



ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 544

doi: 10.17308/sorpchrom.2022.22/10886

Определение каротиноидов методом ВЭЖХ, их антиоксидантная активность и влияние на здоровье человека (обзор)

Александр Яковлевич Яшин^{1✉}, Яков Иванович Яшин¹

¹Группа компаний «Сайтегра», Москва, Россия, yashin@scietegra.com ✉

Аннотация. Каротиноиды – широко распространенные соединения в пищевых продуктах. Их обнаружено около 1100, в значимых количествах в пище около 50, в плазме крови обнаружено 30 каротиноидов. Основные методы определения каротиноидов – это методы ВЭЖХ с разными детектирующими системами. Для идентификации каротиноидов используют методы ВЭЖХ с МС и МС-МС детекторами. С использованием методов ВЭЖХ созданы базы данных содержания каротиноидов в пищевых продуктах во многих странах Америки, Азии и Европы. За счет многих сопряженных связей (до 11) каротиноиды обладают антиоксидантной активностью.

Наибольшей антиоксидантной активностью обладает астаксантин, находящейся в красной рыбе, красной икре и креветках. За счет антиоксидантной активности каротиноиды обладают значительными оздоровительными эффектами. Регулярное потребление каротиноидов значительно снижает риск самых опасных болезней: сердечно-сосудистых, онкологических, диабета и др. Наибольшая смертность населения от этих болезней. Каротиноиды подавляют окислительный стресс-предшественник многих болезней, в т. ч. и самых опасных. Каротиноиды повышают иммунитет, убирают воспалительные процессы. Они эффективны при болезнях глаз и печени. Каротиноиды производят в мире в больших количествах, глобальный рынок более 1.5 млрд. долларов. Производятся в больших объемах: бета-каротин, ликопин, лютеин и астаксантин. По влиянию каротиноидов на здоровье человека опубликовано более 6000 научных работ.

Ключевые слова: каротиноиды, ВЭЖХ, детекторы, анализ, базы данных, профиль содержания, оздоровительные эффекты, рынок каротиноидов.

Для цитирования: Яшин А.Я., Яшин Я.И. Определение каротиноидов методом ВЭЖХ, их антиоксидантная активность и влияние на здоровье человека (обзор) // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2022. Т. 22, № 6. С. 794-803. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2022.22/10886>

Original article

Determination of carotenoids by HPLC, their antioxidant activity and impact on human health (review)

Alexander Ya. Yashin^{1✉}, Yakov I. Yashin¹

¹Saitegra Group of Companies, Moscow, Russian Federation, yashin@scietegra.com ✉

Abstract. Carotenoids are compounds which are widely used in food products. About 1,100 carotenoids have been found, including 50 carotenoids found in significant amounts in food and 30 carotenoids found in blood plasma. The main methods used to determine carotenoids are HPLC methods with different detection systems. To identify carotenoids, HPLC methods with MS and MS-MS detectors are used. HPLC methods have been used in many countries of the Americas, Asia, and Europe to create databases regarding carotenoid content in food products. Due to many conjugated bonds (up to 11), carotenoids have antioxidant activity.

Astaxanthin found in red fish, red caviar, and shrimps has the highest antioxidant activity. Due to their antioxidant activity, carotenoids have significant health-improving effects. Regular consumption of carotenoids sig-



nificantly reduces the risk of the most dangerous diseases: cardiovascular diseases, oncological diseases, diabetes, etc. These diseases are responsible for the largest share of the population mortality. Carotenoids suppress oxidative stress, which commonly precedes many diseases, including the most dangerous ones. Carotenoids boost immunity and remove inflammatory processes. They are effective at curing eye and liver diseases. Carotenoids are produced globally and in large quantities. The global market is worth more than 1.5 billion dollars. They are produced in large volumes: beta-carotene, lycopene, lutein, and astaxanthin. Over 6000 scientific papers have been dedicated to the effects of carotenoids on human health.

Keywords: carotenoids, HPLC, detectors, analysis, databases, content profile, wellness effects, carotenoid market.

