

高效液相色谱-串联质谱法测定保健食品中的番茄红素

陈冬东^{1,2}, 郗存显³, 彭涛², 王俊苏³, 张雷³, 李贤良³, 李应国³,
唐英章², 侯士聪¹, 王国民^{3,*}

(1. 中国农业大学理学院, 北京 100193; 2. 中国检验检疫科学研究院, 北京 100123;
3. 重庆出入境检验检疫局, 重庆市进出口食品安全工程技术研究中心, 重庆 400020)

摘要: 建立保健食品中番茄红素的液相色谱-串联质谱测定方法。样品经氢氧化钾溶液乙醇皂化, 去除脂肪后用质量浓度为1g/100mL的2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚(BHT)石油醚溶液提取, 提取液经中性氧化铝固相萃取柱净化, 采用液相色谱-质谱联用技术-大气压化学电离源多反应监测模式检测, 外标法定量。方法的检出限和定量限分别为10 μ g/kg和100 μ g/kg, 在50~5000 μ g/kg添加水平范围内, 平均回收率为88.0%~103.1%, 相对标准偏差低于15%。本方法灵敏, 为保健食品中番茄红素的定量检测和确证提供了新的手段。

关键词: 番茄红素; 保健食品; 测定; 液相色谱-串联质谱法

Determination of Lycopene in Dietary Supplements by High Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

CHEN Dong-dong^{1,2}, XI Cun-xian³, PENG Tao², WANG Jun-su³, ZHANG Lei³, LI Xian-liang³, LI Ying-guo³,
TANG Ying-zhang², HOU Shi-cong¹, WANG Guo-min^{3,*}

(1. College of Science, China Agricultural University, Beijing 100193, China; 2. Chinese Academy of Inspection & Quarantine, Beijing 100123, China; 3. Chongqing Import and Export Food Safety Engineering Technology Research Center, Chongqing Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Chongqing 400020, China)

Abstract: A comprehensive analytical method based on liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) was developed for the determination of lycopene in dietary supplements. Samples were saponified to remove lipid, followed by vortex-assisted extraction with petroleum ether containing 1 g/100 mL 2,6-di-tert-butyl-4-methylphenol (BHT). The resulting extract was further cleaned up on a neutral alumina solid-phase extraction cartridge. The pooled eluate was determined on LC-MS/MS by atmospheric pressure chemical ionization coupled with a multiple reaction-monitoring (MRM) mode. Lycopene was quantified by external standard method. The limit of detection (LOD) was 10 μ g/kg, and the limit of quantification (LOQ) was 100 μ g/kg. The average recovery rates of lycopene across six spike levels, 50.0, 100.0, 250.0, 500.0, 2500.0 μ g/kg and 5000.0 μ g/kg were 88.0%–103.1% with a relative standard deviation less than 15% ($n=6$). This method is sensitive and provides a new approach for the quantitative analysis and validation of lycopene in dietary supplements.

Key words: lycopene; dietary supplements; determination; liquid chromatography-tandem mass spectrometry

中图分类号: TS207.3; TS218

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)20-0206-06

番茄红素(lycopene)又称 ψ -胡萝卜素, 是类胡萝卜素的—种, 其分子结构中有11个共轭双键和2个非共轭双键, 抗氧化能力为 β -胡萝卜素的2倍多, 是VE的100倍^[1], 为目前最好的抗氧化剂和自由基猝灭剂。国内外研究表明, 番

茄红素具有抗氧化和抑制基因突变、有效预防和抑制肿瘤、保护心血管、增强免疫力和抗老化等多种功能, 因此, 近年来国内外市场推出了很多以番茄红素为功效成分的保健食品, 但是这些保健食品的质量良莠不齐, 影

收稿日期: 2011-08-10

基金项目: “十一五”国家科技支撑计划项目(2006BAD27B02); 国家质检总局科研项目(2007IK188); 重庆市科委科研项目(CSTC2009CB1012)

