

西兰花种子中萝卜硫素的纯化及其稳定性研究

李奉钢¹, 刘艳冰¹, 钟泽雨¹, 李晓丹^{1,2}, 肖军霞^{1,2}, 郭丽萍^{1,2*}

(1. 青岛农业大学食品科学与工程学院, 青岛 266109; 2. 青岛特种食品研究院, 青岛 266109)

摘要: **目的** 利用大孔树脂纯化西兰花种子中的萝卜硫素, 并研究其在不同条件下的稳定性。**方法** 研究5种大孔吸附树脂(AB-8、XAD-2、DM301、HPD-300、HPD-700)对萝卜硫素的吸附和解吸性能, 并探究加热温度、pH、光照、贮藏温度对萝卜硫素稳定性的影响。**结果** XAD-2树脂对萝卜硫素的纯化效果最好。XAD-2树脂的静态吸附量为69.75 mg/g树脂, 洗脱率高达98.07%; 最佳纯化条件为: 上柱液萝卜硫素粗提液的体积为140 mL, 上柱流速为25 BV/h, 洗脱液乙醇的体积分数为60%, 洗脱液体积为16 BV, 洗脱流速为32 BV/h。经大孔树脂纯化后, 萝卜硫素的纯度由39.67%提高到85.66%。萝卜硫素在20℃至80℃条件下加热24 h后, 保留率由99.61%下降至47.84%; 在pH 8的环境下贮藏24 h后时, 萝卜硫素保留率下降至90.60%, 因此应保存在酸性偏中性的条件下; 而光照条件对其稳定性影响不大, 具有光稳定性; 长期贮藏温度为20℃时, 萝卜硫素保留率为89.69%, -4℃下保留率为96.81%, 因此冷藏或冷冻环境适合长期贮藏。**结论** 利用XAD-2型大孔树脂可以较好地纯化西兰花种子中的萝卜硫素, 具有较好的稳定性。

关键词: 大孔吸附树脂; 萝卜硫素; 纯化; 稳定性

Purification and stability of sulforaphane from broccoli seeds

LI Feng-Gang¹, LIU Yan-Bing¹, ZHONG Ze-Yu¹, LI Xiao-Dan^{1,2}, XIAO Jun-Xia^{1,2}, GUO Li-Ping^{1,2*}

(1. College of Food Science and Engineering, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, China;
2. Qingdao Special Research Institute, Qingdao 266109, China)

ABSTRACT: Objective To purify the sulforaphane in broccoli seeds by macroporous adsorption resin and study its stability under different conditions. **Methods** The adsorption and desorption properties of 5 kinds of macroporous adsorbent resins (AB-8, XAD-2, DM301, HPD-300, HPD-700) on sulforaphane were studied, and the effects of heating temperature, pH, light and storage temperature on the stability of sulforaphane were investigated. **Results** XAD-2 resin had the best purification effect on sulforaphane. The static adsorption quantity of XAD-2 resin was 69.75 mg/g, and the elution rate was 98.07%. The optimal purification conditions were as follows: the volume of sulforaphane extract was 140 mL, the flow rate of sample was 25 BV/h, elution volume 16 BV with 60% ethanol and the flow rate was 32 BV/h. After purification by macroporous resin, the purity of sulforaphane increased from 39.67% to 85.66%. When sulforaphane was heated at 20℃ to 80℃ for 24 h, the retention rate decreased from 99.61% to 47.84%. After 24 h storage at pH 8, the retention rate of sulforaphane decreased to 90.60%, so it was stored in a

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目(31801457)、国家级大学生创新创业训练计划项目(202110435073)、2022年青岛农业大学大学生创新立项项目

Fund: Supported by the National Natural Science Youth Foundation of China (31801457), the National Undergraduate Innovation Program of China (202110435073), and the 2022 Undergraduate Innovation Program of Qingdao Agricultural University

***通信作者:** 郭丽萍, 教授, 主要研究方向为食品营养与检测、功能性成分富集机理及功能评价。E-mail: happyglp@126.com

***Corresponding author:** GUO Li-Ping, Professor, College of Food Science and Engineering, Qingdao Agricultural University, No.700, Changcheng Road, Chengyang District, Qingdao 266109, China. E-mail: happyglp@126.com

neutral acidic condition. The light condition had little influence on its stability, and it has photostability. The retention rate of sulforaphane was 89.69% when the long-term storage temperature was 20°C. The retention rate was 96.81% at 4°C.

Therefore, refrigerated or frozen environments were suitable for long-term storage. **Conclusion** Sulforaphane from broccoli seeds can be purified by XAD-2 macroporous resin with good stability.

KEY WORDS: macroporous adsorption resin; sulforaphane; purification; stability

0 引言

萝卜硫素(4-甲基亚磺酰基丁基异硫氰酸酯)是萝卜硫苷(4-甲基亚磺酰基丁烯基硫代葡萄糖苷)在黑芥子酶作用下产生的水解产物之一,在西兰花中含量较多,尤其是其种子中含量最丰富^[1]。研究表明,萝卜硫素对肝癌、胰腺癌、肺癌、直肠癌、乳腺癌、卵巢癌、白血病及前列腺癌等癌症均有较好的预防和抑制作用^[2-3],是迄今为止发现的蔬菜中抗癌效果最好、效力最强的天然活性物质^[4]。此外,萝卜硫素还表现出具有显著的降低血压、保护心脏、缓解糖尿病、减肥,改善精神分裂症、自闭症、帕金森病、阿尔茨海默病等功效^[5-7]。更重要的是,近期研究发现萝卜硫素也可以抑制新型冠状病毒,包括德尔塔和奥密克戎病株^[8-9]。因此,萝卜硫素的制备和纯化成为研究热点,对于其应用具有重要意义。