For citation: Yashin A.Ya., Yashin Ya.I. Determination of carotenoids by HPLC, their antioxidant activity and impact on human health (review). *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2022. 22(6): 794-803. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2022.22/10886>

Введение

Происхождение слова каротиноиды (лат. Carota-морковь, греч. Eidos-вид). К настоящему времени идентифицировано около 1100 каротиноидов [1], они широко распространены в окрашенных фруктах, ягодах и овощах. Основные каротиноиды: ликопин, астаксантин, бета-каротин, лутеин имеют красные, оранжевые и желтые цвета. Каротиноиды разнообразны по структуре, по своим функциям, содержат транс- и –цис изомеры. В природе больше более устойчивых транс-изомеров. Каротиноиды классифицируются на каротины и ксантофиллы. Каротины состоят из изопреновых блоков (8 блоков), 40 углеродных атомов общей формулы $C_{40}H_{56}$. В составе каротинов содержатся только атомы Н и С. Ксантофиллы – окисленные каротины, состоят из атомов С, Н и О. Кислород входит в карбоксильные, гидроксильные, альдегидные и эпокси группы. Каротиноиды синтезируют растения, водоросли, бактерии, грибы и дрожжи. Каротиноиды находятся как в свободном виде, так и в виде гликозидов или эфиров жирных кислот. В составе каротиноидов находятся сопряженные связи до 11. По другой классификации каротиноиды различаются как ациклические, моноциклические и бициклические. В пищевых продуктах в значимых количествах присутствуют только 40 каротиноидов. В сыворотке крови обнаружено 30 каротиноидов. Каротиноиды широко используются в пищевой промышленности, сельском

хозяйстве, медицине, косметике. Ликопин может успешно заменить нитрит в колбасе и ветчине. Бета-каротины добавляются в сыры и овощные пасты, в корм кур для окраски желтков яиц, как красители в пище обозначаются Е160, ксантофиллы Е161. Каротиноиды чувствительны к свету, теплу, кислороду, кислотам и щелочам. Хранение в темноте при -20 град.

За исследования каротиноидов Карреру присуждена Нобелевская премия Области поглощения каротиноидов 400-600 нм. Глобальный рынок каротиноидов: астаксантин – 257 млн долларов, бета-каротин – 253, лутеин – 180, ликопин – 81 млн дол.

Базы данных содержания каротиноидов в пищевых продуктах в разных странах

Созданы базы данных содержания каротиноидов в пищевых продуктах в Англии, США, Финляндии, Чехии, Бразилии, Японии и в пяти Европейских странах [17-23]. Первая база данных была создана в США в 1993 г. Оценено содержание альфа- и бета-каротинов, лутеина, зеаксантина, ликопина, бета-криптоксантина в 215 пищевых продуктах (USDA data) за 1971-1991 г.г. – 10 фруктов, 23 овощей, 14 коммерческих пищевых смесей и др. продуктах. В Англии определено содержание каротиноидов только в общеупотребляемых овощах и фруктах, в Финляндии в овощах, фруктах и ягодах, в Чехии установлены общие пищевые источники каротиноидов и физиологически значимые количества для употребления,



в Бразилии создана база данных всех пищевых каротиноидов и определены факторы, влияющие на состав каротиноидов, в Японии определено содержание каротиноидов в общепотребляемых овощах, в Европе проведено сравнительное исследование потребления каротиноидов в пяти странах. Лучшие источники каротиноидов: тыква – 11.7 мг, морковь – 10.2 мг. Ликопина больше всего в томатах, абрикосах и арбузе. В Италии больше всего потребляют ликопина – 7.4 мг/день, это больше, чем в других странах: в Англии – 1.1 мг/день, в Испании – 1.6, в Австрии – 3.8, во Франции – 4.8, в Голландии – 4.9 мг/день. Содержание бета-каротина в мкг/100 г: морковь – 7975, шпинат – 4489, абрикосы – 3500, брокколи – 1580, красный перец – 1700, томаты – 603, манго – 310, апельсин – 250, арбуз – 150.

Содержание каротиноидов в диете США: бета-каротин-мкг/100 г: абрикосы сухие – 17600, морковь – 9770, свекла – 2560, брокколи – 1300, томаты – 520; ликопин-мкг/100 г: томаты (паста) – 36500, томаты (кетчуп) – 12390, томаты (сок) – 10000, сырые томаты – 3100. Определен профиль каротиноидов в желтом, фиолетовом и красном картофеле [24] и в 27 типах перца разного цвета, формы и культур [26].

Методы ВЭЖХ для определения каротиноидов в пищевых продуктах и биологических жидкостях

Каротиноиды определяют разными методами спектроскопии и методами газовой и жидкостной хроматографии. Однако, чаще всего каротиноиды анализируют методами ВЭЖХ с использованием разных детекторов, больше всего УФ и МС. В таблице 1 приведен список методов ВЭЖХ и других методов для определения каротиноидов с разными детектирующими системами. Для идентификации каротиноидов применяют 3D детекторы: масс спектрометрические, диодно-матричные и кулонометрические. Наибо-

