

中华人民共和国农业行业标准

NY/T XXXXX—XXXX

十字花科蔬菜及制品中硫代葡萄糖苷的测定  
高效液相色谱法

Determination of glucosinolates in cruciferous vegetables and derived products by  
high performance liquid chromatography

（征求意见稿）

（本稿完成日期 2026 年 9 月 15 日）

XXXX—XX—XX 发布

XXXX—XX—XX 实施

中华人民共和国农业农村部 发布

## 前 言

本文件按照GB/T 1.1-2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意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。

本文件由农业农村部农产品质量安全监管司提出。

本文件由农业农村部农产品营养标准专业委员会归口。

本文件起草单位：北京市农林科学院农产品加工与食品营养研究所、农业农村部食物与营养发展研究所、中国农业科学院蔬菜花卉研究所、江苏省农业科学院农产品质量安全与营养研究所、北京市营养源研究所有限公司。

本文件主要起草人：何洪巨、王亚钦、刘光敏、朱大洲、王娟、赵学志、徐东辉、梁颖、许洪高、崔亚娟。

# 十字花科蔬菜及制品中硫代葡萄糖苷的测定

## 高效液相色谱法

### 1 范围

本标准规定了十字花科蔬菜及制品中硫代葡萄糖苷的高效液相色谱测定方法。

本标准适用于十字花科蔬菜及制品中硫代葡萄糖苷含量的测定。

### 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 分析实验室用水规格和试验方法

### 3 原理

用 50%乙醇水溶液提取样品中的硫代葡萄糖苷，然后在阴离子交换树脂上纯化并酶解脱去硫酸根，反相色谱柱分离，紫外检测器检测硫代葡萄糖苷。

### 4 试剂与材料

除非另有说明，仅使用分析纯试剂，水为 GB/T 6682 规定的一级水。

4.1 乙腈（ $\text{CH}_3\text{CN}$ ，CAS 号：75-05-8）：色谱纯。

4.2 乙醇（ $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ，CAS 号：64-17-5）。

4.3 冰醋酸（ $\text{CH}_3\text{COOH}$ ，CAS 号：64-19-7）。

4.4 三水合醋酸钠（ $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ，CAS 号：6131-90-4）。

4.5 一水丙基硫代葡萄糖苷钾标准品（ $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{NO}_9\text{S}_2\text{K} \cdot \text{H}_2\text{O}$ ，CAS 号：64550-88-5）：纯度 $\geq 98\%$ 。

4.6 苯甲基（苄基）硫代葡萄糖苷钾标准品（ $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{NO}_9\text{S}_2\text{K}$ ，CAS 号：5115-71-9）：纯度 $\geq 98\%$ 。

4.7 50%乙醇水溶液：量取 500 mL 乙醇（4.2），加水定容至 1000 mL。

4.8 硫酸酯酶溶液：*Helix pomatia* H1 型（EC 3.1.6.1），每毫升硫酸酯酶溶液的活性单位不低于 0.5，硫酸酯酶溶液应即配即用。

4.9 2 mol/L 醋酸溶液：量取 115 mL 冰醋酸（4.3），加水定容至 1 L。

4.10 葡聚糖凝胶悬浮液：称取 10 g DEAE Sephadex A25 葡聚糖凝胶，浸泡在过量的 2 mol/L 醋酸溶液（4.9）中，静置沉淀，再加入 2 mol/L 醋酸溶液（4.9），直到液体体积是沉淀体积的 2 倍，于 4℃冰箱中存放，待用。

4.11 0.02 mol/L 醋酸钠溶液：称取 0.272 g 三水合醋酸钠（4.4），加入 800 mL 水溶解，用醋酸（4.3）调节溶液的 pH 至 4.0，加水定容至 1 L。

4.12 内标溶液：用丙烯基硫代葡萄糖苷作内标；当样品中含有丙烯基硫代葡萄糖苷时，用苯甲基硫代葡萄糖苷作内标。通过空白试验确定样品中是否含有内标物。内标溶液在 4℃的冰箱中可存放 3 周，在 -18℃条件下可保存 3 个月。

4.12.1 5 mmol/L 丙烯基硫代葡萄糖苷溶液：称取 207.7 mg 一水丙烯基硫代葡萄糖苷钾(4.5,  $M = 415.5$  g/mol) 溶解于 80 mL 水中，加水定容至 100 mL。

4.12.2 5 mmol/L 苯甲基硫代葡萄糖苷溶液：准确称取 223.7 mg 苯甲基硫代葡萄糖苷钾(4.6,  $M = 447.5$  g/mol) 溶解于 80 mL 水中，加水定容至 100 mL。

