sulforaphane and sulforaphene. Quantitative analysis methods for sulforaphane and sulforaphene such as the 1,2-benzenedithiol (BDT) colorimetric method, high performance liquid chromatography (HPLC), ultrahigh pressure liquid chromatography (UPLC) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) are compared. The advantages and disadvantages of open column chromatography, solid phase microextraction (SPE), high speed countercurrent chromatography (HSCCC) and preparative liquid chromatography are analyzed. Various extraction, detection, separation and purification methods are then analyzed and summarized. The future development trends of the extraction and purification technologies for sulforaphane and sulforaphene are also discussed, so as to provide a theoretical reference for the processing, utilization and nutrient preservation technologies of cruciferous vegetables such as radish.

Key words: sulforaphane; sulforaphene; extraction; purification; detection

引文格式:

李秀霞,曲杨,励建荣,等.萝卜硫素和莱菔素提取、纯化及检测方法研究进展[J].现代食品科技,2023,39(10):324-330

LI Xiuxia, QU Yang, LI Jianrong, et al. Research progress on the extraction, purification and detection method of sulforaphane and sulforaphene [J]. Modern Food Science and Technology, 2023, 39(10): 324-330

收稿日期: 2022-10-14

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2018YFD0901106); 横向课题 (食用农产品和萝卜深加工)

作者简介: 李秀霞 (1973-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 食品加工与保鲜, E-mail: lixiuxiaxxx@163.com

通讯作者: 励建荣 (1964-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 水产品加工及安全质量控制, E-mail: lijr6491@163.com

经常食用萝卜 (*Raphanus sativus*)、西兰花 (*Brassica oleraceavaritalica*) 等十字花科 (Cruciferae) 蔬菜可降低患癌症的风险, 这种保护作用源于其所含有的异硫氰酸酯类成分^[1-5]。异硫氰酸酯是硫代葡萄糖苷的水解产物之一, 硫代葡萄糖苷不具有生物活性, 当其 β -硫苷键被硫代葡萄糖苷水解酶 (黑芥子酶) 破坏后, 会产生葡萄糖、硫酸盐和异硫氰酸酯等水解产物^[6,7]。其中, 异硫氰酸酯是一种独特的含硫物质, 为萝卜、西兰花等十字花科蔬菜提供了独特的气味和口感, 并且还兼具抗氧化、抗菌、抗突变和抗癌等生物活性^[1,2]。虽然硫代葡萄糖苷可以被肠道菌群水解为萝卜硫素等异硫氰酸酯成分, 但临床试验表明其在人体内的转化效率很低^[8]。近年来, 由于异硫氰酸酯化合物具有良好的生物活性, 尤其是高抗癌活性, 而得到广泛的关注, 但其水解产物萝卜硫素及莱菔素的分离和检测方法方面并未有详尽的资料供参考, 本文综述了近年来萝卜硫素和莱菔素的提取、分析及分离纯化方法等方面的研究, 旨在为萝卜硫素及莱菔素的后续研究提供理论参考。

萝卜硫素[1-异硫氰酸基-4-(甲基亚磺酰基)丁烷], 又称莱菔硫烷; 莱菔素[4-异硫氰酸基-1-(甲基亚磺酰基)-1-丁烯], 又称莱菔素, 这两种化合物是十字花科蔬菜中最具活性的异硫氰酸酯化合物之一, 结构式如图 1 所示。萝卜硫素和莱菔素在癌症预防方面都有很好的效果^[2-5], 且莱菔素在烷基链上比萝卜硫素多一个不饱和双键, 在体外抗诱变实验中, 莱菔素活性是萝卜硫素的 1.3~1.5 倍^[9]。