лее чувствительные детекторы: МС, электрохимические и флуоресцентные. Электрохимический детектор в 10-100 раз чувствительнее УФ-детектора. Чувствительность флуориметрического равна электрохимическому детектору. В основном, используют обращенно-фазовый вариант ВЭЖХ, в качестве сорбентов берут С18, С30, С34, фенил-гексил, фенил. Была изучена гидрофобность сорбентов и роль силанольных групп на поверхности сорбента на удерживание. Метиленовая селективность оценивалась по гомологам бензола. Элюент-метанол, ацетонитрил, вода. Изучали удерживание лутеина, ликопина и бета-каротина. Изучено влияние на удерживание плотности покрытия сорбента и длины алкильных цепей привитого слоя на сорбенте. Содержание углерода в слое для С18-2.5-20%, фенил-гексил-до 14, фенил-2.5% и С30 до 25%. Лучшее разделение-15 каротиноидов за 20 мин [37], 14 транс-изомеры. Удельная поверхность силикагеля 150-300 м²/г, размер используемых частиц 1.8-10 мкм, колонка 100x0.3 мм, 22 град., скорость 0.4 см³/мин. Метод УВЭЖХ при высоких входных давлениях за счет применения зерен размером менее 2 мкм. Скорость разделения в этом методе возрастает, высота пиков выше, т.е. чувствительность выше. Для улучшения разделения сложных смесей каротиноидов применяют двумерные методы ВЭЖХ, для разделения оптических изомеров используют хиральную хроматографию, для разделения по молекулярным массам применяют ионную, гель-фильтрационную хроматографию.

В сверхкритической флюидной хроматографии в качестве элюента используют растворитель в сверхкритическом состоянии, этот метод занимает промежуточное положение между газовой и жидкостной хроматографией. Для увеличения скорости разделения используют также поверхностнопористые сорбенты. Для



Таблица 1. Методы ВЭЖХ, применяемые для определения каротиноидов с разными детектирующими системами.

Table 1. HPLC methods used to determine carotenoids with different detection systems.

Методы	Ссылки
ВЭЖХ обращенно-фазовая	45,46
ВЭЖХ ультрафиолетовый детектор	47
ВЭЖХ спектрофотометрический	48
ВЭЖХ-МС масс-спектрометрический	49,50
ВЭЖХ-МС-МС	51
ВЭЖХ-флуориметрический	52
ВЭЖХ-кулонометрический	53
ВЭЖХ-электрохимический	54
ВЭЖХ-ДМД-диодноматричный	55
ВЭЖХ-ДМД-МС	56
ВЭЖХ-ЯМР	57
Ультра ВЭЖХ	58
УВЭЖХ –УФ-МС	59
УВЭЖХ двумерная	60
Тонкослойная хроматография	61
Хиральная хроматография	62
Гель-проникающая хроматография	63
Двумерная ВЭЖХ	64
Сверхкритическая флюидная хроматография	65
Хроматография с поверхностно-пористыми сорбентами	66
Хроматография на сорбентах С34	67
Экстракция	68-74

анализа каротиноидов из пищевых продуктов часто применяют предварительную экстракцию, практически используют все виды экстракции [68-74].

Антиоксидантная активность каротиноидов [75-82]

За счет сопряженных двойных связей каротиноиды обладают антиоксидантной активностью, которая обеспечивает им оздоровительный эффект. Наибольшей антиоксидантной активностью обладает астаксантин, его антиоксидантная активность в 11 раз больше, чем у бета-каротина и еще больше, чем у альфа-токоферола (витамина Е). Однако, по антиоксидантной активности каротиноиды уступают антиоксидантам – полифенолам, в частности, флавоноидам и фенольным кислотам.

Влияние каротиноидов на здоровье человека

Регулярное потребление каротиноидов с пищевыми продуктами снижает

риск самых опасных болезней: сердечно-сосудистых, онкологических, диабета и др. [83-106] (табл. 2). Смертность населения, в основном, от этих болезней. Каротиноиды снижают риск смерти от сердечно-сосудистых болезней и рака на 25%. Кроме того, каротиноиды подавляют окислительный стресс-предшественник большинства болезней, в том числе и самых опасных [90-92]. Ликопин эффективен против синглетного кислорода. В целом, каротиноиды обеспечивают антиоксидантную защиту клеток. Каротиноиды повышают иммунитет. Альфа, бета, гамма-каротины связаны с выработкой Т-клеток и являются естественными иммуномодуляторами. Каротиноиды замедляют старение. Каротиноиды – лутеин и зеаксантин весьма эффективны при лечении глазных болезней. Каротиноиды не позволяют развиваться неалкогольному ожирению печени. Каротиноиды подавляют опасные бактерии в же

Таблица 2. Перечень болезней, для которых потребление каротиноидов снижает риск.
Table 2. List of diseases, the risk of which is reduced when carotenoids are consumed.