4.13 流动相：A 相为水，超声波脱气 30 s；B 相为 20%乙腈水溶液，取 200 mL 色谱纯乙腈（4.1），加入 800 mL 水，混匀，超声波脱气 30 s。

## 5 仪器与设备

5.1 分析天平：感量 0.0001 g 和 0.01 g。

5.2 涡旋振荡器。

5.3 聚丙烯离子交换微柱。

5.4 离心机：能获得 5000 g 的相对离心力。

5.5 0.45  $\mu\text{m}$  水系微孔滤膜。

5.6 色谱柱：填料颗粒小于或等于 5  $\mu\text{m}$  的反相  $\text{C}_{18}$  柱，如 Nova-Pak  $\text{C}_{18}$  4  $\mu\text{m}$  (150 mm×3.9 mm)，Nova-Pak  $\text{C}_{18}$  5  $\mu\text{m}$  (150 mm×3.9 mm)，Inertsil ODS-3  $\text{C}_{18}$  5  $\mu\text{m}$  (150 mm×4.6 mm) 等。

5.7 高效液相色谱仪：具备梯度洗脱，柱温可控制在 30℃，带紫外检测器或二极管阵列检测器。

5.8 恒温水浴锅。

5.9 研钵或微型研磨机。

5.10 真空冷冻干燥机。

## 6 试样制备

采用四分法分取样品。缩分后的样品应用真空冷冻干燥机进行冻干处理，并将冻干后的样品粉碎，过 60-80 目筛，制得均匀的干粉样品。干粉样品可在低温下（-18℃）保存 6 个月。记录真空冷冻干燥前后样品的质量变化。

## 7 操作步骤

### 7.1 称样

称取 0.4 g（精确至 0.001 g）待测干粉样品至 50 mL 离心管中。

### 7.2 硫代葡萄糖苷的提取

7.2.1 将离心管在 75℃ 水浴 1 min，加入 10 mL 75℃ 预热的 50% 乙醇溶液（4.7）后，迅速加入 200  $\mu\text{L}$  5 mmol/L 的内标溶液（4.12）。

7.2.2 75℃ 下水浴 20 min，其间每隔 2 min 取出离心管在涡旋振荡器上涡旋混合一次。然后取出离心管冷却至室温，5000 g 离心 5 min，转移上清液至 10 mL 刻度试管中。

7.2.3 用水调节刻度试管中的提取液至 10.00 mL，混匀。此提取液在 -18℃ 暗处可保存 2 周。

### 7.3 离子交换微柱的制备

每一个试样提取液准备一支聚丙烯离子交换微柱，垂直至于试管架上，加入玻璃棉，塞紧。取2 mL充分混匀的葡聚糖凝胶悬浮液（4.10）至每一个离子交换微柱中，注意不要使悬浮液粘附在柱壁。静置待液体排干后，再用1 mL水冲洗树脂两次，每次均让水排干。离子交换微柱应在制备后12小时内使用。

7.4 纯化和脱硫酸根

7.4.1 取2 mL样品提取液缓缓加入已制备好的离子交换微柱中，注意不能搅动树脂表面，待样品液不再滴下时，分别加入1 mL 0.02 mol/L的醋酸钠溶液（4.11）两次，每次加入后均让液体排干。

7.4.2 加入75 μL硫酸酯酶溶液（4.8）至离子交换微柱，封口，30℃下反应16 h。

7.4.3 将离子交换微柱用水洗涤3次，每次0.5 mL，洗脱液收集于试管中，充分混匀。

7.4.4 用0.45 μm的微孔滤膜过滤洗脱液，待进样。洗脱液在-18℃暗处可存放1周。

7.5 空白试验

用相同的样品进行相同的前处理，但不加内标物质，以检定样品中内标物质是否存在。

8 色谱条件

8.1 仪器条件：流动相流速为1.0 mL/min，柱温30℃，检测波长229 nm。

8.2 洗脱梯度见表1。

表1 梯度洗脱条件

| 时间（min） | 流动相 A（%） | 流动相 B（%） |
|---------|----------|----------|
| 0       | 100      | 0        |
| 1       | 100      | 0        |
| 21      | 0        | 100      |
| 26      | 100      | 0        |
| 31      | 100      | 0        |