作者简介: 陈冬东(1975—), 女, 副研究员, 硕士, 主要从事有机化学研究。E-mail: cdd2240@126.com

*通信作者: 王国民(1965—), 男, 研究员, 博士, 主要从事食品安全与分析研究。E-mail: chqwqm@163.com

响了其保健功效。为此,迫切需要建立保健食品中番茄红素的灵敏可靠测定方法。

目前,番茄红素的测定方法主要有紫外-可见分光光度法^[2]、薄层色谱法^[3]、液相色谱法^[4-10]和液相色谱-质谱法^[11-15]。紫外-可见分光光度法选择性差,检测结果易受其他色素的影响;薄层色谱法操作过程复杂,分析时间长,定量能力差;液相色谱法分离效果好,样品用量少,但在定性分析时缺乏结构信息,对复杂未知物定性困难。液相色谱-质谱联用技术(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)具有很强的结构鉴定能力,可对目标化合物进行定性和定量,是分析复杂化合物的有效手段,目前已用于血清和番茄酱等样品中番茄红素的测定^[14-15]。血清和番茄酱样品基质简单,样品经简单处理后可直接测定,而番茄红素胶囊等保健食品中含有明胶、VE、抗氧化剂和植物油等多种成分,基质非常复杂,增大了样品提取和净化的难度,目前还未见保健食品中番茄红素的LC-MS/MS测定方法报道。

本实验采用液相色谱-串联质谱大气压化学电离源多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)模式测定保健食品中的番茄红素,可提供特征的母离子及子离子信息,为保健食品中番茄红素的定性与定量分析提供了可靠依据,具有定性定量可靠、灵敏度高等优点。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

8种番茄红素胶囊产品 市售。

中性氧化铝(75~150 μ m) 国药集团化学试剂公司; 105℃干燥2h,于干燥器中冷至室温,每100g中加入2mL水灭活,混匀后密封,放置12h后使用;中性氧化铝固相萃取柱:在固相萃取柱管底部塞入一薄层脱脂棉,干法装入处理后的中性氧化铝至3cm高,轻敲实后加一薄层脱脂棉,用10mL石油醚预淋洗后,备用;石油醚、二氯甲烷、叔丁基甲醚、乙腈(均为HPLC级) 美国Tedia公司; 2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚(BHT)(优级纯) 美国Sigma公司; 无水乙醇、氢氧化钾(分析纯) 重庆川东化学试剂厂; 番茄红素标准品(纯度 $\geq$ 99%) 美国ChromaDex公司; 番茄红素标准储备液用含1g/100mL BHT的二氯甲烷配制,置于-18℃冰箱避光保存; 番茄红素标准工作液:用含1g/100mL BHT的二氯甲烷将标准储备液稀释成10.0、50.0、100.0、1000.0、5000.0 μ g/L和10000.0 μ g/L的标准工作溶液,置于0~4℃冰箱中避光保存。水为超纯水。

1.2 仪器与设备

LC-20A型液相色谱仪 日本Shimadzu公司; API4000型串联质谱仪(配大气压化学电离源) 美国

AB公司; Laborota 4011 Digital型旋转蒸发仪 德国Heidolph公司; Z323K型离心机 德国Hermle公司; XH-B型旋涡混匀器 江苏康健医疗用品有限公司; AS10200B型超声清洗器 天津奥特赛恩斯仪器有限公司; N-EAVP型氮吹仪 美国Organomation公司。

1.3 方法

1.3.1 样品处理

1.3.1.1 提取

称取0.5g样品(精确至0.01g)于50mL离心管中,加入5mL无水乙醇和3mL KOH溶液(50g/100mL)后,旋涡混匀2min,超声10min,置于80℃水浴锅中皂化2h,每10min振摇1次。冷却至室温后加入1g/100mL BHT石油醚10mL,振荡提取5min,以5000r/min离心3min,将上清液转移至旋蒸瓶中,再用1g/100mL BHT石油醚10mL提取2次,合并提取液,40℃条件下旋蒸浓缩近干,用1g/100mL BHT石油醚10mL溶解残渣,待净化。

