ICS 67.050
CCS X 04

T/CS

团 体 标 准

T/CS 539—2026

番茄提取物 番茄碱含量测定 高效液相色谱-串联质谱法

Tomato extract - determination of tomatine content - high-performance liquid chromatography - tandem mass spectrometry

2026－08－05 发布 2026－08－05 实施

中国商品学会 发 布

目　　次

前言 II
1　范围 3
2　规范性引用文件 3
3　术语和定义 3
4　方法原理 3
5　试剂与材料 3
6　仪器与设备 4
7　样品制备 5
8　色谱条件 5
9　测定步骤 5
10　结果计算 6
11　精密度 6
12　回收率 6
附录 A （规范性 ） 番茄碱质谱 MRM 参数及标准色谱图 7
附录 B （规范性 ） 样品色谱图及基质干扰判定 8
附录 C （规范性 ） 试剂配制详细操作细则 9
参考文献 10

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。

请注意本文件某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由江南大学提出。

本文件由中国商品学会归口。

本文件起草单位：新疆中基天然植物纯化高新技术研究院有限公司、河北晨光检测技术服务有限公司、晨光生物科技集团股份有限公司、江南大学、北京联合利来企业管理有限公司。

本文件主要起草人：李烨、何炳辉、张晓芳、焦利卫、温盼来、郭洋洋、张连富、范金余、杨正旭。

番茄提取物　番茄碱含量测定　高效液相色谱-串联质谱法

1　范围

本文件规定了用高效液相色谱-串联质谱法（HPLC- MS/MS）测定番茄提取物中番茄碱（tomatine）含量的方法原理、试剂与材料、仪器与设备、样品制备、色谱条件、测定步骤、结果计算、精密度及回收率。

本文件适用于固体及液体番茄提取物中番茄碱含量的测定，不适用于新鲜番茄果实。

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

GB/T 27404　实验室质量控制规范 食品理化检测

3　术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

番茄提取物　tomato extract

以番茄（Solanum lycopersicum）果实或加工副产物为原料，经提取、浓缩、干燥等工艺制得的含有番茄生物碱/皂苷类成分的植物提取物。

3.2

番茄碱　tomatine

以番茄（Solanum lycopersicum）为原料，天然存在的一类甾体生物碱及其糖苷类化合物的总称。本方法特指以番茄碱苷元（Tomatidine，化学式：$C_{27}H_{45}NO_2$，CAS号：77-59-8）为母核结构的代表性组分，其含量以番茄碱苷元计。

4　方法原理

番茄提取物中的番茄碱用甲醇-水（含少量甲酸）超声提取，经 C_{18}固相萃取小柱净化或高速离心-微孔滤膜过滤后，采用反相高效液相色谱分离，电喷雾离子源正离子模式（ESI^+），多反应监测（MRM）模式检测。以保留时间和特征离子对丰度比定性，以外标标准曲线法定量。基质干扰明显时采用基质匹配标准曲线校正。

5　试剂与材料

5.1　试剂

5.1.1　一般要求

除非另有说明，所有试剂均为分析纯，水为GB/T 6682规定的一级水。

5.1.2　甲醇（CH_3OH）

色谱纯。

5.1.3 乙腈（CH_3CN）

色谱纯。

5.1.4 甲酸（HCOOH）

色谱纯。

5.1.5 乙酸铵（CH_3COONH_4）

色谱纯。

5.1.6 0.1%甲酸水溶液

量取1.0 mL甲酸，用水稀释至1000 mL，混匀。具体配制操作细则及注意事项见附录 C.1。

5.1.7 乙酸铵溶液

5 mmol/L乙酸铵溶液（含0.05%甲酸）：称取0.385 g乙酸铵，加水溶解，加入0.5 mL甲酸，用水定容至1000 mL，混匀。配制过程需严格按附录C.2执行，宜现配现用。