Болезни	Ссылки
Общие обзоры	83-89
Сердечнососудистые	90-92
Онкологические	93-96
Окислительный стресс	97, 98
Повышение иммунитета	99
Диабет	100
Глазные болезни	101
Неалкогольное ожирение печени	103
Геликобактер пилори	102
Полнота	104
Хронические болезни	105
Пигментация кожи	106

лудке Геликобактер пилори, вызывающие язву и рак желудка. По данным доктора А.Л. Мясникова 85% населения нашей страны имеют в желудке эти бактерии. Каротиноиды против ожирения, известно, что полнота – пятая причина смерти. Многие хронические болезни не развиваются при употреблении каротиноидов. Пигментные пятна на теле человека можно убрать каротиноидами. Астаксантин и ликопин от сердечно-сосудистых заболеваний, ликопин против атеросклероза. Ликопин против рака простаты, он на 19% снижает риск рака простаты. Бета-каротин имеет терапевтический эффект при раке кожи при УФ облучении. Ликопин помогает при астме. Исследования, проведенные в Японии и Канаде, установили прямую зависимость между уровнем потребления астаксантина и снижением уровня онкологических и сердечно-сосудистых болезней. Астаксантин содержится в креветках, красной рыбе и красной икре. Более 30% онкологических болезней от несбалансированного питания, в т.ч. низкого содержания каротиноидов. Обогащение рациона питания бета-каротином до 6-8 мг/день позволяют снизить риск рака легких в 2-3 раза, рака пищевода в 3 раза, рака шейки матки в 3 раза. Брюс Эймс

назвал каротиноиды витаминами долголетия, они продлевают жизнь. Кроме выше указанных болезней, каротиноиды снижают метаболический синдром, высокое давление, потеря слуха, воспалительные процессы и нарушение когнитивных функций мозга. Каротиноиды практически не токсичны при потреблении в больших количествах. Самый биодоступный – лютеин. Более 6000 работ опубликовано по влиянию каротиноидов на здоровье человека (PubMed, Scopus).

Заключение

В обзоре систематизированы сведения по анализу каротиноидов в пищевых продуктах методами ВЭЖХ, их антиоксидантной активности и влияние потребления каротиноидов на здоровье человека. Знание этих сведений, доведенное до широких кругов населения, позволит провести профилактику многих опасных болезней и улучшить здоровье и качество жизни.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет известных финансовых конфликтов интересов или личных отношений, которые могли бы повлиять на работу, представленную в этой статье.