1.3.1.2 净化

将待净化液加入预处理好的中性氧化铝固相萃取柱中,用10mL石油醚淋洗,抽空后用10mL含1g/100mL BHT的二氯甲烷洗脱,收集洗脱液,于40℃条件下氮气吹干,残渣用1g/100mL BHT的乙腈-石油醚(10:90, V/V)1.0mL溶解,过0.22 μ m微孔滤膜后进行LC-MS/MS测定。

1.3.2 仪器条件

1.3.2.1 色谱条件

Waters Xetrra MS C₁₈色谱柱(150mm $\times$ 4.6mm, 3.5 μ m); 流动相: 甲醇-叔丁基甲醚(50:50, V/V); 流速: 0.2mL/min; 柱温: 40℃; 进样量: 30 μ L。

1.3.2.2 质谱条件

气帘气压力(CUR): 30.0psi; 雾化气压力(GS1): 80.0psi; 放电电流(NC): 5.0 μ A; 去溶剂温度(TEM): 380.0℃; 碰撞气压力(CAD): 9.0psi; 去簇电压(DP): 94.0V; 碰撞室入口电压(EP): 12.0V; 离子源: 大气压化学源(APCI); 扫描方式: 正离子, MRM模式。

监测离子对、驻留时间、碰撞气能量、碰撞室出口电压等参数见表1。

表1 监测离子对、驻留时间、碰撞气能量、碰撞室出口电压等参数
Table 1 Transition pairs, dwell time, collision energy and collision cell exit potential for LC-MS/MS analysis of lycopene

化合物	监测离子对(m/z)	驻留时间/ms	碰撞气能量/V	碰撞室出口电压/V
番茄红素	537.8>467.6	400	26	36
	537.8>455.4*	400	29	13
	537.8>413.6	400	32	34

注: *. 定量离子对。

2 结果与分析

2.1 样品前处理条件的优化

Fang Liqiong等^[14]采用LC-MS/MS法测定血清中的番茄红素和 α 、 β -胡萝卜素时,其分析步骤比较简单,样品经乙醇溶解后,用正己烷提取,浓缩后用流动相溶解进行测定。张军等^[15]采用LC-MS/MS法测定番茄酱中的番茄红素时也用乙醇溶解样品,乙酸乙酯提取后进行测定。研究发现采用乙醇溶解番茄红素保健品,然后分别用乙酸乙酯和正己烷提取,未经净化直接进行LC-MS/MS分析,存在较强的基质效应,且易造成色谱柱和锥孔的堵塞,还会对质谱仪造成很大的污染和损害。为此,本实验考察样品的提取和净化条件,优选定容溶剂。

2.1.1 提取条件的优化

表2 KOH溶液体积对皂化效果的影响
Table 2 Effect of KOH solution volume on saponification

序号	KOH溶液 体积/mL	乙醇体 积/mL	皂化 时间/h	脂溶性杂质 残留量/%	中性氧化铝柱 上的保留情况
1	0.5	10.0	2	85	不保留
2	1.0	10.0	2	75	不保留
3	1.5	10.0	2	70	不保留
4	2.0	10.0	2	50	40%保留
5	2.5	10.0	2	50	60%保留
6	3.0	10.0	2	20	100%保留
7	3.5	10.0	2	20	100%保留

表3 乙醇用量对皂化效果的影响
Table 3 Effect of ethanol volume on saponification

序号	KOH溶液 体积/mL	乙醇体 积/mL	皂化时 间/h	脂溶性杂质 残留量/%	中性氧化铝柱 上的保留情况
1	3.0	2.0	2	85	不保留
2	3.0	3.0	2	70	不保留
3	3.0	4.0	2	50	70%保留
4	3.0	5.0	2	20	100%保留
5	3.0	6.0	2	20	100%保留
6	3.0	7.0	2	20	100%保留
7	3.0	8.0	2	20	100%保留