5.2 标准品

$C_{50}H_{83}NO_{21}$，CAS号：17406-45-0，纯度不小于98%。

5.3 标准溶液配制

5.3.1 标准储备液（100 μg/mL）

精密称取番茄碱标准品10.0 mg，置于100 mL容量瓶中，加甲醇溶解并定容至刻度，摇匀，于-20℃避光保存，有效期3个月。

5.3.2 标准工作液

吸取适量标准储备液，用甲醇稀释成浓度为0.5 μg/mL、1 μg/mL、5 μg/mL、10 μg/mL、50 μg/mL的系列标准工作液，现配现用。

5.4 材料

5.4.1 C18 固相萃取柱

500 mg/6 mL。

5.4.2 有机相滤膜

0.22 μm，耐有机溶剂。

5.4.3 一次性注射器

5 mL、10 mL。

6 仪器与设备

6.1 高效液相色谱串联质谱仪：配电喷雾离子源（ESI）。
6.2 高速匀浆机。
6.3 分析天平：感量 0.0001 g。
6.4 超声波清洗器：功率不低于 200 W，频率 40 kHz。
6.5 高速离心机：转速不低于 10000 r/min。
6.6 氮吹仪（可选）。
6.7 涡旋振荡器。
6.8 固相萃取装置。
6.9 40 目筛子。

7 样品制备

7.1 样品前处理

样品制成匀浆后，-18℃冰箱保存。

7.2 样品预处理

7.2.1 固体样品

取均匀混合的番茄提取物粉末约50 g，粉碎，过40目筛，密封备用。

7.2.2 膏状样品

取均匀混合的番茄提取物膏约50 g，充分搅拌均匀，密封备用。

7.3 样品提取

精密称取样品0.5 g（精确至0.0001 g），置于50 mL 离心管中，加入20 mL甲醇-水（80:20，v/v）溶液，涡旋振荡1 min，超声提取30 min（超声温度 30℃），于10000 r/min 离心10 min，取上清液；残渣再用20 mL甲醇-水（80:20，v/v）溶液重复提取1次，合并两次上清液，待净化。该提取液的配制方法见附录C.3，常温储存有效期为15 d。

7.4 样品净化

C_{18}固相萃取柱依次用5 mL甲醇、5 mL水活化，将待净化液全部过柱，控制流速1 mL/min，用5 mL水淋洗，弃去淋洗液，再用10 mL甲醇洗脱，收集洗脱液，氮吹至近干，用1 mL甲醇溶解残渣，过0.22 μm有机相滤膜，上机测定。

8 色谱条件

8.1 液相色谱条件

色谱柱：Proshell 120 EC-C18（3.0 mm×100 mm，2.7 μm）；柱温30℃；流速0.3 mL/min；进样量3 μL；流动相A为5 mmol/L乙酸铵（含0.05%甲酸）溶液；流动相B为乙腈；洗脱程序见表1。

8.2 质谱条件

8.2.1 离子化模式：电喷雾离子源，正模式；毛细管电压 3500 V；干燥气流速 10 mL/min；干燥气温度 350℃；雾化器压力 35 psi；鞘气温度 400℃；鞘气流速 11 mL/min。

8.2.2 番茄碱的母离子、子离子、去簇电压（DP）及碰撞能量（CE）等质谱多反应监测（MRM）参数详见附录 A.1。

表 1 梯度洗脱程序

时间 /min	A相/%	B相/%
0.0	90	10
2.0	90	10
6.0	70	30
10.0	50	50
12.0	10	90
15.0	90	10

9 测定步骤

9.1 标准曲线绘制

将系列标准工作液（0.5 ng/mL、1 ng/mL、5 ng/mL、10 ng/mL、50 ng/mL）按仪器参考条件依次进样测定，以番茄碱浓度为横坐标，定量离子对峰面积为纵坐标，绘制标准曲线，计算回归方程。标准曲线相关系数（r）应不低于0.999。

9.2 样品测定

将待测样品溶液按仪器参考条件进样测定，记录样品中番茄碱定量离子对的峰面积，代入标准曲线回归方程，计算样品溶液中番茄碱的浓度。

9.3 定性确认

样品溶液中番茄碱的色谱峰保留时间与标准工作液一致（相对偏差≤2.5%），且定性离子对与定量离子对的峰面积比与标准工作液的离子对峰面积比一致（相对偏差≤20%），可判定样品中存在番茄碱。若样品色谱峰附近存在基质干扰，判定标准及处理方式按附录B.1执行；空白试验的色谱图要求见附录B.2。