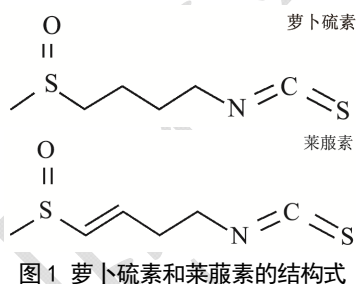


图 1 萝卜硫素和莱菔素的结构式

Fig.1 Structural formula of sulforaphane and sulforaphene

植物细胞中硫代葡萄糖苷和黑芥子酶是相互分离的, 前者存在于细胞液泡中, 而后者存在于特定的蛋白体中。一般通过粉碎或研磨的方式释放蔬菜中的黑芥子酶^[1,10-12], 种子加水高速均质或蔬菜直接高速均质方法也经常被采用^[13-16]。粉碎或研磨的方式可促进黑芥子酶的充分释放, 高压均质可提高酶解效率从而提高异硫氰酸酯的提取率, 但均质或研磨的物料过细会影响萝卜硫素及莱菔素的提取效率。西兰花中的硫代葡萄糖苷水解酶最适温度为 60 °C 左右, 在维生素 C

存在的条件下, 黑芥子酶的活性会显著增加^[17]。通常采用的方法为物料粉碎后, 室温条件下黑芥子酶自然水解, 酶解所需时间 2~24 h 不等^[11,18]。在 pH 值 3~8 的范围内, 黑芥子酶可将糖苷水解为异硫氰酸酯。硫代葡萄糖苷在不同 pH 条件下生成的水解产物不同, 在中性和偏酸性条件下, 水解产物以异硫氰酸酯为主^[11,19]。为提高酶解效率, 可将酶解温度设定在 35~55 °C^[14,15,19-22], 而额外添加硫代葡萄糖苷水解酶则只需酶解 20 min 左右即可达到最佳酶解效果^[10]。

1 萝卜硫素和莱菔素的提取方法

1.1 溶剂萃取法

萝卜硫素和莱菔素易溶于极性有机溶剂, 通常采用溶剂萃取方式提取蔬菜、种子及副产物中萝卜硫素和莱菔素。表 1 为近年来萝卜硫素和莱菔素提取方法, 常用的提取溶剂为二氯甲烷^[11,13,15,20,23]、乙酸乙酯^[14,16,24-27]、丙酮^[28]、热乙醇溶液^[12]等。与甲醇、乙腈等溶剂相比, 二氯甲烷作为萝卜硫素提取溶剂更合适^[20]。莱菔素水溶液不稳定, 降解速率和含水量正相关, 贮藏过程中会生成聚合物^[29]。由于种子含有大量的油脂, 阻碍酶和底物的接触, 从毛油中提取萝卜硫素或莱菔素的效率更高一些^[19]。粗提液中脂溶性杂质的去除, 一般采用正己烷洗涤的方式^[11,16,23,25], 氯化钠饱和水分帮助分层, 无水硫酸钠脱水^[13,16,23], 在提取时加入适量氯化钠和硫酸钠, 提高了二氯甲烷对萝卜硫素的萃取效率^[11]。

1.2 现代提取技术

纤维素酶解法^[17]、超临界流体萃取^[31]、超声波辅助提取^[23,24]和微波辅助提取^[32]等现代生物学及仪器分析技术的应用, 有效的缩短了萝卜硫素和莱菔素的提取时间, 提高了提取效率。西兰花纤维素含量较高, 添加纤维素酶能很好地水解其细胞壁上的纤维素, 降低传质阻力, 提高萝卜硫素的提取效率^[17]。超声波辅助溶剂萃取 (UAE) 萝卜硫素可以缩短提取时间^[24]。Prá 等^[31]采用超临界流体 CO₂ 萃取甘蓝中萝卜硫素, 在温度为 60 °C、压力 25 MPa 的条件下达到最高得率 0.47%, 并且采用气质联用 (GC-MS) 法从中鉴定出 14 种化合物, 均为萝卜硫素和腈类等化合物。Tanongkankit 等^[32]采用微波辅助提取 (MAE) 卷心菜中萝卜硫素, 在 120 W 作用 1 min 时, 新鲜卷心菜萝卜硫素达到最高提取量 0.24 mg/g (按干基计)。