GB/T 22249—2008《保健食品中番茄红素的测定》直接用 N,N -二甲基甲酰胺提取保健食品中的番茄红素,张丽薇等^[16]对保健食品先用水溶解破囊,再用有机溶剂提取。由于番茄红素保健食品中通常添加了植物油、明胶、VE和甘油等物质,这些物质大多能溶于乙醇和乙酸乙酯等有机溶剂,在提取番茄红素的同时它们会被提取,且实验发现这些物质既会降低质谱信号强度、污染离子源,还严重影响番茄红素在中性氧化铝固相萃取柱上的保留。根据报道^[17],番茄红素在100℃以下和碱性条件下都具有较好的稳定性。因此,本实验采用皂化方

法去除番茄红素保健食品中的脂溶性物质,根据残留脂溶性杂质的量和番茄红素在中性氧化铝柱上的保留行为来优化皂化条件(乙醇和50g/100mL KOH溶液的用量),获得的结果见表2、3。结果表明:用5mL无水乙醇与3mL KOH溶液的混合溶液作为皂化剂,80℃条件下皂化2h,既能有效地去除大部分脂溶性杂质,也能使含番茄红素的微胶囊进一步破膜,更有利于番茄红素的提取与净化。

对于提取溶剂,尽管Roldán-gutiérrez等^[18]综述报道二氯甲烷、乙酸乙酯、石油醚、乙醚、苯和不同比例的丙酮-氯仿、正己烷-丙酮-乙醇混合溶剂均能提取番茄红素,但其主要针对蔬菜、水果等样品基质。本方法针对保健食品中番茄红素的测定,研究考察石油醚、丙酮、乙酸乙酯和石油醚-丙酮等不同溶剂的提取效率。结果表明,石油醚对经过皂化后的保健食品中的番茄红素有很好的提取效率。由于番茄红素容易被氧化,通常在提取过程中需要加入抗氧化剂对其保护。Xu^[8]和Froescheis^[9]等研究发现提取液中加入1g/100mL BHT能很好地防止番茄红素在提取旋蒸过程中的氧化分解,因此本方法采用含1g/100mL BHT的石油醚来提取保健食品中的番茄红素。

2.1.2 净化条件的优化

Tzouganaki等^[15]采用了液-液提取和固-液提取两种方法测定血浆样品中的番茄红素,固-液提取采用 C_{18} 固相萃取柱,发现用 C_{18} 固相萃取柱净化的回收率为 $(60.3 \pm 5.9)\%$,明显低于液-液提取净化的回收率 $(95.0 \pm 6.4)\%$,但 C_{18} 固相萃取柱的检出限和定量限均比液-液提取法低3倍,其主要是 C_{18} 固相萃取柱能很好的减少其他杂质的干扰,从而提高了方法的检出限和定量限。而番茄红素保健食品的组成更为复杂,仅仅经过皂化处理不作进一步净化还是存在很大的干扰。因此,实验考察了皂化后的提取液采用 C_{18} 、HLB、MCX、SCX、HR-X、中性氧化铝等固相萃取柱对番茄红素的净化情况。结果表明:中性氧化铝固相萃取柱对番茄红素有较强的吸附作用,能起到较好的净化效果,并且可以加大柱容量来保证含量较高的番茄红素样品的净化。实验结果表明:当样品中番茄红素大于30mg/kg时,500mg填料的商品化中性氧化铝萃取柱不能完全吸附番茄红素,导致回收率小于70%。因此,本方法采用自己装填中性氧化铝柱,可以加大净化材料的量,使番茄红素在柱上有很好的保留,并对上样和洗脱条件进行了优化。

2.1.3 定容溶剂的选择

研究发现,定容溶剂对番茄红素的响应强度及峰形有较大影响。因此,考察二氯甲烷、乙酸乙酯、二氯甲烷-乙腈和叔丁基甲醚-乙腈作为定容溶剂的影响。结果表明,以叔丁基甲醚-乙腈作为定容溶剂时,目标化合物峰型较好,且随着乙腈的比例的增加,目标化合物的峰宽

