



腈、二氯甲烷,色谱纯试剂。

**1.1.3 主要仪器设备。**DZF 6030 真空干燥箱,高速粉碎机,恒温水浴锅,旋转蒸发仪,722G 可见分光光度计,电子分析天平,Thermo 高效液相色谱仪,UV2550 型紫外-可见分光光度计。

## 1.2 方法

**1.2.1 南瓜色素提取**<sup>[7-8]</sup>。将新鲜南瓜洗净后去皮、籽、瓤后切片,置于 60 ℃ 真空干燥箱中干燥 24 h。将干燥后的南瓜片用高速粉碎机粉碎处理,过 20 目筛得到干燥南瓜粉。精确称取各品种干燥南瓜粉 0.5 g,置于 100 ml 容量瓶中,每个品种取 3 个平行,加入无水乙醇定容至刻度,超声波提取 2 h,避光静置 24 h 后取上清液稀释 5 倍即作为色素待测溶液。

**1.2.2 测定波长的选择。**取 β-胡萝卜素标准品配制浓度为 2.5 μg/ml 的标准溶液,通过紫外-可见分光光度计在波长 400~600 nm 范围内进行光谱扫描,确定最大吸收波长。

**1.2.3 南瓜色素色价测定。**将“1.2.1”中制备的所有南瓜色素溶液在最大吸收波长处测定吸光度,计算各品种南瓜色素的色价。

$$E = A \times F / 100m$$

式中, $E$  为色价,即单位质量原料的提取物在 1% 浓度以 1 cm 比色皿在最大吸收峰处的吸光度; $A$  为实测试样的吸光度, $F$  为稀释倍数, $m$  为试样质量(g)。

**1.2.4 南瓜色素 HPLC 分析。**色谱条件:色谱柱 Acclaim™ 120 C<sub>18</sub> (4.6 × 250 mm, 5 μm),流动相(甲醇:二氯甲烷:乙腈:水 = 38:32:29:1, V/V),检测波长 450 nm,检测温度 25 ℃,进样量 20 μl。

**1.2.5 南瓜色素最佳提取条件确定**<sup>[9-10]</sup>。结合“1.2.3”和“1.2.4”的结果,筛选出南瓜色素提取条件研究的品种。以筛选出的南瓜品种为原料,通过单因素试验对不同提取溶剂、不同料液比、不同提取温度、不同提取时间进行试验,确定南瓜色素的最佳提取条件。

## 2 结果与分析

**2.1 测定波长的选择** 按照“1.2.2”操作步骤,取浓度为 2.5 μg/ml 的 β-胡萝卜素标准溶液在波长 400~600 nm 范围内进行光谱扫描,结果显示最大吸收波长为 450 nm,故测定波长选择为 450 nm。

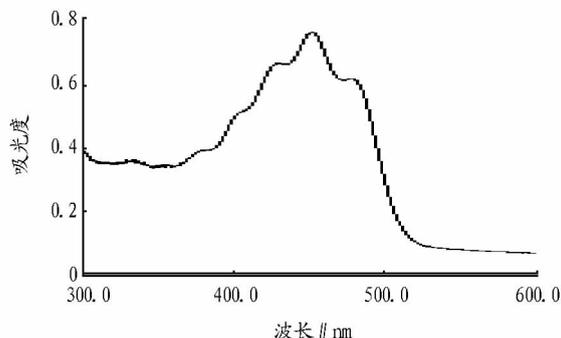


图2 β-胡萝卜素标准溶液的吸收光谱

**2.2 不同品种南瓜色素色价** 将“1.2.1”中制备的所有南瓜色素待测溶液在 450 nm 波长处测定吸光度,根据公式计

算各品种南瓜的色价,测定结果如表 1。

由表 1 可知,不同南瓜品种的色素含量差异较大,油美-9-5-1 的色素含量最高,油美 14-1 色素含量最低。

表 1 不同品种南瓜色素的色价

编号	品种名称	色价 E	编号	品种名称	色价 E
1	香-1	2.78	18	广♀-1-2-1	1.92
2	油美-9-5-1	4.15	19	J-2	2.14
3	白沙♂-1	1.40	20	J-1	2.10
4	癩-1	2.34	21	J-6	1.97
5	中国南瓜♂	2.05	22	J-4	1.50
6	JHX-11	1.92	23	2013-152♂	1.05
7	成功	2.37	24	J-12	1.22
8	兴♂-8-1-1	1.64	25	兴♀(海)-6-2	2.99
9	JHX-12	2.55	26	2003-2	3.09
10	J-5	2.03	27	兴♂-1	2.24
11	韩国♂	1.00	28	JHX-13	2.53
12	组合 29	2.41	29	油美 14-1	0.95
13	组合 33	1.98	30	黄金二号	3.33
14	兴♂-11-1	1.34	31	组合 21	2.93
15	特制♀	3.51	32	组合 25	2.97
16	早蜜本	1.67	33	组合 31	2.54
17	JHX-20	2.47	34	金韩♂-1	2.64