8.3 色谱测定：进样量10 μL，记录峰面积。

9 结果计算

9.1 单组分硫代葡萄糖苷含量的计算

9.1.1 试样中单组分硫代葡萄糖苷的含量以每克冷冻干燥样品中的微摩尔数表示，按公式（1）计算：

$$Xg = \frac{Ag}{As} \times \frac{n}{m} \times \frac{Kg}{Ks} \text{----- (1)}$$

式中：

Xg——干燥样品中硫代葡萄糖苷含量，单位为微摩尔每克（μmol/g）；

Ag——脱硫硫代葡萄糖苷峰面积；

As——内标峰面积；

Kg——脱硫硫代葡萄糖苷相对校正系数，按附录A的规定；

Ks——内标脱硫硫代葡萄糖苷相对校正系数，按附录A的规定；

m——试样质量，单位为克（g）；

$n$ ——试样中加入内标的量，单位为微摩尔（ $\mu\text{mol}$ ）。

计算结果表示到小数点后两位。

9.1.2 试样中单组分硫代葡萄糖苷的含量以每克鲜重样品中的微摩尔数表示，按公式（2）计算：

$$C_g = \frac{A_g}{A_s} \times \frac{n}{m} \times \frac{K_g}{K_s} \times (1-w) \quad \text{-----} \quad (2)$$

式中：

$A_g$ 、 $A_s$ 、 $K_g$ 、 $K_s$ 、 $m$ 、 $n$ 同式（1）；

$C_g$ ——鲜样中硫代葡萄糖苷含量，单位为微摩尔每克（ $\mu\text{mol/g}$ ）；

$w$ ——试样冷冻干燥后失重量，以质量百分数表示（%）。

计算结果表示到小数点后两位。

## 9.2 硫代葡萄糖苷总量的计算

硫代葡萄糖苷总量等于单组分硫代葡萄糖苷（单组分峰面积应大于峰面积总和的1%）含量的总和，以每克样品中所含硫代葡萄糖苷的微摩尔数表示。

## 10 精密度

### 10.1 重复性

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%。

### 10.2 再现性

在再现性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 20%。

附 录 A  
(规范性附录)