变窄(图1)。因此,本研究用含0.1g/100mL的BHT的叔丁基甲醚-乙腈溶液(10:90, *V/V*)定容。

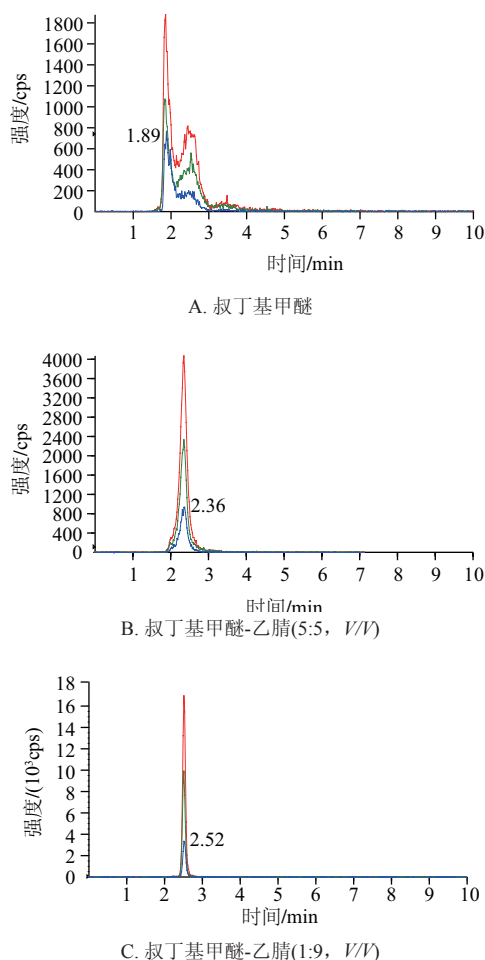


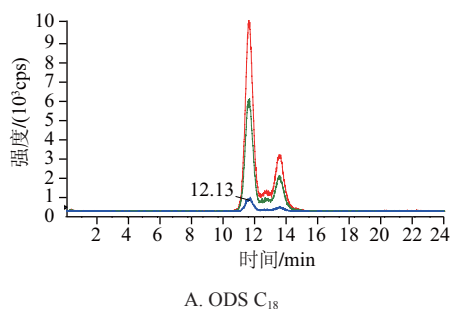
图1 定容溶剂的选择

Fig.1 Selection of optimal solvent type used for making up to the final volume

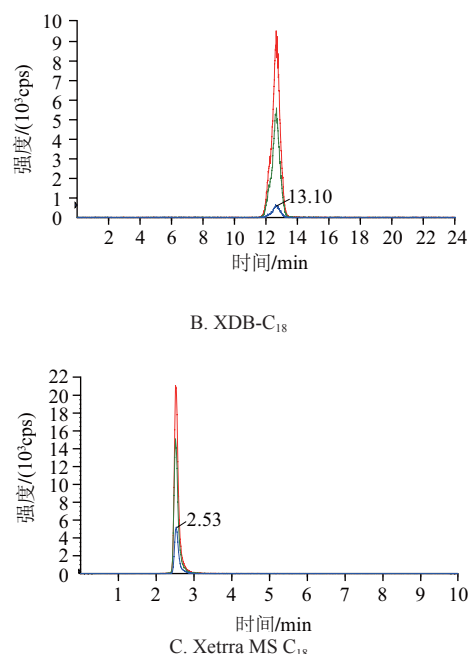
2.2 测定条件的优化

2.2.1 液相色谱条件的优化

研究中对Shimadzu VP-ODS C_{18} (150mm×4.6mm, 5.0 μ m)、Agilent ZORBAX Eclipse XDB- C_{18} (150mm×4.6mm, 3.5 μ m)和Waters Xettra MS C_{18} (4.6mm×150mm, 3.5 μ m)3种反相色谱柱进行实验。结果表明:采用Waters Xettra MS C_{18} 柱时,目标分析物的峰型较好,响应值较高(图2)。