目前已有萝卜硫素的分离纯化相关研究,液相色谱法制备纯化萝卜硫素具有速度快、纯度高优点,所得萝卜硫素的纯度与目前市售的萝卜硫素的纯度相似,但其仪器设备相对昂贵,成本较高^[10]。LIANG等^[11]利用高速逆流色谱技术纯化萝卜硫素,得到纯度为97%的萝卜硫素,但高速逆流色谱设备价格昂贵,工业化生产难度较大;利用SBA-15介孔二氧化硅固相萃取法^[12]从西兰花提取物中分离纯化萝卜硫素的纯度为91%,但固相萃取法对样品、液面、填料要求高、局限性强,因此该技术目前应用有限。利用低压柱层析法^[13]纯化甘蓝籽粕中的萝卜硫素,所用填料廉价、样品前处理简单,所得萝卜硫素纯度大于90%,但柱层析法硅胶柱层析法一般需经过多方法、反复多次操作才能获得纯度较高的产品。通过连续吸附-解吸-漂白的步骤纯化萝卜硫素的方法成本相对较低,但获得的萝卜硫素纯度只有35%~41%,多次纯化导致回收率较低且操作烦琐^[14]。大孔吸附树脂作为一种天然的聚合物吸附剂,具有成本低廉、上样量大、工艺简单、条件温和、操作方便、可重复使用等优点^[15],目前,已广泛应用于皂苷^[16]、黄酮^[17]和多酚^[18-19]等天然物质的提取纯化。REN等^[20]使用HPD-722树脂大孔吸附树脂纯化侧柏叶中的多酚,40%和80%的乙醇洗脱所得的两种多酚纯度分别达到73.11%和67.72%。古静燕等^[21]发现LS-46D大孔吸附树脂对金针菇粗多糖中蛋白的吸附效果最优,在最佳工艺条件为上样量为1.5 BV、洗脱剂用量2 BV、洗脱速度1.5 BV、上样液pH 6.0,所得多

糖纯度从22.4%提高到58.3%。然而,关于大孔吸附树脂对萝卜硫素的纯化鲜有研究。

本研究以西兰花种子为原料,采用课题组先前方法制备萝卜硫素粗提取物,利用大孔吸附对其分离纯化,并研究温度、pH、光照、贮藏条件对萝卜硫素稳定性的影响,以期萝卜硫素在食品、保健食品及药品等实际应用提供技术支撑。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

西兰花种子(潍坊寿禾种业有限公司);萝卜硫素标准品(纯度≥98%,河北百灵威超超精细材料有限公司);乙腈(色谱纯,天津科密欧化学试剂有限公司);乙酸乙酯、石油醚(分析纯,天津市富宇精细化工有限公司);AB-8型、HPD-300型、HPD-700型大孔吸附树脂(郑州和成新材料科技有限公司);XAD-2型、DM-301型大孔吸附树脂(天津市海光化工有限公司)。

Thermo Ultimate 3000 高效液相色谱仪(美国赛默飞公司);ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈色谱柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm, 美国安捷伦科技公司);HH-S2 数显恒温水浴锅(金坛市医疗仪器厂);JXFSTPRP-CL 全自动样品冷冻研磨仪(上海净信实业发展有限公司);H1650 高速台式离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司);XO-1000D 智能型超声细胞破碎仪(南京先欧仪器制造有限公司);P70D20N1P-G5 微波炉(广东格兰仕微波生活电器制造有限公司);AL204 型电子天平(精度 0.0001 g, 梅特勒-托利多常州称重设备系统有限公司);普通层析柱(内径 26 mm, 长度 20 cm, 北京瑞达恒辉科技发展有限公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 萝卜硫素粗提物的制备

根据课题组先前研究方法^[22]制备萝卜硫素粗提物。

1.2.2 高效液相色谱法测定萝卜硫素

色谱柱: ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈ (150 mm×4.6 mm, 5 μm); 温度为20°C; 检测器: DAD-3000, 检测波长: 254 nm; 流动相 A 为 100% 乙腈, B 为水, 梯度洗脱程序为: 0~20 min, 10%~60% A; 20~25 min, 90% A; 25~30 min, 100% A。流速为 0.6 mL/min; 进样量: 20 μL。

1.2.3 大孔树脂静态吸附

根据分离物极性大小、分子量、溶液的 pH 等因素, 选

择3种不同极性的5种大孔分离树脂AB-8、XAD-2、DM301、HPD-300、HPD-700进行萝卜硫素的分离。将5种树脂用体积分数95%乙醇浸泡24 h后用超纯水洗涤至无醇味。准确称取预处理好的湿树脂0.5 g,加入10 mL 1 mg/mL的萝卜硫素粗提物,置于30℃摇床培养箱(转速为180 r/min),测定吸附平衡液体的萝卜硫素浓度;用超纯水多次洗涤吸附平衡后的树脂,然后将其转移锥形瓶中并加入40 mL体积分数95%的乙醇进行洗脱,于30℃振荡12 h后(转速为180 r/min),按照公式(1)、(2)和(3)测定各树脂的静态吸附量、吸附率和洗脱率:

$$\text{吸附量}/(\text{mg/g}) = \frac{(C_0 - C_1) \times V_1}{m} \quad (1)$$

$$\text{吸附率}/\% = \frac{(C_0 - C_1) \times V_1}{C_0 V_1} \times 100\% \quad (2)$$

$$\text{洗脱率}/\% = \frac{C_2 V_2}{(C_0 - C_1) \times V_1} \times 100\% \quad (3)$$

式中: C_0 萝卜硫素溶液初始质量浓度, mg/mL; C_1 经过树脂吸附后萝卜硫素溶液质量浓度, mg/mL; m 湿树脂的质量, g; V_1 萝卜硫素溶液初始体积, mL; V_2 洗脱液的体积, mL; C_2 洗脱液中萝卜硫素溶液的质量浓度, mg/mL。

1.2.4 大孔树脂动态吸附-解吸条件研究

(1)泄露曲线考察

取2 g树脂预处理后填柱,将400 mL 1 mg/mL的萝卜硫素提取液分别以18、25、32 BV/h (bed volume, 柱床体积,本研究1 BV为2.5 mL)的流速通过树脂柱,每20 mL收集一份流出液,共收集20份。分别测定流出液萝卜硫素的含量,计算吸附量并作泄露曲线。

(2)洗脱液浓度筛选

将萝卜硫素提取液加入树脂柱中,吸附完成后分别用水和体积分数为20%、40%、60%、80%、100%的乙醇100 mL以25 BV/h的流速洗脱,收集洗脱液,计算解吸率。