2 萝卜硫素和莱菔素的定量分析方法

2.1 1,2-苯二硫醇 (BDT) 比色法

表 2 为萝卜硫素和莱菔素常用定量分析方法, BDT 比色法是早期使用的异硫氰酸酯总量的定量分

表 1 酶解后萝卜硫素和莱菔素溶剂萃取方法

Table 1 Solvent extraction method of sulforaphane and sulforaphene after hydrolysis

作者	年份	原料	成分	提取方法	文献
Matusheski 等	2001	西兰花种子	萝卜硫素	氯化钠、硫酸钠和二氯甲烷同时提取后减压浓缩, 正己烷洗去非极性杂质	[11]
Sivakumar 等	2007	芸苔科蔬菜芽苗	萝卜硫素	二氯甲烷提取, 无水硫酸钠过滤后减压浓缩	[30]
Campas-Baypoli 等	2010	西兰花副产物	萝卜硫素	二氯甲烷提取, 室温浸泡后过滤	[20]
Pocasap 等	2013	泰国鼠尾萝卜	萝卜硫素和莱菔素	二氯甲烷提取, 无水硫酸钠脱水后过滤, 真空干燥	[13]
Ares 等	2014	西兰花	萝卜硫素	超声波辅助甲基叔丁基醚提取, 无水硫酸钠脱水后过滤	[23]
Zhang 等	2016	萝卜种子	莱菔素	离心去除蛋白质, pH 值 2.0 条件下乙酸乙酯等提取后减压浓缩	[19]
Lim 等	2016	萝卜种子	莱菔素	二氯甲烷提取, 无水硫酸钠脱水后减压浓缩	[15]
García-Saldaña 等	2018	西兰花种子	萝卜硫素	超声辅助乙酸乙酯提取, 静止后过滤, 减压浓缩	[14]
Zhang 等	2022	西兰花	萝卜硫素	乙酸乙酯震荡提取, 加氯化钠后过滤, 无水硫酸钠脱水后再过滤, 减压浓缩	[3]

2.2 HPLC 定量分析法

HPLC 是目前最常用于萝卜硫素和莱菔素分离并定量分析的方法^[19,20,26]。介于异硫氰酸酯活性来自于天然 *R* 对映体的立体硫原子, 而 *S* 对映体是无活性或活性很低。Platz 等^[37]开发出了一种可以直接拆分手性硫原子的固定化直链淀粉手性固定相 (CSP) 液相色谱紫外 (HPLC-UV) 检测方法, *R*-萝卜硫素和 *S*-萝卜硫素对映体可基线分离。

由于萝卜硫素和莱菔素色谱出峰时间很接近, 传统乙腈和水溶液为流动相的 HPLC 条件下无法区分这两种成分^[35]。采用 5%四氢呋喃和 95%水作为流动相, 可做到同时分离定量萝卜硫素和莱菔素^[38], 但使用四氢呋喃作为流动相会对色谱仪器造成损害, 应尽量减小四氢呋喃比例, 并避免长期使用这一流动相。因此, 通常采用 GC-MS 方法同时对这两种成分分离^[13]或 UPLC 方法分离并定量^[36]。相比于 HPLC, 超高压液相色谱 (UPLC) 法具有更好的分离效果和灵敏度^[40], 结合质谱分析可对多种硫代葡萄糖苷或异硫氰酸酯进行分离与分析^[4,12,41,42]。

析方法, 由 Zhang 等^[33]建立, 利用异硫氰酸酯 (*R*-NCS) 和过量的 1,2-苯二硫醇发生可定量化学反应, 释放出相应的游离胺 (*R*-NH₂), 生成在 365 nm 下有光吸收的五元环缩合产物-环状三硫碳酸酯, 这种检测方法常用于总异硫氰酸酯的定量^[34]。

2.3 GC-MS 定量分析法

在对西兰花提取物中萝卜硫素定量分析时, Chiang 等^[43]以萝卜硫素对照品质谱图的 *m/z* 160 的特征片段做 13~266 μg/mL 质量浓度范围内的五点线性分析, 萝卜硫素检出限 2 μg/g, 但在进样口高温条件下 (250 °C), 约 80%萝卜硫素分解生成 3-丁烯基异硫氰酸酯^[42]。因此, GC-MS 法不适合用于萝卜硫素等异硫氰酸酯物质的定量分析^[43]。