**2.3 南瓜色素提取物 HPLC 分析结果** 色谱条件:流动相为甲醇:二氯甲烷:乙腈:水 = 38:32:29:1, V/V),检测波长 450 nm,检测温度 25 ℃,进样量 20 μl。

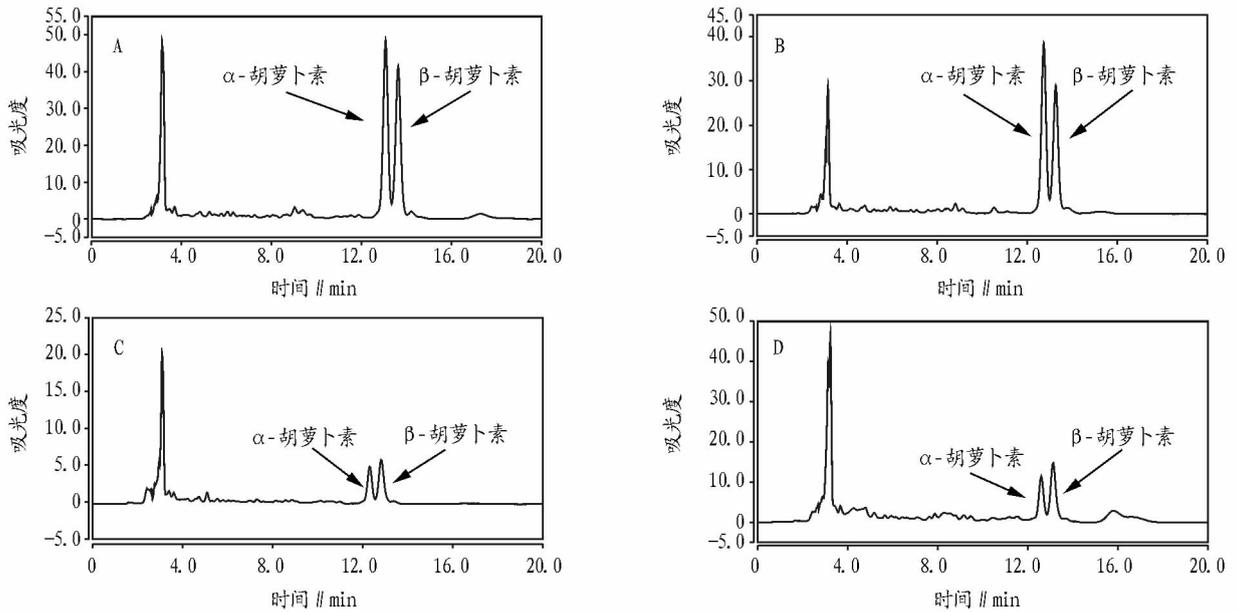
HPLC 结果显示,不同品种的南瓜 β-胡萝卜素含量差别较大,其中油美-9-5-1 中 β-胡萝卜素含量最高。β-胡萝卜素为南瓜中主要色素,结合色价测定结果,最终确定油美-9-5-1 色素含量最高,作为南瓜色素提取的目标品种。

## 2.4 南瓜色素提取条件单因素试验

**2.4.1 提取溶剂的确定。**以筛选出的南瓜品种油美-9-5-1 为原料,分别称取 4 份干燥南瓜粉,每份 0.5 g,在其他条件相同的情况下分别加入 100 ml 不同的提取溶剂,60 ℃ 恒温水浴回流提取后稀释相同倍数。避光静置,待提取液澄清后取上清液在 450 nm 波长下测定吸光度,以提取溶剂作为空白。结果得出,提取溶剂石油醚、乙醇、丙酮、二氯甲烷的提取液吸光度依次为 0.451、0.601、0.567、0.538。由此可知,石油醚提取效果较差,不宜作为提取溶剂。乙醇、丙酮效果较好,但丙酮挥发性强且有剧毒性,故选择乙醇作为提取溶剂。

**2.4.2 料液比的确定。**准确称取 4 份干燥南瓜粉,每份 2.0 g,在其他条件相同的情况下,分别按照料液比(南瓜重量与提取溶剂体积比)1:10、1:20、1:30、1:40 g/ml 加入无水乙醇,60 ℃ 恒温水浴回流提取 2 h,冷却后稀释至相同体积,离心,取上清液用 722G 可见分光光度计在 450 nm 波长下测定吸光度,以无水乙醇作为空白。结果得出在料液比为 1:10、1:20、1:30、1:40 g/ml 的条件下,提取液吸光度依次为 0.266、0.353、0.282、0.277。由此可知,料液比 1:20 g/ml 的提取效果最佳,故选择 1:20 g/ml 作为最佳提取料液比。