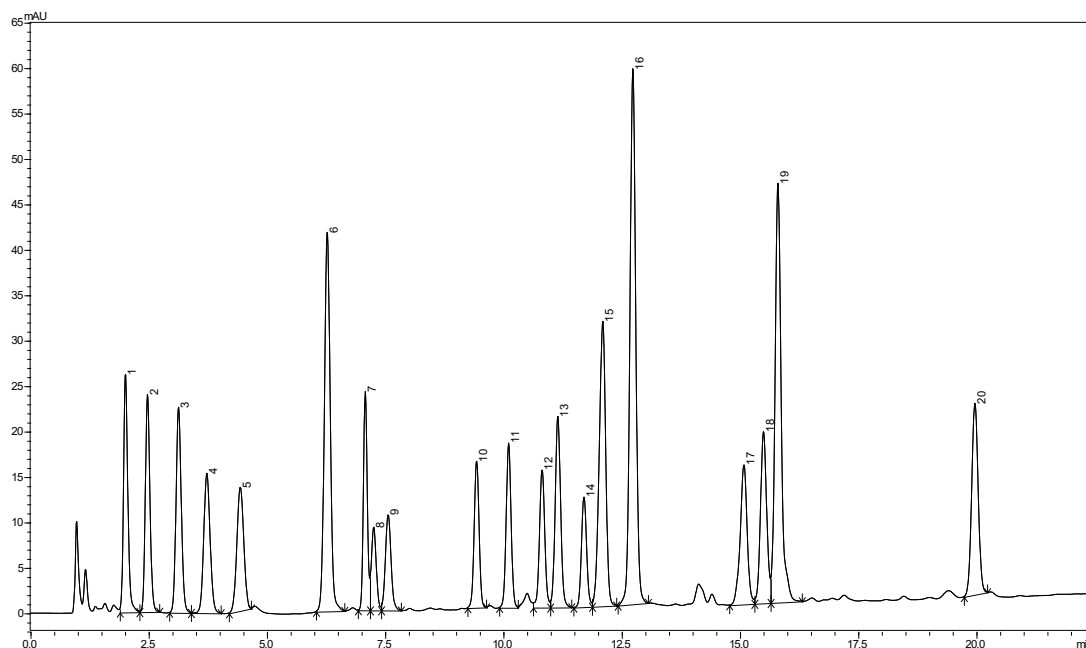
脱硫酸代葡萄糖苷相对校正系数

| 序号 | 中文名                     | 英文名                             | 相对校正系数<br>( <i>K<sub>i</sub></i> ) |
|----|-------------------------|---------------------------------|------------------------------------|
| 1  | 3-甲基亚磺酰丙基脱硫酸代葡萄糖苷       | Desulfoglucosiberin             | 1.07                               |
| 2  | 2-羟基-3-丁烯基脱硫酸代葡萄糖苷      | Desulfoprogoitrin               | 1.09                               |
| 3  | 丙烯基脱硫酸代葡萄糖苷             | Desulfosinigrin                 | 1.00                               |
| 4  | 4-甲基亚磺酰丁基脱硫酸代葡萄糖苷       | Desulfoglucoraphanin            | 1.07                               |
| 5  | 4-甲基亚磺酰丁烯基脱硫酸代葡萄糖苷      | Desulfoglucoraphenin            | 1.13                               |
| 6  | 4-羟基苯甲基脱硫酸代葡萄糖苷         | Desulfoglucosinalbin            | 0.50                               |
| 7  | 5-甲亚磺戊基脱硫酸代葡萄糖苷         | Desulfoglucosilysin             | 1.07                               |
| 8  | 3-丁烯基脱硫酸代葡萄糖苷           | Desulfoglucosinapin             | 1.11                               |
| 9  | 4-羟基-3-吲哚甲基脱硫酸代葡萄糖苷     | Desulfo-4-hydroxyglucobrassicin | 0.28                               |
| 10 | (2R)-2-羟基-2-苯乙基脱硫酸代葡萄糖苷 | Desulfoglucosibarin             | 1.09                               |
| 11 | 2-羟基-2-苯乙基脱硫酸代葡萄糖苷      | Desulfoglucobarbarin            | 1.09                               |
| 12 | 4-戊烯基脱硫酸代葡萄糖苷           | Desulfoglucobrassicinapin       | 1.15                               |
| 13 | 苯甲基(苄基)脱硫酸代葡萄糖苷         | Desulfoglucotropaeolin          | 0.95                               |
| 14 | 4-甲硫丁基脱硫酸代葡萄糖苷          | Desulfoglucosinapin             | 1.15                               |
| 15 | 4-甲硫基-3-丁烯基脱硫酸代葡萄糖苷     | Desulfoglucosinapin             | 0.53                               |
| 16 | 3-吲哚甲基脱硫酸代葡萄糖苷          | Desulfoglucobrassicin           | 0.29                               |
| 17 | 苯乙基脱硫酸代葡萄糖苷             | Desulfoglucosinapin             | 0.95                               |
| 18 | 5-甲硫戊基脱硫酸代葡萄糖苷          | Desulfoglucosinapin             | 1.00                               |
| 19 | 4-甲氧基-3-吲哚甲基脱硫酸代葡萄糖苷    | Desulfo-4-methoxyglucobrassicin | 0.25                               |
| 20 | 1-甲氧基-3-吲哚甲基脱硫酸代葡萄糖苷    | Desulfoneoglucobrassicin        | 0.20                               |

## 附录 B

### (资料性附录)

#### 脱硫硫代葡萄糖苷高效液相色谱图



1. 3-甲基亚磺酰丙基脱硫硫代葡萄糖苷(desulfoglucosin); 2. 2-羟基-3-丁烯基脱硫硫代葡萄糖苷(desulfoprogoitrin); 3. 丙烯基脱硫硫代葡萄糖苷(desulfosinigrin); 4. 4-甲基亚磺酰丁基脱硫硫代葡萄糖苷(desulfoglucoraphanin); 5. 4-甲基亚磺酰丁烯基脱硫硫代葡萄糖苷(desulfoglucoraphenin); 6. 4-羟基苯甲基脱硫硫代葡萄糖苷(desulfoglucosinalbin); 7. 5-甲亚砷戊基脱硫硫代葡萄糖苷(desulfoglucosin); 8. 3-丁烯基脱硫硫代葡萄糖苷(desulfoglucosin); 9. 4-羟基-3-吡啶甲基脱硫硫代葡萄糖苷(desulfo-4-hydroxyglucobrassicin); 10. (2R)-2-羟基-2-苯乙基脱硫硫代葡萄糖苷(desulfoglucosibarin); 11. 2-羟基-2-苯乙基脱硫硫代葡萄糖苷(desulfoglucobarbarin); 12. 4-戊烯基脱硫硫代葡萄糖苷(desulfoglucobrassicin); 13. 苯甲基脱硫硫代葡萄糖苷(desulfoglucotropaeolin); 14. 4-甲硫丁基脱硫硫代葡萄糖苷(desulfoglucosin); 15. 4-甲硫基-3-丁烯基脱硫硫代葡萄糖苷(desulfoglucoraphasatin); 16. 3-吡啶甲基脱硫硫代葡萄糖苷(desulfoglucobrassicin); 17. 苯乙基脱硫硫代葡萄糖苷(desulfoglucosin); 18. 5-甲硫戊基脱硫硫代葡萄糖苷(desulfoglucobrassicin); 19. 4-甲氧基-3-吡啶甲基脱硫硫代葡萄糖苷(desulfo-4-methoxyglucobrassicin); 20. 1-甲氧基-3-吡啶甲基脱硫硫代葡萄糖苷(desulfoneoglucobrassicin)。