(3)动态洗脱曲线

取萝卜硫素提取液上柱吸附后,保留0.5 h,用100 mL 60%的乙醇以32 BV/h的流速洗脱萝卜硫素,每10 mL收集一份流出液,共收集20份。按照公式(4)和(5)分别测定流出液萝卜硫素的含量,绘制洗脱曲线:

$$\text{萝卜硫素初始量}/\text{mg} = C_0 \times V_1 \quad (4)$$

$$\text{饱和吸附量}/\text{mg} = \frac{M_0 - (C_1 \times V_2)}{m} \quad (5)$$

式中: C_0 萝卜硫素溶液初始质量浓度, mg/mL; V_1 萝卜硫素溶液初始体积, mL; M_0 萝卜硫素初始量, mg; C_1 收集液萝卜硫素溶液质量浓度, mg/mL; V_2 收集液的体积, mL; m 湿树脂的质量, g。

1.2.5 萝卜硫素纯度测定

将纯化后所得洗脱液冷冻干燥,按照公式(6)测定萝卜硫素纯度。

$$\text{萝卜硫素纯度}/\% = \frac{\text{萝卜硫素质量}/\text{mg}}{\text{纯化后的目标物总质量}/\text{mg}} \quad (6)$$

1.2.6 萝卜硫素稳定性研究

(1)温度对萝卜硫素稳定性的影响

将粗提物和纯化后的萝卜硫素样品分散在超纯水中,于30、40、50、60、70、80℃分别加热0、1、2、3、4、5、6、7、8 h。另取12份样品于50℃恒温水浴中加热0、2、4、6、8、12、24 h,以明确在50℃加热条件下,24 h内萝卜硫素降解变化情况。

(2)pH对萝卜硫素稳定性的影响

将粗提物和纯化后的萝卜硫素样品用HCl及Na₂HPO₄柠檬酸的缓冲液体系制成萝卜硫素溶液,pH分别为1、2、3、4、5、6、7、8,于37℃恒温水浴加热0、2、4、6、8、12、24 h,分析萝卜硫素稳定性。

(3)光照对萝卜硫素稳定性的影响

将粗提物和纯化后的萝卜硫素样品分散在超纯水中,置于密闭的光照培养箱中,以LED灯作为光源,光照强度为50 μmol/(m²·s),对照组置于室内暗处,温度为20℃。于0、2、4、6、8、10、15、20、25、30 d分析萝卜硫素含量变化情况。

(4)贮藏对萝卜硫素稳定性的影响

将纯化后的萝卜硫素样品分散在超纯水中,密封后置于4℃、室温(20±2)℃,于0、2、4、6、8、10、15、20、25、30 d取样分析萝卜硫素含量。

1.2.7 数据处理

每项实验重复3次,结果以平均值±标准偏差表示,数据用SPSS 26进行显著性分析($P < 0.05$),采用Origin 2017软件绘图。

2 结果与分析

2.1 大孔吸附静态吸附筛选

从表1可以看出,XAD-2和DM301树脂具有较高的吸附率和洗脱率。大孔吸附的极性、孔径、比表面积等的不同条件,会影响其对萝卜硫素的吸附与解吸作用^[23]。由于萝卜硫素的分子质量只有177.29,分子很小,能进入以上树脂的绝大部分孔径中,而XAD-2的孔径较其他非极性树脂更小,较大分子的杂质不易进入。此外树脂的洗脱率与萝卜硫素和树脂之间的极性作用力有关,在极性环境中,非极性树脂容易吸附非极性或弱极性材料,极性材料容易被极性洗脱液解吸^[24]。因此,具有更小表面积的非极性树脂对萝卜硫素具有良好的吸附能力,中等极性树脂与弱极性萝卜硫素作用力不强,并且树脂的乙醇溶胀率较高,树脂遇醇后孔径扩大,萝卜硫素在乙醇中溶解度大,因此很容易把萝卜硫素从树脂中洗脱下来。综合吸附率、成本、可操作性等因素,本研究选用XAD-2进行萝卜硫素的纯化,纯化后的萝卜硫素的纯度由39.67%提高到85.66%。

表 1 5 种树脂静态吸附洗脱结果
Table 1 Static adsorption elution results of 5 kinds of resins

树脂型号	极性	比表面/(m ² /g)	平均孔径	含水率/%	吸附量/(mg/g)	吸附率/%	洗脱率/%
AB-8	弱极性	480~520	13~14	66.31	51.70±1.80 ^d	93.62±1.59 ^a	56.23±1.04 ^d
DM301	中等极性	330~380	13~17	74.11	65.69±1.02 ^a	91.71±1.60 ^{ab}	93.25±0.85 ^b
XAD-2	非极性	≥430	9	74.85	69.75±2.15 ^a	94.26±2.17 ^a	98.07±0.98 ^a
HPD-300	非极性	800~870	5~5.5	69.73	47.18±1.61 ^c	76.73±0.83 ^c	85.11±1.09 ^c
HPD-700	非极性	650~700	8.5~9	70.97	57.32±1.38 ^c	89.40±1.30 ^b	83.13±1.52 ^c

注：数字肩上不同小写字母表示在 0.05 水平上存在显著差异($P<0.05$)。

2.2 大孔吸附动态吸附曲线

由图 1 可知,当流速分别为 32、25、18 BV/h 时,上样液体积分别在 80、140 和 180 mL,萝卜硫素开始少量泄露,随着上样液体积的增大,流出液中萝卜硫素的浓度呈上升趋势。这可能由于流速分别在 32、25、18 BV/h 时,上样液体积分别达到 240、280、340 mL 后,大孔树脂吸附萝卜硫素达到饱和,故随着上样体积的增加,流出液萝卜硫素的质量浓度趋于平缓。随着上样流速的增大,泄漏点对应的上样液体积逐渐减小,这源于大孔吸附对化学物质的吸附,本质为膜扩散与粒扩散,流速过快,其与树脂的接触时间愈短,扩散效果越差^[25-26]。因此选择上样流速应为 25 BV/h。根据泄露曲线,选择萝卜硫素开始泄露前的吸附量上样,确定上样体积为 140 mL。