3 萝卜硫素和莱菔素的纯化方法

3.1 开口柱色谱法

表 3 为萝卜硫素和莱菔素常用分离纯化方法及结果。Wu 等^[44]对萝卜硫素在大孔树脂上的水相吸附热力学研究表明, 大孔树脂对萝卜硫素的吸附是物理吸附, 是自发的放热过程。硅胶、大孔树脂等开口柱色谱法分离纯化萝卜硫素和莱菔素具有成本低、易于再生, 适合大规模生产的优点^[44]。如果需要高纯度萝卜硫素和莱菔素, 还需要采用其他方法进一步纯化。

表 2 萝卜硫素和菜菔素定量分析方法

Table 2 Quantitative analysis method of sulforaphane and sulforaphene

作者	年份	原料	检测成分	检测方法	线性范围	加标回收率	检出限, 定量限	文献
Vaughn 等	2005	紫罗兰种子	菜菔素	GC-FID	-	-	-	[6]
Lim 等	2009	萝卜和白菜	萝卜硫素和菜菔素	HPLC-ELSD 和 HPLC-UV	-	-	-	[35]
Campas 等	2010	西兰花副产物	萝卜硫素	HPLC-UV	4.0~80 µg/mL	鲜样 97.5%, 冻干样 98.1%	-	[20]
Hanand Row	2011	西兰花	萝卜硫素	HPLC-UV	0.05~200 µg/mL	90.8%	0.02 µg/mL, -	[22]
Ares 等	2014	西兰花	萝卜硫素	HPLC-DAD	2.5~800 µg/g	92%~102%	0.8 µg/g, 2.5 µg/g	[23]
Dominguez 等	2014	尿液	萝卜硫素	UPLC-MS/MS	-	87%~98%	7 nmol/L, 37 nmol/L	[36]
Platz 等	2015	血液尿液等	萝卜硫素	HPLC-MS/MS	-	82%~107%	小于 25 nmol/L	[37]
Sangthong 等	2016	泰国鼠尾萝卜	菜菔素和萝卜硫素	UHPLC-QToF-MS/MS	-	96.83%~101.17%	菜菔素 0.34、1.02 µg/mL; 萝卜硫素 0.36、1.08 µg/mL	[38]
García 等	2018	西兰花种子	萝卜硫素	BDT 比色法	5~65 µg/mL	-	-	[14]
Kamal 等	2019	微乳制剂	萝卜硫素	HPLC-UV	-	98%~101%	0.4419 µg/mL, 1.338 9 µg/mL	[39]
蔡达等	2022	萝卜、西兰花和白菜	菜菔素和萝卜硫素	UPLC-MS/MS	5~500 µg/L	菜菔素 89.79%~105.55%; 萝卜硫素 82.09%~107.42%	检出限分别为 0.5、0.4 µg/L	[40]