**2.4.3 提取温度的确定。**准确称取 4 份干燥南瓜粉,每份 2.0 g,在其他条件相同的情况下,按照料液比(南瓜重量与



注:A. 油美-9-5-1;B. 香-1;C. 油美 14-1;D. J-4。

图3 部分南瓜色素提取物样品的 HPLC 图谱

提取溶剂体积比)1:20 g/ml 加入无水乙醇,分别在 20、40、60、80 °C 条件下恒温水浴回流提取 2 h。待冷却后取上清液稀释 10 倍,用 722G 可见分光光度计在 450 nm 波长下测定吸光度,以无水乙醇作为空白。结果得出,提取温度为 20、40、60、80 °C 时,提取液吸光度依次为 0.513、0.619、0.637、0.687。由此可知,80 °C 时提取液的吸光度最大,因此选用 80 °C 作为最适提取温度。

**2.4.4 提取时间的确定。**准确称取 4 份干燥南瓜粉,每份 2.0 g,在其他条件相同的情况下,按照料液比(南瓜重量与提取溶剂体积比)1:20 g/ml 加入无水乙醇,在 80 °C 条件下恒温水浴回流提取 2 h。待冷却后取上清液稀释相同倍数,用 722G 可见分光光度计在 450 nm 波长下测定吸光度,以无水乙醇作为空白。结果得出,提取时间为 2、4、6、8 h 时,提取液的吸光度依次为 0.458、0.511、0.516、0.518。由此可知,在提取时间达到 4 h 以后提取液的吸光度变化不大,故提取时间选择为 4 h。

### 3 讨论

该研究通过对 34 个不同品种南瓜中色素色价的测定及分析比较,得出所有品种中油美-9-5-1 的色素含量最高,油美 14-1 色素含量最低。对不同品种南瓜的色素提取物进行 HPLC 分析可知,不同品种南瓜之间 α-胡萝卜素和 β-胡萝卜素的含量不同,相互之间差异较大。通过色价和 HPLC 对比分析,最终筛选出油美-9-5-1 作为南瓜色素提取条件单因素试验的品种。以油美-9-5-1 为材料,通过单因素试验确定了南瓜色素的提取条件:采用乙醇作为提取溶剂,料液比 1:20 g/ml,提取温度 80 °C,提取时间 4 h。因南瓜中色素对光敏

感,见光易分解,在提取过程中应当避光处理,所有试验应当尽快在较短时间内完成以保证结果的准确性。

β-胡萝卜素具有良好的维生素 A 原的活性,能够改善心血管机能,具有抗癌、抗衰老的生理作用。食用 β-胡萝卜素含量较高的食品不仅可以防止缺乏维生素 A 引起的各种疾病,还能降低心脏病、癌症等疾病的发病率<sup>[11]</sup>。根据 34 种南瓜色素提取物的 HPLC 分析结果可知,不同品种中 β-胡萝卜素含量不同,相互之间差异较大,可为南瓜品种筛选提供依据。该研究对南瓜中色素的应用尤其是 β-胡萝卜素的应用具有参考作用。

### 参考文献

- [1] 尤新. 天然食用色素和功能[J]. 中国食品添加剂,2002(5):1-3.
- [2] 赵婧,袁驰,周春丽,等. 南瓜多糖降血糖作用研究进展[J]. 食品研究与开发,2014,35(7):108-110.
- [3] 陈有根,张荣,胡琴. 新鲜果蔬中 β-胡萝卜素的快速测定[J]. 食品科学,2008,29(3):92-97.
- [4] SHETE V, QUADRO L. Mammalian metabolism of β-carotene: gaps in knowledge [J]. *Nutrients*,2013,5(12):4849-4868.
- [5] VAN LOO-BOUWMAN C A, NABER T H J, MINEKUS M, et al. Food matrix effects on bioaccessibility of β-carotene can be measured in an in Vitro gastrointestinal model [J]. *J Agric Food Chem*,2014,62(4):950-955.
- [6] 汪廷彩. 南瓜黄色素中叶黄素的纯化及特性研究[D]. 杭州:浙江大学,2004.
- [7] 张建华,胡飞,陈火英. 南瓜色素的提取及稳定性研究[J]. 上海农学报,2000,18(2):142-144.
- [8] 郑桂萍,李彦平. 南瓜果肉色素的提取及稳定性研究[J]. 生物技术,1995,5(1):44-45.
- [9] 孙静亚,王惠君,朱赞清. 南瓜色素的提取及理化性质的研究[J]. 现代食品科技,2005(1):49-52.
- [10] 杨莉,白涛,侯亮来. 南瓜黄色素的提取工艺优化及稳定性研究[J]. 应用化工,2014,43(11):1993-1995,1999.
- [11] 王景穿,庞广景. β-胡萝卜素的抗肿瘤作用及其分子机制研究进展[J]. 食品科学,2008,29(10):665-669.