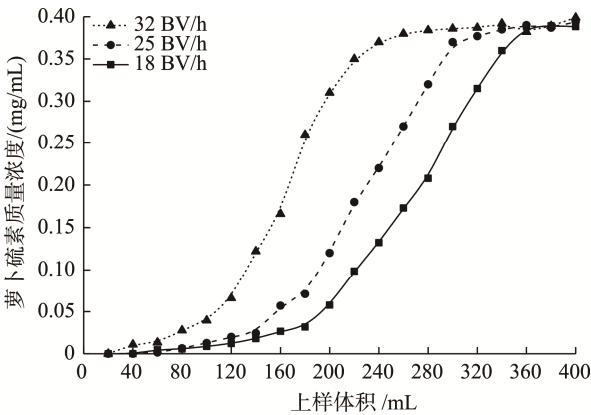


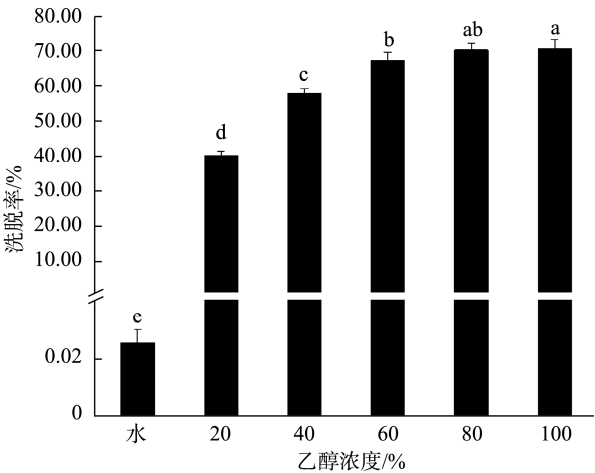
图 1 不同吸附流速下 XAD-2 树脂吸附萝卜硫素的动态吸附曲线
Fig.1 Dynamic adsorption curve of sulforaphane adsorbed by XAD-2 resin at different flow velocity

2.3 乙醇浓度对萝卜硫素洗脱效果的影响

乙醇易于从溶液中分离回收,成本低,对样品无毒性,是大孔树脂较好的解吸剂,其解吸原理是大孔吸附树脂的分子间作用力与溶剂中的溶解相互竞争^[27]。从图 2 可以看出,随着乙醇溶液浓度的增加,萝卜硫素的洗脱率增加,乙醇溶液浓度在 60%~100%,萝卜硫素洗脱率较高。但过高的乙醇浓度会导致较多杂质的洗脱,洗脱液逐渐浑浊,导致萝卜硫素纯度降低^[28],因此选用 60%乙醇作为萝卜硫素洗脱液。

2.4 洗脱流速对萝卜硫素洗脱效果的影响

由图 3 可知,当流速大于 32 BV/h 时,随着洗脱流速的增大,解吸率出现下降趋势,由于洗脱流速过快,洗脱液与萝卜硫素接触时间太短,解吸不充分。而在小于 32 BV/h 时解吸率变化不显著,确定最佳洗脱流速为 32 BV/h。



注：不同小写字母表示在 0.05 水平上存在显著差异($P<0.05$),下同。
图 2 乙醇浓度对萝卜硫素洗脱效果的影响
Fig.2 Effects of ethanol concentration on elution effects of sulforaphane

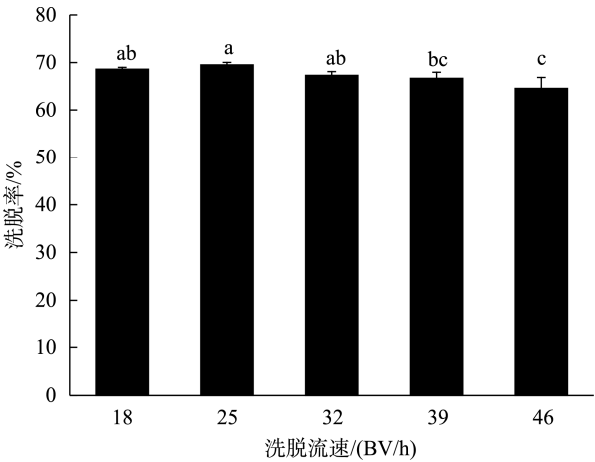


图 3 洗脱速度对萝卜硫素洗脱效果的影响
Fig.3 Effects of elution speed on elution effect of sulforaphane

2.5 动态洗脱曲线

从图4可以看出,洗脱曲线出峰快,峰形窄。消耗乙醇溶液体积为4 BV时萝卜硫素的浓度达到峰值。然后,随着洗脱的进行,萝卜硫素浓度快速下降,消耗乙醇溶液体积为16 BV时,萝卜硫素洗脱完全,因此,确定乙醇洗脱剂用量为16 BV,洗脱速率快,洗脱区域集中,有利于萝卜硫素富集。