表 3 萝卜硫素和菜菔素分离纯化方法

Table 3 Isolation and purification methods of sulforaphane and sulforaphene

作者	年份	原料	成分	分离纯化方法	纯化结果	文献
Matusheski 等	2001	甘蓝种子	萝卜硫素	制备 HPLC	得率 4.8 g/kg (按干基计)	[11]
Liang 等	2007	西兰花种子	萝卜硫素	过硅胶 SPE 柱后, 制备 HPLC 纯化	纯度 95%, 得率 3.2 g/kg	[25]
Liang 等	2008	西兰花种子	萝卜硫素	HSCCC	纯度 97%	[45]
Kuang 等	2013b	萝卜种子	菜菔素	HSCCC	纯度 96.9%	[46]
Kuang 等	2013a	萝卜种子	菜菔素	过 SP-700 大孔树脂柱后, 制备 HPLC 纯化	纯度 96.5%, 得率 0.432 g/kg (按鲜重计)	[10]
Lim 等	2016	萝卜种子	菜菔素	过硅胶 SPE 柱后, 制备 HPLC 纯化	纯度 87%~93%, 得率 2.3 mg/g (按鲜重计)	[15]
Zhang 等	2016	萝卜种子	菜菔素	过 SP700 大孔树脂柱分离, 再经制备 HPLC 纯化	过 SP700 树脂后菜菔素纯度 36.27%, 再过制备 HPLC 后纯度 96.84%, 得率 6.91 mg/g (按鲜重计)	[19]
García-Saldana 等	2018	西兰花种子	萝卜硫素	硅胶开口柱层析后, 加活性炭搅拌脱色	纯度 40%	[14]
Hafezian 等	2019	西兰花	萝卜硫素	二氧化硅 SPE 柱	纯度 94%	[47]
Zhang 等	2021	西兰花	萝卜硫素	HSCCC	浓度 18.96 mmol/L	[27]

3.2 高速逆流色谱 (HSCCC) 法

HSCCC 具有纯化效率高和制备量大的特点^[27]。Kuang 等^[45]采用正己烷-乙酸乙酯-甲醇-水 (35:100:35:100, *V/V/V/V*) 两相溶剂体系, 在 5 h 内从 1 000 mg 粗提物中纯化得到 249.4 mg 纯度为 96.9% 的莱菔素, 回收率超过 95%。Liang 等^[46]采用 HSCCC 从西兰花种子中分离出了纯度为 97% 的萝卜硫素。

3.3 固相萃取 (SPE) 法

传统的开口柱层析及 HSCCC 法需要用到大量的有机溶剂, 且需要多次萃取和分离。采用 SPE 柱纯化可以减少有机溶剂的使用, 简化操作步骤^[20,22]。在对西兰花中的萝卜硫素纯化过程中发现, 与 C18 和氨基柱相比, 硅胶 SPE 对萝卜硫素有更好的选择性^[22]。采用合成的纳米 SBA-15 介孔二氧化硅 SPE 柱纯化西兰花中的萝卜硫素, 萝卜硫素纯度达到 94%, 回收率达到 98% 以上^[47]。Hafezian 等^[48]通过接枝的方法对 SBA-15 纳米颗粒进行-SH 和-NH₂ 功能化, 发现-NH₂ 化的 SBA-15-NH₂ 对萝卜硫素的吸附可达到 97%。与 SBA-15-SH 相比, SBA-15-NH₂ 中的孤对电子与异氰酸酯亲电碳原子之间的相互作用更强, 最大吸附量可高达 27.85 mg/g。

3.4 制备 HPLC 法

虽然制备 HPLC 法对样品前处理的要求条件较高, 但采用此方法可以获得高纯度的萝卜硫素和莱菔素^[11,19,25]。Kuang 等^[10]首先采用 SP-700 大孔树脂分离得到纯度 65.8% 的莱菔素, 再经制备 HPLC 纯化后, 得到纯度 96.5% 的莱菔素。Lim 等^[15]采用二氯甲烷提取, 浓缩后粗提液莱菔素浓度为 8.6%, 过硅胶 SPE 小柱后纯度为 22.3%, 得率 10.23 mg/g (按鲜重计), 经制备 HPLC 后, 纯度提高到 87%~93%, 得率 2.3 mg/g (按鲜重计)。

4 总结与展望

随着营养健康研究的深入, 富含抗癌成分-萝卜硫素和莱菔素的萝卜属、芸薹属等十字花科蔬菜越来越受到人们的关注, 萝卜硫素和莱菔素的提取和利用, 成为众多研究者关注的重点。在萝卜硫素和莱菔素的提取方法中可以采用物料经粉碎加水酶解后, 溶剂萃取法进行提取。如果考虑到溶剂毒性及残留问题, 可选择超临界流体 CO₂ 萃取等现代提取工艺。相比于 GC-MS 法, HPLC-MS 或 UPLC-MS 法更适合于萝卜硫素和莱菔素的定性和定量。莱菔素和萝卜硫素的纯