Список литературы/References

1. Dejneka V.I., Dejneka L.A., Anisimovich I.P. Monografiya. Nomenklatura. Klassifikaciya. Sintez. Belgorod: IP Osnashchenko A.A. 2011. 91 p. (In Russ.)
2. Karnauhov V.N. Biologicheskie funkcii karotinoïdov. M. Nauka. 1988. 240 p. (In Russ.)
3. Strauh O. Key to carotenoids 2 nd ed Birkhauser Verlag. Basel. Switzerland 1987. 29
4. Siong T.E., Lam L.C. Analysis of Carotenoids in Vegetables by HPLC. *ASEAN Food Journal*. 2019; 7(2); 91-996 p..
5. Rodriguez-Amaya D.B. A Guide to Carotenoid Analysis in Foods. ILSI Human Nutrition Institute. One Thomas Circle, NW, Washington DC, 20005-5802, 64 p.
6. Rodriguez-Amaya D.B., Kimura M. Harvest Plus. Handbook for carotenoids analysis. International Food Policy Research Institute. Washington D C. 2004. 58 p.
7. Vitamin A and Carotenoids: Chemistry, Analysis, Function and Effects (Food and Nutritional Components in Focus, Volume 1) 1st Edition by Victor R Preedy (Editor), Royal Society of Chemistry; 1st edition (August 30, 2012), 608 p.
8. Britton G., Liaaen-Jensen S., Pfander H. Carotenoids. Handbook Birkhauser. Verlag. Basel. Boston. Berlin. 2012. 885 p.
9. Zepka L.Q., Jacob-Lopes E., De Rosso V.V. Progress in Carotenoid Research [Internet]. London: IntechOpen; 2018. 228 p.
10. Whitaker J. Carotenoids-Health benefits from A to Z. 2020. <https://www.healthydirections.com/articles/eye-health/the-multiple-benefits-of-carotenoids?closebox=true>
11. Carotenoids in Nature: Biosynthesis, Regulation and Function; Stange, C., Ed.; Springer: Cham, Switzerland. 2016; 79: 454 p.
12. Rodriguez-Concepcion M., Analos J. Bonet M.I. et al. A global perspective on carotenoids-metabolism, biotechnology and benefits for nutrition and health. *Prog. Lipid. Res.* 2018; 70: 62-93.
13. Eggersdorfer M., Wyss A. Carotenoids in human nutrition and health. *Arch. Biochem. Biophys.* 2018; 652: 18-26.
14. Finkel'shtejn E.I. Sovremennyye metody analiza karotinoïdov (Obzor). Himiko-farmaceuticheskij zhurnal. 2016; 50: 29-40. (In Russ.)
15. Lako J. et al. Phytochemical flavonols, carotenoids. *Food Chem.* 2007; 101: 1727-1741.
16. Higuera-Ciapara I., Felix-Valenzuela L., Goycoolea F.M. Astaxanthin. A review of its chemistry and applications. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2006; 46: 185-196.
17. Hart D.J., Scott K.J. Development and evaluation on HPLC method for the analysis of carotenoids in foods and the measurement of the carotenoid content of vegetables and fruits commonly consumed in the UK. *Food Chem.* 1995; 54: 101-111.
18. Holden J.M., Sedridye A.L., Beecher G.R. et al. Carotenoid content of U.S foods. An update of the Database. *J. Food Comp. Anal.* 1999; 12: 169-196.
19. Heinonen M.I., Ollilainen V., Linkola E.K. et al. Carotenoids in Finnish foods. Vegetables, fruits and berries. *J. Agric. Food Chem.* 1989; 37: 655-699.
20. Marova L., Slovak B., Bilkova H. et al. Physiologically significant carotenoids and their common food sources in Czech population. *Chem. Papers* 1999; 53: 174-183.
21. Rodriguez-Amaya D.B. Updated Brazilian database on food carotenoids - factors affecting carotenoid composition. *J. Food Compos. Anal.* 2008; 21: 445-463.
22. Aizawa K., Inakuma T. Quantitation of carotenoids in commonly consumed vegetables in Japan. *Food Sci. Technol. Res.* 2007; 13: 247-252.
23. O'Neill H.E., Carroll Y., Corrida B. et al. European carotenoid database to assess carotenoid intakes and its use in a five-country comparative study. *Brit. J. Nutr.* 2001; 85: 499-507.
24. Taylor K.L., Brackenridge A.E., Vivier M.A. et al. HPLC profiling of the major carotenoids in a rhabdomyosarcoma thaliaka Ceaf. Tissue. *J. Chrom A.* 2006; 1121: 83-91.
25. Kotikova Z., Sule M., Lachman J. et