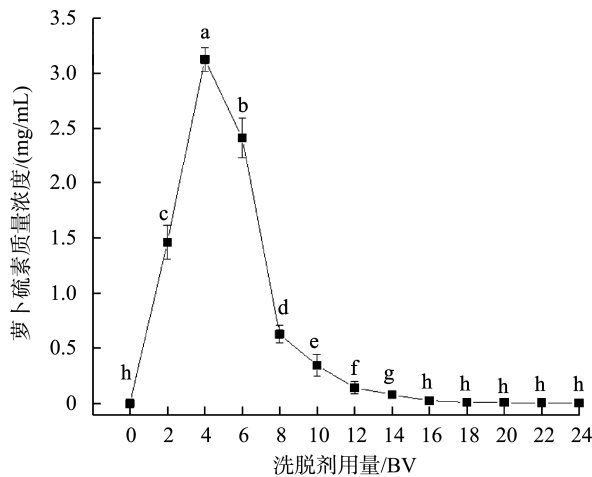


图4 60%乙醇对萝卜硫素的洗脱曲线
Fig.4 Elution curve of sulforaphane with 60% ethanol

2.6 热稳定性

实验结果表明,加热温度 50℃以下萝卜硫素稳定性几乎不受加热温度及时间的影响,保留率均在 95%以上,有较好的稳定性;随着加热温度的升高,萝卜硫素的降解加快,萝卜硫素在 20~80℃条件下加热 8 h 后,保留率由 99.61%下降至 47.84%(图5)。从图6的降解曲线可以看出,未纯化的萝卜硫素在 50℃加热 6 h 时即发生降解,而纯化后的萝卜硫素在 12 h 内萝卜硫素含量基本无变化。同样的加热温度时间下,未纯化的萝卜硫素降解率高于纯化后的萝卜硫素。在 80℃下加热 8 h 后,萝卜硫素在纯化物比粗提物保留率高了 4%,说明纯化后的萝卜硫素有较好的热稳定性,原因可能是温度升高时粗提物中的杂质促进了萝卜硫素的降解,温度越高,降解效果更加明显。WU 等^[29]研究发现 pH 为 6 时,在 60℃加热 6 h 后,萝卜硫素保留率为 67.9%,而 90℃下加热 6 h 后,萝卜硫素保留率仅为 6.0%。FRANKLIN 等^[30]研究发现,当 pH 为 4 时,在 4~47℃下,温度每升高 10℃,萝卜硫素的降解率提高了近 3.1 倍。这些研究表明随着温度的升高,萝卜硫素的降解速度加快,与本研究结果基本一致。

2.7 pH 稳定性

pH 对萝卜硫素稳定性的影响如图7所示。结果表明,萝卜硫素在较低的 pH 较为稳定, pH 在 6 以下时,反应 24 h 后仍保留了 99%以上的萝卜硫素。随着 pH 的升高和反应

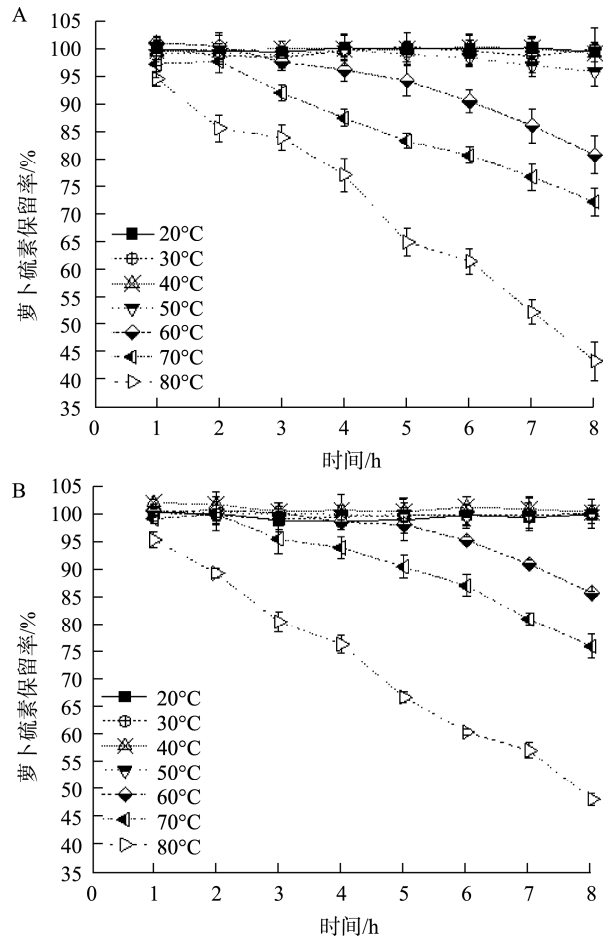


图5 加热温度对粗提物(A)和纯化萝卜硫素(B)保留率的影响
Fig.5 Effects of heating temperature on retention rate of crude extract (A) and purified sulforaphane (B)

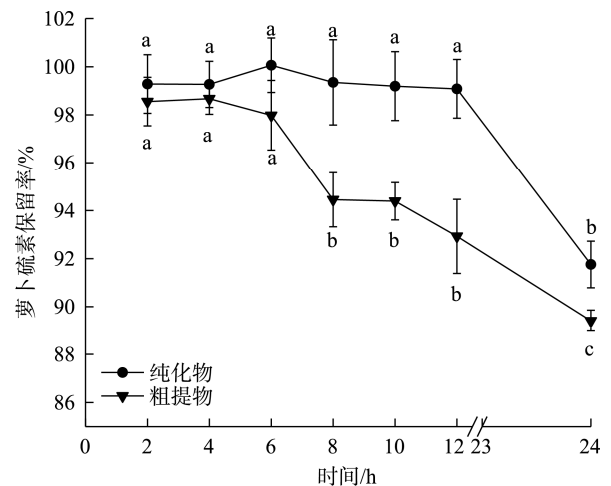


图6 50℃加热条件下对萝卜硫素保留率的影响
Fig.6 Effects of heating time on sulforaphane retention rate at 50℃

时间的延长,萝卜硫素随着时间延长发生降解,在中性及碱性环境中萝卜硫素降解显著,在 pH 8 的环境下贮藏 24 h 后时,萝卜硫素保留率为 90.60%,纯化前后的萝卜硫素分

别在 24 h 后降解了 8%~10%，表明萝卜硫素在酸性条件下比较稳定。WU 等^[29]的研究显示，60℃下加热条件下，pH 由 2.2 增加到 6.0 时，6 h 后萝卜硫素保留率由 95.1% 以上降低为 67.9%，这与本研究的结果趋势一致；WU 等^[31]也得到相似结果，萝卜硫素在碱性环境下降解严重。若以口服形式摄入萝卜硫素时，由于人体消化道内口腔 pH 在 6.6~7.1 左右，胃液为 0.9~1.8 左右，小肠液为 6.8，在咀嚼消化吸收过程均处于酸性及近中性环境，此时萝卜硫素稳定，不会因生理环境 pH 而产生明显降解。但在萝卜硫素的生产和运输贮存过程中，应注意维持外部环境的 pH。