10 结果计算

10.1 计算公式

番茄碱含量按式（1）计算：

$$X = \frac{C \times V \times f}{m \times 1000} \cdots\cdots (1)$$

式中：

X——样品中番茄碱的含量，单位为毫克每克（mg/g）；

C——从标准曲线查得样品溶液中番茄碱的浓度，单位为纳克每毫升（ng/mL）；

V——样品最终定容体积，单位为毫升（mL）；

f——稀释倍数；

m——样品质量，单位为克（g）；

1000——换算系数。

10.2 结果表示

测定结果以平行样算术平均值表示，保留两位小数。

11 精密度

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15%。

12 回收率

样品加标回收率应在70%~120%之间。

附 录 A
（规范性）
番茄碱质谱 MRM 参数及标准色谱图

A.1 番茄碱质谱特征参数

本方法采用表A.1的参数进行采集。

表 A.1 番茄碱质谱特征参数

化合物名称	母离子m/z	子离子m/z	离子类型	去簇电压DP/V	碰撞能量CE/eV
番茄碱	416.3	174.2	定量离子	80	35
番茄碱	416.3	398.3	定性离子	80	25

附 录 B
（规范性）
样品色谱图及基质干扰判定

B.1 样品色谱峰判定标准

B.1.1 样品目标峰出峰位置应与标准品完全匹配，保留时间偏差不大于2.5%。

B.1.2 目标峰附近无明显基质干扰峰，干扰峰峰高不得超过目标峰峰高的10%。

B.1.3 若存在轻微基质抑制或增强，需通过基质匹配标准曲线校正，不得使用纯溶剂曲线定量。

B.2 空白样品色谱图要求

全程试剂空白、提取空白、净化空白在目标保留时间处无响应，峰面积低于检出限响应值，判定空白合格。

附 录 C
（规范性）
试剂配制详细操作细则

C.1 0.1%甲酸水溶液

用移液枪精准吸取1.00 mL色谱纯甲酸，缓慢加入盛有900 mL超纯水的容量瓶中，混匀后定容至1000 mL，超声脱气5 min，室温储存，有效期7 d。

C.2 5 mmol/L 乙酸铵-0.05%甲酸水溶液

精确称取乙酸铵0.385 g，超纯水溶解，加入0.50 mL甲酸，定容至1000 mL，混匀、脱气、过0.22 μm水相滤膜，现配现用。

C.3 甲醇-水提取液（80:20，V/V）

量取800 mL色谱纯甲醇、200 mL超纯水，混匀脱气，常温储存，有效期15 d。

参 考 文 献

[1] 徐美娟, 管致和. 番茄植株中生物碱类对菜青虫(Pieris rapae L.)活性组分的分离及提纯[J]. 中国农业大学学报, 1994, 20(4): 153-156.DOI:10.1007/BF02007173.

[2] 陈艳. 糖苷生物碱的抗疟活性研究[D]. 长春: 东北师范大学, 2006.

[3] AUGUSTIN M M, RUZICKA D R, O’NEIL J M, et al. Elucidating steroid alkaloid biosynthesis in Veratrum californicum: production of verazine in Sf9 cells[J]. Plant Journal, 2015, 82(6): 991-1003.DOI:10.1111/tpj.12871.

[4] FRIEDMAN M. Chemistry and anticarcinogenic mechanisms of glycoalkaloids produced by eggplants, potatoes, and tomatoes[J].Journal of Agriculture and Food Chemistry, 2015, 63(13): 3323-3337.DOI:10.1021/acs.jafc.5b00818.

[5] JONES N A, NEPOGODIEV S A, FIELD R A, et al. Efficient synthesis of methyl lycotetraoside, the tetrasaccharide constituent of the tomato defense glycoalkaloid α-tomatine[J]. Organic & Biomolecular Chemistry, 2005, 3(17): 3201-3206. DOI:10.1039/B508752J.

[6] FRIEDMAN M. Tomato glycoalkaloids: role in the plant and in the diet[J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 2002, 50(21):5751-5780. DOI:10.1021/jf020560c.