- al. Carotenoid profile and retention in yellow, purple- and red fleshed potatoes after thermal processing. *Food Chem.* 2016; 197: 992-1001.
26. Kim J.S., An C.G., Park J.S. et al. Carotenoid profiling from 27 types of paprika with different colors, shapes and cultivation methods. *Food Chem.* 2016; 201: 64-71.
27. Shintani H. HPLC Analysis of vitamin A and carotenoids. *Pharm. Anal. Acta.* 2013; 4: 218-223.
28. Butnariu M. Methods of analysis (extraction, separation, identification and quantification) of carotenoids from natural products. *J. Ecosystem Ecography.* 2016; 8: 193-210.
29. Tee E.S. The analysis of carotenoids and retinoids - a review. *Food Chem.* 1991; 41: 147-193.
30. Rodriguez-Amaya D.B. Structures and analysis of carotenoid molecules. *Sub-Cell Biochem.* 2016; 79: 71-108.
31. Amorim-Currilho K.T., Cereda A., Fente C. et al. Review of methods for analysis of carotenoids. *Trends Anal. Chem.* 2014; 56: 49-73.
32. Rivara S.M., Canela-Garayoa R. Analytical tools for the analysis of carotenoids in diverse materials. *J. Chrom. A.* 2012; 1224: 1-10.
33. Scott K.J. Observations on some of the problems associated with the analysis of carotenoids in foods by HPLC. *Food Chrom.* 1992; 45: 357-364.
34. van Brumen R.B. Liquid chromatography-mass spectrometry of carotenoids. *Pure Appl. Chem.* 1997; 69: 2061-2066.
35. Moros E.E., Darnoko D., Cheryan M. et al. Analysis of xanthophylls in corn by HPLC. *J. Agric. Food Chem.* 2002; 30: 5787-5790.
36. Dejneka V.I., Dejneka L.A. Inkrementnyj podhod v analize karotinoidov metodom OF VEZHKKH. Razdelenie diefirov ksantofillov. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy.* 2006; 6(3): 366-375. (In Russ.)
37. Gupta P., Sreelakshmi Y., Sharma R. A rapid and sensitive method for determination of carotenoids in plant tissues by HPLC. *Plant Methods* 2015; 11: 5-9.
38. Dejneka V.I., Podkopajlo R.V., Dejneka L.A. Sorokopudov V.N., Gostishchev I.A. Opredelenie karotinoidov plodov oblepihi metodom VEZHKKH. *Nauchnye vedo-mosti Belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta.* 2011; 15: 371-378. (In Russ.)
39. Zelenkova E.N., Egorova Z.E., Shabunya P.S., Fal'kova S.A. Analiz karotinoidov metodom VEZHKKH v ot del'nyh sortah morkovi. *Vestnik MAH.* 2015; 4: 9-21. (In Russ.)
40. Kimura M. et al. Screening and HPLC methods for carotenoids in sweet potato, cassava and maize for plant breeding trials. *Food Chemistry.* 2007; 100: 1734-1746.
41. Marinova D., Ribarova F.J. HPLC determination of carotenoids in Bulgarian berries. *Journal of Food Composition and Analysis.* 2007; 20: 370-374.
42. Pupin A.M., Dennis M.J., Toledo M.C.F. HPLC analysis of carotenoids in orange juice. *Food Chem.* 1999; 64: 269-275.
43. Gleize B. et al. Simple and fast HPLC method for simultaneous determination of retinol, tocopherols, coenzyme Q10 and carotenoids in complex samples. *Food Chem.* 2012; 134: 2560-2564.
44. Dhankhar P., et al. Optimization of various steps for RP -HPLC determination of beta-carotene in milk fat. *Intern. Food Res J.* 2017; 24: 1393-1398.
45. Ligor M. Kovacova J. Buszewski B. Study of RP HPLC retention behaviors in analysis of carotenoids. *Chromatographia.* 2014; 77: 1147-1157.
46. Rasavi S.H., Blanchard F., Mare I. UV-HPLC-APCI-MS method for separation and identification of the carotenoids produced by *Sporobolomyces ruberrimus* H110. *Iran. J. Chem. Chem. Eng.* 2006; 25: 32-36.
47. Barba A.O. et al. Application of a UV-VIS detection HPLC method for a rapid determination of lycopene and beta-carotene in vegetables. *Food Chemistry.* 2006; 95: 328-336.
48. Rivera S.M., Christou P. Identification of carotenoids using mass spectrometry.



Mass spect. Rev. 2014; 33: 353-372.

49. Daood H., Bencze G., Pelotos G., Pak Z. HPLC analysis of carotenoids from tomatoes using cross-linked C18 column and MS detection. *J. Chrom. Sci.* 2014; 52: 985-991.

50. Hrvalova B., Martinez-Hullamo M. et al. Development of an advanced HPLC – MS/MS method for the determination of carotenoids and fat-soluble vitamins in human plasma. *Int. J. Mol. Sci.* 2016; 17: 1719-1725.

51. Bizzo H.R., Faria-Machado A.F., Guedes A.M. et al. Simultaneous determination of carotenoids and tocopherols from palm hybrid oil by HPLC with photodiode array and fluorescence detectors. *Lipids.* 1992; 27: 483-490.

52. Ferruzzi M.G., Sander L.C., Cocu C.L. et al. Carotenoid determination in biological microsamples using liquid chromatography with coulometric electrochemical array. *Anal. Biochem.* 1998; 256: 74-81.

53. Gamache P., Acworth I. Measurement of dietary carotenoid isomers using HPLC-ECD. *Thermo-Fischer Scientific. Application Brief 162.* 2016; 1-4.

54. Zeb A. A simple, sensitive HPLC-DAD method for simultaneous determination of carotenoids, chlorophylls and alfa-tocopherol in leafy vegetables. *Food measure.* 2017; 11: 979-986.

55. Kurz C., Carle R., Schieber A. HPLC-DAD-MS(n) characterisation of carotenoids from apricots and pumpkins for the evaluation of fruit product authenticity. *Food Chem.* 2008; 110: 522-530.

56. Strohschein S., Pursch M., Handel H., Albert K. Structure elucidation of beta-carotene isomers by HPLC-NMR coupling using a C30 bonded phase. *Fres. J. Anal. Chem.* 1997; 357: 998-502.

57. Bohoyo-Gil D., Dominguez-Valhondo D. et al. UHPLC as suitable methodology for the analysis of carotenoids in food matrix. *Eur. Food Res. Technol.* 2012; 235: 1055-1061.

58. Pauni T., Fu W., Gudmundsson S. et al. Multidimensional analytical approach

based on UHPLC-UV-ion mobility MS for the screening of natural products. *Anal. Chem.* 2015; 87: 2593-2599.