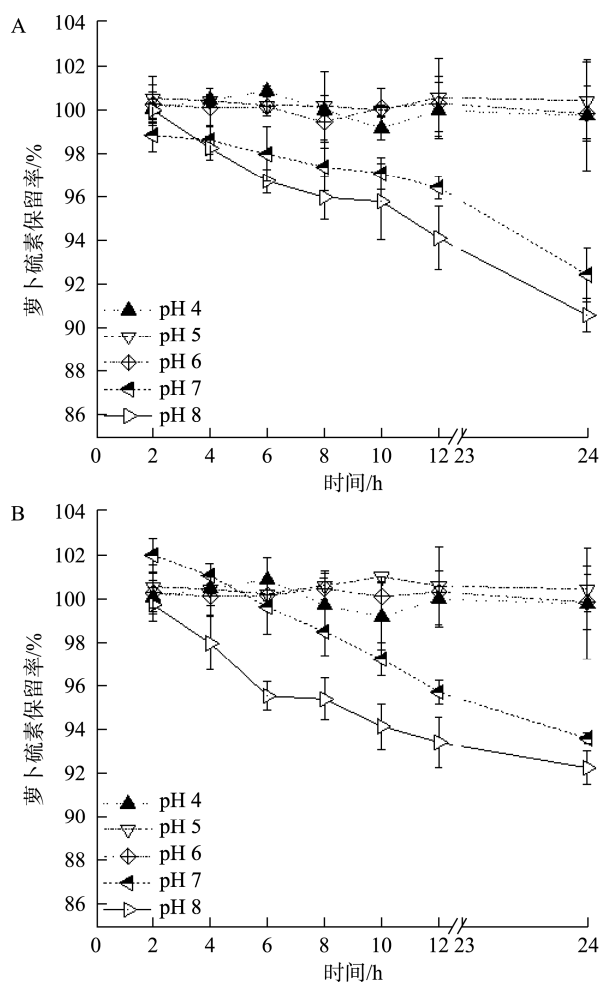


图7 37℃下不同 pH 对粗提物(A)和纯化萝卜硫素(B)保留量的影响
Fig.7 Effects of different pH on the retention rate of crude extract (A) and purified sulforaphane (B) at 37°C

2.8 光照稳定性

分子反应的活化能可以随光照而改变，光照会加速光敏性物质的分解^[32]。同在室温放置下，避光和光照下萝卜硫素降解趋势相同，避光放置分解稍缓，但两种条件下萝卜硫素的保留率没有明显区别(图 8)，因此萝卜硫素是一种光稳定性物质。

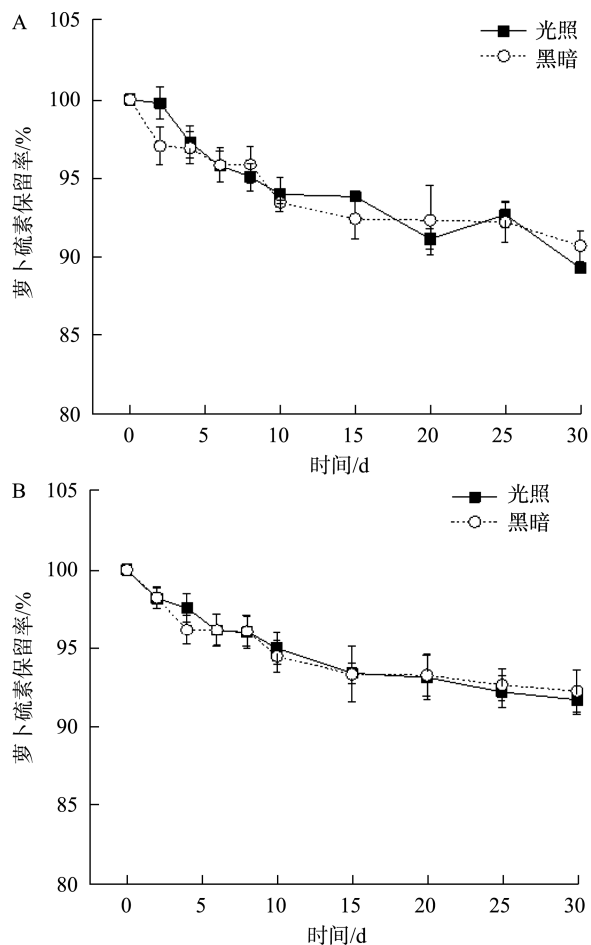


图8 光照对粗提物(A)和纯化萝卜硫素(B)萝卜硫素稳定性的影响
Fig.8 Effects of light on stability of crude extract (A) and purified sulforaphane (B)

2.9 贮藏稳定性

贮藏稳定性结果如图 9 所示，在 4℃和室温条件下 30 d 贮存中，萝卜硫素的分解速率是 4℃<(20±2)℃，且纯化后的降解速率相对较缓慢，长期贮藏温度为 20℃时，萝卜硫素保留率为 89.69%，贮藏温度为 4℃，纯化后的萝卜硫素贮藏 30 d 后保留率高达 96.81%，再次表明粗提物的杂质影响萝卜硫素的稳定性；因此长期保存建议应纯化后在 4℃以下低温保存。

3 结论

本研究成功地实现了用大孔吸附分离纯化西兰花种子萝卜硫素。实验结果表明 XAD-2 树脂对萝卜硫素的分离性能最好。静态吸附结果表明，XAD-2 树脂的静态吸附量为 69.75 mg/g 树脂，洗脱率高达 98.07%；动态吸附结果表明，最佳上样体积为 140 mL 上样流速为 25 BV/h 树脂动态吸附效果最好；动态洗脱曲线表明，使用 16 BV 60%乙醇溶液以 32 BV/h 的流速能快速将吸附的萝卜硫素洗脱，洗

脱效果最佳。萝卜硫素的纯度由 39.67% 提高到 85.66%, 且纯化后的萝卜硫素在 50℃ 以下, 酸性环境中较好的稳定性, 具有光稳定性, 长期贮藏应在 4℃ 低温保存。与传统的萝卜硫素分离方法相比, 该吸附方法操作简单、成本低、效率高, 可为从种子粗提物中大规模分离萝卜硫素提供参考。