化方法很多, 从开口柱色谱、SPE 固相萃取、高速逆流色谱到制备 HPLC 及几种方法的结合均有应用, 但是否能扩大生产是关系到食品开发的一个重要前提。减少有机溶剂的使用, 建立绿色环保的萝卜硫素和莱菔素提取及纯化方法是今后的研究方向和趋势。

参考文献

- [1] Björkman M, Klingen I, Birch A N, et al. Phytochemicals of brassicaceae in plant protection and human health-influences of climate, environment and agronomic practice [J]. *Phytochemistry*, 2011, 72: 538-556.
- [2] Martínez-Zamora L, Castillejo N, Art'Es-Hernández F. Postharvest UV-B and UV-C radiation enhanced the biosynthesis of glucosinolates and isothiocyanates in Brassicaceae sprouts [J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2021, 181: 111650.
- [3] Zhang Jie, Li Xiaoqin, GePu, et al. Sulforaphene: formation, stability, separation, purification, determination and biological activities [J]. *Separation & Purification Reviews*, 2022, 51(3): 330-339.
- [4] Sangthong S, Weerapreeyakul N, Lehtonen M, et al. High-accuracy mass spectrometry for identification of sulphur-containing bioactive constituents and flavonoids in extracts of *Raphanussativus* var. caudatus Alef (Thai rat-tailed radish) [J]. *Journal of Functional Foods*. 2017, 31: 237-247.
- [5] Pocasap P, Weerapreeyakul N, Tanthanuch W, et al. Sulforaphene in *Raphanus sativus* L. var. caudatus Alef increased in late-bolting stage as well as anticancer activity [J]. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2017, 7(11): 998-1004.
- [6] Vaughn S F, Berhow M A. Glucosinolate hydrolysis products from various plant sources: pH effects, isolation, and purification [J]. *Industrial Crops and Products*, 2005, 21: 193-202.
- [7] Houghton C A, Fassett R G, Coombes J S. Sulforaphane: translational research from laboratory bench to clinic [J]. *Nutrition Reviews*, 2013, 71(11): 709-726.
- [8] Shapiro T A, Fahey J W, Dinkova-Kostova A T, et al. Safety, tolerance, and metabolism of broccoli sprout glucosinolates and isothiocyanates: A clinical phase I study [J]. *Nutrition and Cancer-an International Journal*, 2006, 5: 53-62.
- [9] Shishu, Kaur I P. Inhibition of cooked food-induced mutagenesis by dietary constituents: Comparison of two natural isothiocyanates [J]. *Food Chemistry*, 2009, 112:

- 977-981.
- [10] KUANG Pengqun, SONG Dan, YUAN Qipeng, et al. Separation and purification of sulforaphane from radish seeds using macroporous resin and preparative high-performance liquid chromatography [J]. Food Chemistry, 2013, 136(2): 342-347.
- [11] Matusheski N V, Wallig M A, Juvik J A, et al. Preparative HPLC method for the purification of sulforaphane and sulforaphane nitrile from *Brassica oleracea* [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2001, 49: 1867-1872.
- [12] 冯俊杰,蒋海强,董梅月,等.四极杆静电场轨道阱高分辨质谱法分析菜菔子化学成分[J].化学分析计量,2021,30(21): 14-22.
- [13] Pocasap P, Weerapreeyakul N, Barusrux S. Cancer preventive effect of Thai rat-tailed radish (*Raphanus sativus* L. var. caudate) [J]. Journal of Functional Foods, 2013, 5(3): 1372-1381.
- [14] Garcia-Saldaña J S, Campas-Baypoli O N, Sánchez-Machado D I, et al. Separation and purification of sulforaphane (1-isothiocyanato-4-(methylsulfinyl) butane) from broccoli seeds by consecutive steps of adsorption-desorption-bleaching [J]. Journal of Food Engineering, 2018, 237: 162-170.
- [15] Lim S, Han S W, Kim J, et al. Sulforaphane identified from radish (*Raphanus sativus* L.) seeds possesses antimicrobial properties against multidrug-resistant bacteria and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. Journal of Functional Foods, 2016, 24: 131-141.
- [16] Xing Junjie, Cheng Yanling, Chen Paul, et al. Effect of high-pressure homogenization on the extraction of sulforaphane from broccoli (*Brassica oleracea*) seeds [J]. Powder Technology, 2019, 385: 103-109.
- [17] 张静.西蓝花中萝卜硫素的提取工艺优化及其活性功能研究[D].哈尔滨:哈尔滨商业大学,2021.
- [18] Beevi S S, Mangamoori L N, Subathra M, et al. Hexane extract of *Raphanus sativus* L. roots inhibits cell proliferation and induces apoptosis in human cancer cells by modulating genes related to apoptotic pathway [J]. Plant Foods for Human Nutrition, 2010, 65: 200-209.
- [19] Zhang Jie, Zhou Xing, Fu Min. Integrated utilization of red radish seeds for the efficient production of seed oil and sulforaphane [J]. Food Chemistry, 2016, 192: 541-547.
- [20] Campas-Baypoli O N, Sánchez-Machado C, Bueno-Solano D I, et al. HPLC method validation for measurement of sulforaphane level in broccoli by-products [J]. Biomedical Chromatography, 2010, 24: 387-392.
- [21] Muto M, Huang J W, Takahashi H. Effect of water-soluble extracts of radish seed meal on control of lettuce brown leaf spot (*Acremonium lactucae* Lin et al.) [J]. Plant Pathology Bulletin, 2004, 13: 275-282.
- [22] Han Dandan, Row K H. Separation and purification of sulforaphane from broccoli by solid phase extraction [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2011, 12: 1854-1861.
- [23] Ares A M, Bernal J, Martín M T, et al. Optimized formation, extraction, and determination of sulforaphane in broccoli by liquid chromatography with diode array detection [J]. Food Analytical Methods, 2014, 7(3): 730-740.
- [24] LIU Yanbing, ZHANG Di, LI Xiaodan, et al. Enhancement of ultrasound-assisted extraction of sulforaphane from broccoli seeds via the application of microwave pretreatment [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2022, 87: 106061.
- [25] Liang Hao, Li Chunfang, Yuan Qipeng, et al. Separation and purification of sulforaphane from broccoli seeds by solid phase extraction and preparative high-performance liquid chromatography [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55: 8047-8053.
- [26] 孔凡华,杨春雪,方从容,等.高效液相色谱法测定十字花科蔬菜中萝卜硫素的含量[J].食品与发酵工业,2021,47(8): 218-223.
- [27] ZHANG Yao, LV Chengzhi, SUN Juan, et al. Protective effects of broccoli extracts and sulforaphane against hydrogen peroxide induced oxidative stress in B16 cells [J]. Journal of Functional Foods, 2021, 87: 104833.
- [28] 沈莲清,苏光耀,王奎武.西兰花种子中硫苷酶解产物萝卜硫素的提纯与抗肿瘤的体外试验研究[J].中国食品学报, 2008,8(5):15-20.
- [29] TIAN Guifang, LI Yuan, CHENG Li, et al. The mechanism of sulforaphane degradation to different water contents [J]. Food Chemistry, 2016, 194: 1022-1027.
- [30] Sivakumar G, Aliboni A, Bacchetta L. HPLC screening of anti-cancer sulforaphane from important European Brassica species [J]. Food Chemistry, 2007, 104: 1761-1764.
- [31] Prá V D, Dolwitsch C B, Silveira G, et al. Supercritical CO₂ extraction, chemical characterisation and antioxidant potential of *Brassica oleracea* var *capitata* against HO₂, O₂⁻ and ROO [J]. Food Chemistry, 2013, 141: 3954-3959.
- [32] Tanongkankit Y, Sablani S S, Chiewchan N, et al. Microwave-assisted extraction of sulforaphane from white cabbages: Effects of extraction condition, solvent and sample