59. Cacciola F., Donato P., Guiffredo D. et al. Ultra high pressure in the second dimension of a comprehensive two-dimension liquid chromatography system for carotenoid separation in red chili peppers. *J. Chrom. A.* 2012; 1255: 244-251.

60. Jeffrey S.W. An improved thin-layer chromatographic technique for marine phytoplankton pigments. *Limnol. Oceanogr.* 1981; 26: 191-197.

61. Kuregyan A.G. Izuchenie karotinoidov tykvy metodami spektrofotometrii i tonkoslojnoj hromatografii. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya.* 2015; 1-2. (In Russ.)

62. Lander W.O., Eitenmiller R.R. Application of gel permeation chromatography and nonaqueous reverse phase chromatography to high pressure liquid chromatography determination of retinyl palmitate and beta-carotene in oil and margarine. *JAOAC* 1979; 62: 283-289.

63. Donato P., Cacciola F., Mondello L. et al. Analysis of the carotenoid composition and stability in various overripe fruits by comprehensive two-dimensional liquid chromatography. *LC GC Europe.* 2016; 29: 252-257.

64. Pfander H., Riesen R., Niggli U. HPLC and SFC of carotenoids-scope and limitations. *Pure Appl. Chem.* 1994; 66: 947-954.

65. Balomon M.Y., Piccoli P., Fountana A. Simultaneous determination of carotenoids with different polarities in tomato products using a C30 core-shell column based approach *Microchemical J.* 2020; 159: 105390.

66. Bell C.M., Sander L.C., Wise S.A. Temperature dependence of carotenoids on C18, C30 and C34 bonded stationary phases. *J. Chrom.* 1997; 757: 29-39.

67. Adadi P., Barakova N.V., Krivoshapkina E.F. Selected methods of extraction carotenoids, characterization and health concerns. A review. *J. Agric. Food Chem.* 2018;



66: 5925-5947.

68. Montesano D. et al. A simple and selective analytical procedure for the extraction and quantification of lutein from tomato by products by HPLC-DAD. *Food Anal. Methods*. 2012; 5: 710-715.

69. Pacheco S., Peixoto F.M., Borguini R.G. et al. Microscale extraction method for a HPLC carotenoids analysis in vegetable matrices. *Scientia Agricola*. 2014; 71: 345-355.

70. Saini R.K., Keum Y. Carotenoid extraction methods. A review of recent developments. *Food Chem*. 2018; 240: 90-103.

71. Poojary M.M., Barba F.J., Aliakbarian B. et al. Innovative alternative technologies to extract carotenoids from microalgae and seaweeds. *Marine Drugs* 2016; 14: 214-221.

72. Ganzler K., Salgo A., Valko K. Microwave extraction. A novel simple preparation method for chromatography. *J. Chrom.* 1986; 371: 299-306.

73. Petry F.C., Mercadante A.Z. New method for carotenoid extraction and analysis by HPLC-DAD-MS/MS in freeze-dried citrus and mango pulps. *J. Brasz. Chem. Soc.* 2018; 29: 205-215.

74. Palva S.A., Russell R.M. Beta-carotene and other carotenoids as antioxidants. *J. Am. Coll. Nutr.* 1999; 18: 426-433.

75. Krinsky N.I. Carotenoids as antioxidants. *Nutrition*. 2001; 17: 815-817.

76. Stahl W., Sies H. Antioxidant activity of carotenoids. *Mol. Aspect. Med.* 2003; 24: 345-351.

77. Igielska-Kalwat J., Goscianska J., Nowak I. Carotenoids as natural antioxidants. *Postepy Hig. Med. Dosw (online)*. 2015; 69: 418-428.

78. Kiokias S., Gordon M. Antioxidant properties of annatto carotenoids. *Food Chem*. 2003; 83: 523-529.

79. Rodriguez-Amaya D.B. Quantitative analysis, in vivo assessment of bioavailability and antioxidant activity of food carotenoids. A review. *J. Food Composition and Analysis*. 2010; 23: 726-740.

80. Palozza P., Krinsky N.I. Antioxidant

effects of carotenoids in vivo and in vitro. An overview. *Meth. Enzymol.* 1992; 213: 403-420.

81. Miller N.J., Sompson J., Candeias I. P. et al. Antioxidant activities of carotene and xanthophylls. *FEBS Lett.* 1996; 384: 240-242.

82. Gusman I., Vargas K., Chacon F. et al. Health-promoting carotenoids and phenolics in 31 capsicum accessions. *Amer. J. Horticultural Sci.* 2021; 56: 36-41.