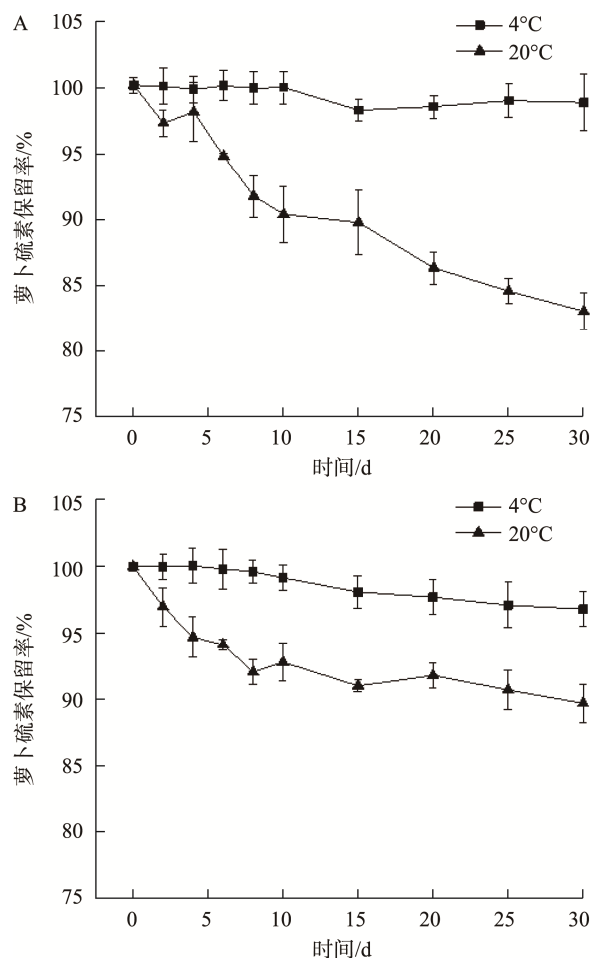


图9 贮藏温度对粗提物(A)和纯化萝卜硫素(B)稳定性的影响
Fig.9 Effects of storage temperature on stability of crude extract (A) and purified sulforaphane (B)

参考文献

- [1] WEST LG, MEYER KA, BALCH BA, *et al.* Glucoraphanin and 4-hydroxyglucobrassicin contents in seeds of 59 cultivars of broccoli, Raab, kohlrabi, radish, cauliflower, brussels sprouts, kale, and cabbage [J]. *J Agric Food Chem*, 2004, 52(4): 916–926.
- [2] KAISER AE, BANIASADI M, GIANIRACUSA D, *et al.* Sulforaphane: A broccoli bioactive phytochemical with cancer preventive potential [J]. *Cancers (Basel)*, 2021, 13(19): 4796.
- [3] BAYAT MR, BALUCH N, HOMAYOUNI TS, *et al.* The role of sulforaphane in cancer chemoprevention and health benefits: A mini-review [J]. *J Cell Commun Signal*, 2018, 12: 91–101.
- [4] 赵淞李, 李颖畅, 董高缘, 等. 萝卜硫素功能性及其机制研究进展

- [J/OL]. 食品与发酵工业: 1-7. [2023-02-14]. DOI: org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.032835
- ZHAO SM, LI YC, DONG GY, *et al.* Research progress on the function and mechanism of sulforaphane [J/OL]. *Food Ferment Ind*: 1-7. [2023-02-14]. DOI: org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.032835
- [5] PATEL B, MANN GE, CHAPPLE SJ. Concerted redox modulation by sulforaphane alleviates diabetes and cardiometabolic syndrome [J]. *Free Radical Bio Med*, 2018, 122: 150–160.
- [6] AKIHIRO S, NOBUHISA K, TSUYOSHI S, *et al.* An open study of sulforaphane-rich broccoli sprout extract in patients with schizophrenia [J]. *Clin Psychopharm Neu*, 2015, 13(1): 62–67.
- [7] NADEEM A, AHMAD SF, AL-HARBI NO, *et al.* Nrf2 activator, sulforaphane ameliorates autism-like symptoms through suppression of Th17 related signaling and rectification of oxidant-antioxidant imbalance in periphery and brain of BTBR T+tf/J mice [J]. *Behav Brain Res*, 2019, 364: 213–224.
- [8] BOUSQUET J, LE MV, BLAIN H, *et al.* Efficacy of broccoli and glucoraphanin in COVID-19: From hypothesis to proof-of-concept with three experimental clinical cases [J]. *World Allergy Organ*, 2020, 14: 100498.
- [9] ORDONEZ AA, BULLEN CK, VILLABONA-RUEDA AF, *et al.* Sulforaphane exhibits antiviral activity against pandemic SARS-CoV-2 and seasonal HCoV-OC43 coronaviruses in vitro and in mice [J]. *Commun Biol*, 2022, 5: 242.
- [10] MATUSHESKI NV, WALLIG MA, JUVIK JA, *et al.* Preparative HPLC method for the purification of sulforaphane and sulforaphane nitrile from *Brassica oleracea* [J]. *J Agric Food Chem*, 2001, 49(4): 1867–1872.
- [11] LIANG H, LI C, YUAN Q, *et al.* Application of high-speed countercurrent chromatography for the isolation of sulforaphane from broccoli seed meal [J]. *J Agric Food Chem*, 2008, 56(17): 7746–7749.
- [12] HAFEZIAN SM, AZIZI SN, BIPARVA P, *et al.* High-efficiency purification of sulforaphane from the broccoli extract by nanostructured SBA-15 silica using solid-phase extraction method [J]. *J Chromatogr B*, 2019, 1108: 1–10.
- [13] LIANG H, YUAN Q, XIAO Q. Purification of sulforaphane from *Brassica oleracea* seed meal using low-pressure column chromatography [J]. *J Chromatogr B*, 2005, 828: 91–96.
- [14] GARCIA-SALDANA JS, CAMPAS-BAYPOLI ON, LOPEZ-CERVANTES J, *et al.* Separation and purification of sulforaphane (1-isothiocyanato-4-(methylsulfinyl) butane) from broccoli seeds by consecutive steps of adsorption-desorption-bleaching [J]. *J Food Eng*, 2016, 201: 94–100.
- [15] 曹艳, 金佳秀, 巩卫琪, 等. 大孔树脂法纯化覆盆子中黄酮化合物[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(7): 2137–2143.
- CAO Y, JIN JX, GONG WQ, *et al.* Purification of flavonoids from *Rubus chingii* Hu extraction by macroporous resin [J]. *J Food Saf Qual*, 2022, 13(7): 2137–2143.
- [16] 郭慧玲, 罗江南, 胡律江, 等. D101 大孔树脂纯化山银花总皂苷的工艺研究[J]. 江西中医药大学学报, 2022, 34(5): 4.
- GUO HL, LUO JN, HU LJ, *et al.* Study on purification of total saponins