A. ODS C_{18}



B. XDB- C_{18}

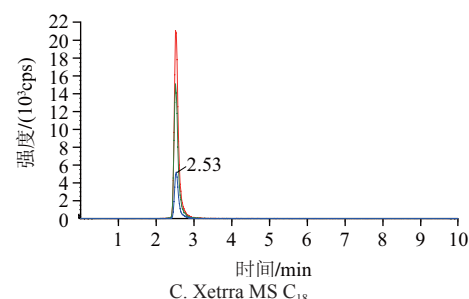


图2 色谱分离柱的选择

Fig.2 Selection of optimal chromatographic separation column

Jaroslav等^[10]报道在流动相中加入一定量的叔丁基甲醚能很好的洗脱化合物,也能改善峰型。本研究考察不同比例的叔丁基甲醚-乙腈、叔丁基甲醚-甲醇,结果发现采用叔丁基甲醚-甲醇(50:50, *V/V*)作流动相时峰型较好,且响应值较高,标准品的MRM图如图2C所示,番茄红素的保留时间约为2.5min。

2.2.2 质谱条件的优化

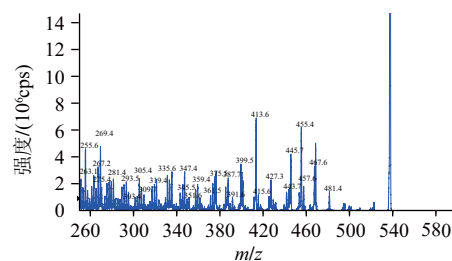


图3 番茄红素的二级质谱图

Fig.3 MS/MS spectrum of lycopene

番茄红素没有极性基团,采用ESI时没有响应信号。根据文献报道,APCI源可用于番茄红素的测定。Fang Liqiong等^[14]采用Micromass Quattro II型串联质谱在APCI⁻模式下测定番茄红素时,只出现一个碎片离子 m/z 467,张军等^[15]采用Agilent 6410型串联质谱仪在APCI⁺模式下发现3个稳定的碎片离子: m/z 109、 m/z 413和 m/z 455。本研究采用API4000型串联质谱对番茄红素进行分析,结果表明APCI⁺、APCI模式下均有较强响应信号,APCI⁺模式下的响应更强,所以选用APCI⁺模式。经过调谐和条件优化,在APCI⁺模式下,番茄红素出现 m/z 467.6、 m/z 455.4和 m/z 413.6碎片离子(图3),根据番茄红素的二级质

表 4 番茄红素的回收率和精密度实验数据(n=6)
Table 4 Spiked recovery rates and relative standard deviation (RSD) of lycopene (n=6)

被测样品	添加水平/(μg/kg)		测定值/(μg/kg)					平均回收率/%	RSD/%
不含番茄红素样品	50.0	55.1	40.3	60.2	54.2	45.6	52.4	102.6	14.0
	100.0	100.4	85.9	114.0	115.7	97.0	107.2	102.3	9.9
	250.0	218.3	230.1	260.4	274.3	225.9	224.6	95.6	9.5
	500.0	461.5	481.8	470.0	420.7	397.2	408.1	88.0	8.1
	2500.0	2450.0	2713.0	2610.0	2130.0	2341.0	2564.0	98.7	8.5
	5000.0	5410.0	4760.0	4840.0	4910.0	5340.0	5670.0	103.1	7.2

谱图和大气压化学源电离特点,推测了番茄红素可能的裂解途径见图4所示。根据在最优条件下MRM图中各监测离子对的响应情况,本研究选择响应最高的 m/z 537.8>455.4为定量离子对, m/z 537.8>467.6和 m/z 537.8>413.6为定性离子对。