83. Rao A.V., Rao L.G. Carotenoids and human health. *Pharm. Res.* 2007; 55: 207-216.

84. Krinsky N.L., Johnson E.J. Carotenoids actions and their relation to health and disease. *Mol. Asp. Med.* 2005; 26: 459-516.

85. Olson J.A. Carotenoids and human health. *Arch. Latinoaver. Nutr.* 1999; 49: 73-81.

86. Fiedor J., Burda K. Potential role of carotenoids as antioxidants in human health and disease. *Nutrients*. 2014; 6: 466-468.

87. Tapiero H., Townsend D.M., Tew K.D. The role of carotenoids in the prevention of human pathologies. *Biomed. Pharmacother.* 2004; 58: 100-110.

88. Lia Z. Potential role of carotenoids as antioxidants in human health and disease. *Curr. Pharm. Design.* 2017; 5: 1-10.

89. Fassett R.G., Coombes J.C. Astaxanthin in cardiovascular health and disease. *Molecules*. 2012; 17: 2030-2048.

90. Riccioni G., D Orazio N. et al. Marine carotenoids and cardiovascular risk markers. *Mar. Drugs*. 2011; 9: 1166-1175.

91. Di Pietro N., Di Tomo P., Pandolf A. Carotenoids in cardiovascular disease prevention. *JSM Atheroscler.* 2016; 1: 1102-1109.

92. Tanaka T., Shinimizu M., Morivaki H. Cancer chemoprevention by carotenoids. *Molecules*. 2012; 17: 3202-3242.

93. Soares N., Teodoro A.J., Cotsch P.R. et al. Anticancer properties of carotenoids in prostate cancer. A review. *Histol. Histo-pathol.* 2015; 30: 1143-1154.

94. Smith T.A.D. Carotenoids and cancer prevention and potential therapy. *Brit. J. Biomed. Sci.* 1998; 55: 265-268.



95. Collins K. Cancer reducing risk with carotenoids. *Today's dietitian*. 2019; 21: 12-21.
96. Kiokias S., Gordon M. Dietary supplementation with a natural carotenoids mixture decreases oxidative stress. *Eur. J. Clin. Nutr.* 2003; 57: 1135-1140.
97. Gammone M.A., Riccioni G., D Orazio N. Marine carotenoids against oxidative stress. Effects on human health. *Mar. Drugs*. 2015; 13: 6226-6246.
98. Chen B.P., Park J.S. Carotenoids action on the immune response. *J. Nutr.* 2004; 134: 257-261.
99. Sluijs I., Cadier E., Benlens J.W. et al. Dietary intake of carotenoids and risk of type 2 diabetes. *J. Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 2015; 25: 275-282.
100. Snodderly D.M. Evidence for protection against age-related macular degeneration by carotenoids and antioxidant vitamins. *Am. J Clin. Nutr.* 1995; 62: 1448-1461.
101. Shidfar F., Agah S., Ekhlasi G. et al. Lycopene as adjunctive therapy for Helicobacter pylori eradication-a quasi-control trial. *J. Complement. Integr. Med.* 2012; 9: 14-21.
102. Christensen K., Lowler T., Mares J. Dietary Carotenoids and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease among US Adults, NHANES 2003-2014. *Nutrients*. 2019; 11: 1101-1108.
103. Mounien L., Tourniase F., Landrier J.F. Anti-obesity effect of carotenoids-direct impact on adipose tissue and adipose tissue-driven indirect effects. *Nutrients*. 2019; 11: 1562-1567.
104. Rao A.V., Agarwal S. Role of lycopene as antioxidant carotenoids in the prevention of chronic disease. A review. *Nutr. Res.* 1999; 19: 305-323.
105. Stephen I.D., Coetzee P., Perrett D.I. Carotenoids and melanin pigment coloration affect perceived human health. *Evolution and human behavior*. 2011; 33: 216-227.

Информация об авторах / Information about the authors

Я.И. Яшин – д.х.н., профессор, научный консультант компании «Интерлаб», Москва, Россия

А.Я. Яшин – к.х.н., старший научный сотрудник ООО «Институт аналитической токсикологии», Москва, Россия

Ya.I. Yashin – Dr.Sci. (chemistry) professor, Scientific Consultant of Interlab, Moscow, Russian Federation, e-mail: yashin@scietegra.com

A.Ya. Yashin – Dr.Sci. (chemistry), Senior Researcher, Institute of Analytical Toxicology LLC, Moscow, Russian Federation

Статья поступила в редакцию 13.10.2022; одобрена после рецензирования 16.11.2022; принята к публикации 23.11.2022.

The article was submitted 13.10.2022; approved after reviewing 16.11.2022; accepted for publication 23.11.2022.