- from *Lonicera japonica* Thunb with D101 macroporous resin [J]. *J Jiangxi Univ Clin Med*, 2022, 34(5): 4.
- [17] 沈欣怡, 姚宏亮, 唐艳. 马兰头总黄酮的大孔树脂纯化工艺优化[J]. *食品安全质量检测学报*, 2020, 11(10): 3105–3111.
- SHEN XY, YAO HL, TANG Y. Optimization of purification process of total flavonoids from *Kalimeris* by macroporous resin [J]. *J Food Saf Qual*, 2020, 11(10): 3105–3111.
- [18] 孟令志, 王佳慧, 王甄洁, 等. 余甘子多酚纯化工艺研究及组分分析[J]. *食品研究与开发*, 2022, 43(21): 147–153.
- MENG LZ, WANG JH, WANG ZJ, *et al*. Study on purification technology and component analysis of polyphenols from *Phyllanthus embellifolia* [J]. *Food Res Dev*, 2022, 43(21): 147–153.
- [19] XI L, MU T, SUN H. Preparative purification of polyphenols from sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) leaves by AB-8 macroporous resins [J]. *Food Chem*, 2015, 172: 166–174.
- [20] REN J, LIAO L, SHANG S, *et al*. Purification, characterization, and bioactivities of polyphenols from *Platyclusorientalis* (L.) franco [J]. *J Food Sci*, 2019, 84(3): 667–677.
- [21] 古静燕, 李新胜, 马超, 等. 大孔吸附树脂去除金针菇粗多糖中蛋白的研究[J]. *食品工业*, 2016, 37(3): 51–53.
- GU JY, LI XS, MA C, *et al*. Deproteinization from *Flammulina velutipes* polysaccharide extraction by macroporous adsorption resin [J]. *Food Ind*, 2016, 37(2): 51–53.
- [22] LIU Y, ZHANG D, LI X, *et al*. Enhancement of ultrasound-assisted extraction of sulforaphane from broccoli seeds via the application of microwave pretreatment [J]. *Ultrason Sonochem*, 2022, 87: 106061.
- [23] WANG X, WANG S, HUANG S, *et al*. Purification of polyphenols from distiller's grains by macroporous resin and analysis of the polyphenolic components [J]. *Molecules*, 2019, 24(7): 1284.
- [24] ZHUANG M, ZHAO M, LIN L, *et al*. Macroporous resin purification of peptides with umami taste from soy sauce [J]. *Food Chem*, 2016, 190: 338–344.
- [25] 冯靖, 彭效明, 李翠清, 等. 大孔树脂纯化银杏叶中总黄酮的工艺研究[J]. *应用化工*, 2019, 48(10): 2340–2349.
- FENG J, PENG XM, LI CQ, *et al*. Purification of total flavonoids from ginkgoleaves by macroporous resin [J]. *Appl Chem Ind*, 2019, 48(10): 2340–2349.
- [26] 马景蕃, 谢晓倩, 杨昊坤, 等. 大孔树脂纯化白背天葵多酚及其体外抗氧化研究[J]. *热带作物学报*, 2021, 42(2): 575–582.
- MA JF, XIE XQ, YANG HK, *et al*. Purification of *Gynura formosana* Kitam polyphenols by macroporous resin and its antioxidant activity *in vitro* [J]. *Chin J Trop Crops*, 2021, 42(2): 575–582.
- [27] CHANG XL, WANG D, CHEN BY, *et al*. Adsorption and desorption properties of macroporous resins for anthocyanins from the calyx extract of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) [J]. *J Agric Food Chem*, 2012, 60: 2368–2376.
- [28] 袁欢, 彭莉莎, 孙梦瑶, 等. 大孔树脂对二角菱壳多酚的吸附及解吸性能研究[J]. *食品与机械*, 2021, 37(4): 47–52.
- YUAN H, PENG LS, SUN MY, *et al*. Study on absorption and desorption properties of microporous resin for pericarps of *Trapabis pinosa* Roxb [J]. *Food Mach*, 2021, 37(4): 47–52.
- [29] WU Y, MAO J, YOU Y, *et al*. Study on degradation kinetics of sulforaphane in broccoli extract [J]. *Food Chem*, 2014, 155: 235–239.
- [30] FRANKLIN SJ, DICKINSON SE, KARLAGE KL, *et al*. Stability of sulforaphane for topical formulation [J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 2014, 40: 494–502.
- [31] WU H, LIANG H, YUAN Q, *et al*. Preparation and stability investigation of the inclusion complex of sulforaphane with hydroxypropyl- β -cyclodextrin [J]. *Carbohydr Poly*, 2010, 82: 613–617.
- [32] 肖倩, 梁浩, 袁其朋. 温度、pH 和光照对莱菔硫烷水溶液稳定性的影响[J]. *中国药学杂志*, 2007, 42(3): 193–196.
- XIAO Q, LIANG H, YUAN QP. Effect of temperature, pH and light on the stability of sulforaphane solution [J]. *Chin Pharm J*, 2007, 42(3): 193–196.

(责任编辑: 黄周梅 于梦娇)

作者简介

李奉钢, 主要研究方向为食品质量与安全。
E-mail: 1559530505@qq.com

郭丽萍, 教授, 主要研究方向为食品营养与检测、功能性成分富集机理及功能评价。
E-mail: happyglp@126.com