- pretreatment [J]. Journal of Food Engineering, 2013, 117(1): 151-157.
- [33] Zhang Yuesheng, Cho C G, Posner G H. et al. Spectroscopic quantitation of organic isothiocyanates by cyclocondensation with vicinal dithiols [J]. Analytical Bio-Chemistry, 1992, 205: 100-107.
- [34] Pilipeczuk T, Kusznierevicz B, Chmiel T, et al. Simultaneous determination of individual isothiocyanates in plant samples by HPLC-DAD-MS following SPE and derivatization with N-acetyl-L-cysteine [J]. Food Chemistry, 2017, 214: 587-596.
- [35] Lim S, Lee J, Kim, J K. Analysis of isothiocyanates in newly generated vegetables, Baemuchae (*×Brassicoraphanus*) as affected by growth [J]. International Journal of Food Science and Technology, 2009, 44: 1401-1407.
- [36] Dominguez-Perles R, Medina S, Moreno D A, et al. A new ultra-rapid UHPLC/MS/MS method for assessing glucoraphanin and sulforaphane bioavailability in human urine [J]. Food Chemistry, 2014, 143: 132-138.
- [37] Platz S, Piberger A L, Budnowski J, et al. Bioavailability and biotransformation of sulforaphane and erucin metabolites in different biological matrices determined by LC-MS-MS [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2015, 407(7): 1819-1829.
- [38] Sangthong S, Weerapreeyakul N. Simultaneous quantification of sulforaphane and sulforaphane by reverse phase HPLC and their content in *Raphanus sativus* L. var. caudatus Alef extracts [J]. Food Chemistry, 2016, 201: 139-144.
- [39] Kamal M M, Nazzal S. Development and validation of a HPLC-UV method for the simultaneous detection and quantification of paclitaxel and sulforaphane in lipid based self-microemulsifying formulation [J]. Journal of Chromatographic Science, 2019, 57(10): 931-938.
- [40] 蔡达,王玉涛,王文博. 十字花科蔬菜中菜菔素与菜菔硫烷含量测定方法研究[J]. 山东农业科学, 2022, 54(1): 144-151.
- [41] Hwang I M, Park B, Dang Y M, et al. Simultaneous direct determination of 15 glucosinolates in eight brassica species by UHPLC-Q-Orbitrap-MS [J]. Food Chemistry, 2019, 281(1): 127-133.
- [42] DONG Meiyue, TIAN Zhenhua, MA Yanni, et al. Rapid screening and characterization of glucosinolates in 25 brassicaceae tissues by UHPLC-Q-exactiveorbitrap-MS [J]. Food Chemistry, 2021, 365: 130493.
- [43] Chiang W C, Pusateri D J, Leitz R E. Gas chromatography/mass spectrometry method for the determination of sulforaphane and sulforaphane nitrile in broccoli [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 1998, 46: 1018-1021.
- [44] WU Yuanfeng, ZHANG Lei, MAO Jianwei, et al. Kinetic and thermodynamic studies of sulforaphane adsorption on microporous resin [J]. Journal of Chromatography B, 2016, 1028: 231-236.
- [45] Liang Hao, Li Cuijuan, Yuan Q, et al. Application of high-speed countercurrent chromatography for the isolation of sulforaphane from broccoli seed meal [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56(17): 7746-7749.
- [46] Kuang Pengqun, Song Dan, Yuan Qipeng, et al. Preparative separation and purification of sulforaphane from radish seeds by high-speed countercurrent chromatography [J]. Food Chemistry, 2013b, 136(2): 309-315.
- [47] Hafezian S M, Azizi S N, Biparva P, et al. High-efficiency purification of sulforaphane from the broccoli extract by nanostructured SBA-15 silica using solid-phase extraction method [J]. Journal of Chromatography B, 2019, 1108: 1-10.
- [48] Hafezian S M, Biparva P, Bekhradnia A, et al. Amine and thiol functionalization of SBA-15 nanoparticles for highly efficient adsorption of sulforaphane [J]. Advanced Powder Technology, 2021, 32: 779-790.