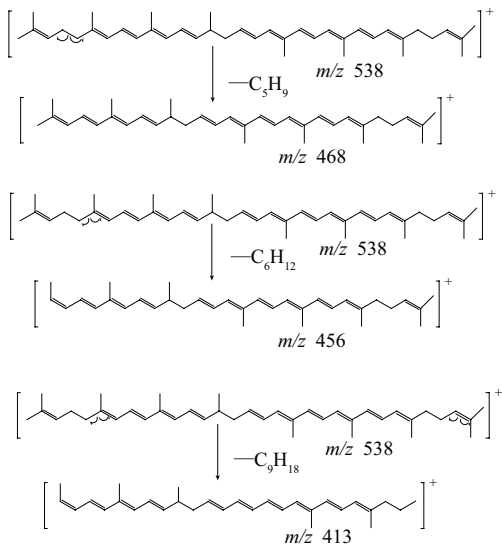


图 4 番茄红素可能的裂解方式
Fig.4 Probable fragmentation pathway of lycopene

2.3 基质效应

尽管有文献报道,在HPLC-MS/MS的测定中,APCI源受基质影响比ESI源小^[19-20],而由于分析物与非挥发性杂质的相互作用还是会产生一定的信号增强或抑制。本研究发现,采用APCI源测定保健食品中的番茄红素时有较强信号抑制的基质效应,按照Matuszewski等^[21]建立的数学模型评定基质效应的影响,采用提取后添加法:比较2个不同条件下的信号峰面积平均值,其中 S_1 为标准品溶液的色谱峰面积, S_2 为样品基质提取净化后添加标准溶液的色谱峰面积,绝对基质效应(ME)/%= $S_2/S_1 \times 100$ 。当ME为100%时,表明没有绝对基质效应;当ME大于100%时,表明有信号增强;当ME小于100%时,表明有信号抑制。本实验测定番茄红素时的ME为40%,存在较强的基质效应,故采用基质匹配标准溶液绘制标准曲线来减小基质效应对定量结果的影响。

2.4 方法评价

2.4.1 线性范围和检测低限

分别配制系列标准工作溶液,在选定的色谱和质谱条件下进行测定。结果表明番茄红素在0.010~10mg/L质量浓度范围呈良好的线性关系,线性方程为 $y=189x-1.98 \times 10^3$ ($n=6$),相关系数(r)为1.0000。番茄红素的检出限(limit of detection, LOD, $R_{SN} \geq 3$)为10μg/kg,采用不含番茄红素的空白样品进行回收实验获得保健品中番茄红素的定量限(limit of quantity, LOQ, $R_{SN} \geq 10$)为100μg/kg。

2.4.2 添加回收率实验

在不含番茄红素的样品中添加6个浓度水平的标准溶液,每个浓度水平按照本方法分析6次,番茄红素的平均回收率为88.0%~103.1%,精密度均小于15%,具体结果见表4。

2.5 实际样品的测定

表 5 市售番茄红素保健品中番茄红素的测定结果
Table 5 Lycopene contents in commercial lycopene capsules determined by this method

样品编号	1	2	3	4	5	6	7	8
测定含量/(mg/g)	64.6	ND	0.064	ND	ND	0.119	0.012	0.109

注:ND.未检出。

应用本研究建立的方法对市售8种番茄红素胶囊产品中番茄红素含量进行了测定,结果见表5。通过对市售样品的测定发现,样品2、4、5中根本不含番茄红素,测定结果表明市场上番茄红素保健食品的质量参差不齐,为了保护广大消费者的利益,对番茄红素保健品的功效成分的监测显得十分重要。本研究为番茄红素保健品市场监测及验证提供了可靠的方法。

3 结论

本实验采用皂化和中性氧化铝净化的方法净化样品,能够有效去除番茄红素保健品中的油脂及其他杂质的干扰,建立了保健食品中番茄红素的液相色谱-串联质谱测定方法,该方法简便、快捷、灵敏,适用于保健食品中番茄红素的确证分析检测。

参考文献:

- [1] 杨万政, 常华, 杜晓鸣, 等. 番茄红素的稳定性研究[J]. 内蒙古医学院学报, 2009, 31(3): 176-180.
- [2] LIME B J, GRIFFITHS F P, O'CONNOR R T, et al. Grapefruit pigment determination, spectrophotometric methods for determining pigmentation- β -carotene and lycopene-in ruby red grapefruit[J]. J Agric Food Chem, 1957, 5(12): 941-944.
- [3] JOHJIMA T, OGUAR H. Analysis of tomato cavotenoids by thin-layer chromatography and a *cis*-form γ -carotene newly identified in tangerine tomato[J]. J Japan Soc Hort Sci, 1983, 52(2): 200-209.
- [4] OLIVES B A I, CÁMARA H M, SÁNCHEZ M M C, et al. Application of a UV-vis detection-HPLC method for a rapid determination of lycopene and β -carotene in vegetables[J]. Food Chem, 2006, 95(2): 328-336.
- [5] TZOUGANAKI Z D, ATTA-POLITOU J, KOUPPARIS M A. Development and validation of liquid chromatographic method for the determination of lycopene in plasma[J]. Anal Chim Acta, 2002, 467(1/2): 115-123.
- [6] KENNETH W M, NANCY A L, CHUNG S Y. Simultaneous determination of plasma retinol, α -tocopherol, lycopene, α -carotene, and β -carotene by high-performance liquid chromatography[J]. Anal Biochem, 1984, 138(2): 340-345.
- [7] VERTZONI M V, REPPAS C, ARCHONTAKI H A. Optimized determination of lycopene in canine plasma using reversed-phase high-performance liquid chromatography[J]. J Chromatogr B, 2005, 819(1): 149-154.
- [8] XU F, YUAN Q P, DONG H R. Determination of lycopene and β -carotene by high-performance liquid chromatography using sudan I as internal standard[J]. J Chromatogr B, 2006, 838(1): 44-49.
- [9] FROESCHEIS O, MOALLI S, LIECHTI H, et al. Determination of lycopene in tissues and plasma of rats by normal-phase high-performance liquid chromatography with photometric detection[J]. J Chromatogr, B, 2000, 793(2): 291-299.
- [10] JAROSLAV P, TUULIA H, OUTI R A, et al. Determination of lycopene in food by on-line SFE coupled to HPLC using a single monolithic column for trapping and separation[J]. J Chromatogr A, 2004, 1052(1/2): 25-31.
- [11] BROICH C R, ERDMAN L E, GERBER J W. Determination of lycopene, α - and β -carotene and retinyl esters in human serum by reversed-phase high performance liquid chromatography[J]. Lipids, 1983, 18(3): 253-258.
- [12] HAGIWARA T, YASUNO T, FUNAYAMA K, et al. Determination of lycopene, α -carotene and β -carotene in serum by liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry with selected-ion monitoring[J]. J Chromatogr B, 1998, 708(1/2): 67-73.
- [13] RICHARD B B, XU X Y, VIANA M A, et al. Liquid chromatography-mass spectrometry of *cis*- and all-*trans*-lycopene in human serum and prostate tissue after dietary supplementation with tomato sauce[J]. J Agric Food Chem, 2002, 50(8): 2214-2219.
- [14] FANG Liqiong, PAJKOVIC N, WANG Yan, et al. Quantitative analysis of lycopene isomers in human plasma using high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Anal Chem, 2003, 75(4): 812-817.
- [15] 张军, 杜平, 孙立霞. 快速高分离度液相色谱-串联质谱法测定番茄酱中番茄红素的含量[J]. 中国食物与营养, 2010(6): 54-56.
- [16] 张丽薇, 崔勇, 李青. 高效液相色谱法测定保健食品中的番茄红素[J]. 中国卫生检验杂志, 2008, 18(6): 1069-1070.
- [17] 王超, 张昭. 番茄红素的提取与稳定性研究[J]. 江苏科技大学学报: 自然科学版, 2010, 24(2): 188-192.
- [18] ROLDÁN-GUTIÉRREZ J M, DE CASTRO M D L. Lycopene: the need for better methods for characterization and determination[J]. Trends in Anal Chem, 2007, 26(2): 163-170.
- [19] ZUEHLKE S, DUENNBIEER U, HEBERER T. Determination of polar drug residues in sewage and surface water applying liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Anal Chem, 2004, 76(22): 6548-6554.
- [20] VANDERFOR B J, PEARSON R A, REXING D J. Analysis of endocrine disruptors, pharmaceuticals, and personal care products in water using liquid chromatography/tandem mass spectrometry[J]. Anal Chem, 2003, 75(22): 6265-6274.
- [21] MATUSZEWSKI B K, CONSTANZER M L, CHAVEZ-ENG C M. Strategies for the assessment of matrix effect in quantitative bioanalytical methods based on HPLC-MS/MS[J]. Anal Chem, 2003, 75(13): 3019-3030.