DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20260415007
引用格式: 党荔萍, 黄惠娴, 陈建, 等. 肉桂多酚的提取纯化工艺优化及其体外活性研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(18): 111–122.
Dang Liping, Huang Huixian, Chen Jian, et al. Optimization of extraction and purification process of *Cinnamomum cassia* Presl polyphenols and study on its *in vitro* activities [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(18): 111–122. (in Chinese with English abstract).

肉桂多酚的提取纯化工艺优化及其体外活性研究

党荔萍[1,2], 黄惠娴[1,2], 陈　建[1,2], 焦春伟[1,2], 刘健文[1,2], 谢意珍[1,2*]

(1. 广东粤微生物科技有限公司, 肇庆　526000; 2. 广东粤微食用菌技术有限公司, 广州　510663)

摘　要: 目的　研究肉桂多酚的提取、纯化工艺及其体外活性。**方法**　采用水提取结合微滤及超滤膜分离的提取纯化工艺, 制备高多酚含量、低香豆素的肉桂多酚提取物(*Cinnamomum cassia* Presl polyphenol extract, CPE)。**结果**　CPE 多酚含量为 48.3%, 香豆素含量为 0.022 mg/g; 相较于普通水提工艺, CPE 的多酚含量提高 213.5%, 其中原花青素 B_1 和 B_2 总含量提高 148.7%, 香豆素含量降低 77.08%; 体外实验表明, 相比于普通肉桂水提物, CPE 对 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)和 2,2'-联氮-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸阳离子[2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical cation, $ABTS^{+}$]自由基清除能力、铁离子和总还原活性均显著增强; 对 *α*-淀粉酶和 *α*-葡萄糖苷酶表现出更强的抑制能力。**结论**　本研究建立的提取纯化工艺显著提高了肉桂多酚的纯度, 获得的 CPE 表现出更强的体外抗氧化活性与碳水化合物消化酶抑制能力。

关键词: 肉桂多酚; 成分分析; 抗氧化活性; 酶抑制活性
中图分类号: TS201.2　　**文献识别码:** A　　**文章编号:** 2095–0381(2026)18–0111–12

Optimization of extraction and purification process of *Cinnamomum cassia* Presl polyphenols and study on its *in vitro* activities

DANG Li-Ping[1,2], HUANG Hui-Xian[1,2], CHEN Jian[1,2], JIAO Chun-Wei[1,2], LIU Jian-Wen[1,2], XIE Yi-Zhen[1,2*]

(1. *Guangdong Yuewei Biotechnology Co., Ltd., Zhaoqing* 526000, *China*; 2. *Guangdong Yuewei Edible Fungi Technology Co., Ltd., Guangzhou* 510663, *China*)

ABSTRACT: Objective　To investigate the extraction and purification processes of *Cinnamomum cassia* polyphenols and assess its *in vitro* biological activities. **Methods**　A water extraction process combined with microfiltration and ultrafiltration membrane separation was employed to prepare a high-polyphenol, low-coumarin *Cinnamomum cassia* polyphenol extract (CPE). **Results**　The CPE contained 48.3% polyphenols and 0.022 mg/g coumarin. Compared with conventional aqueous extracts, the polyphenol content of CPE increased by 213.5%; the total content of procyanidin B_1 and B_2 increased by 148.7%, and the coumarin content decreased by 77.08%. *In vitro* experiments demonstrated that,

收稿日期: 2026-04-15
基金项目: 广东省乡村振兴战略专项(2024CXTD04); 广东省海外名师项目(MS202600098)
第一作者: 党荔萍(2001—), 女, 硕士, 主要研究方向为药食同源物质活性研究与开发。E-mail: 13697717921@163.com
***通信作者:** 谢意珍(1975—), 女, 研究员, 主要研究方向为食药用菌资源高效利用。E-mail: xyzgdim@sina.com

compared with conventional aqueous extracts, CPE showed significantly stronger scavenging capacities for 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) and 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical cation ($ABTS^+$), along with improved iron chelating ability and total reducing power. CPE exhibited stronger inhibitory activity against *α*-amylase and *α*-glucosidase. **Conclusion** The extraction and purification processes established in this study greatly improve the purity of *Cinnamomum cassia* polyphenols, and the obtained CPE exhibits stronger *in vitro* antioxidant activity and inhibitory capacity against carbohydrate digestive enzymes.

KEY WORDS: *Cinnamomum cassia* Presl polyphenols; component analysis; antioxidant activity; enzyme inhibitory activity

0 引 言

肉桂, 又称中国肉桂, 为樟科植物肉桂(*Cinnamomum cassia* Presl)的干燥树皮。肉桂为典型的热带及亚热带树种樟科植物, 喜温暖湿润气候, 最适生长温度为 26~30 ℃, 相对湿度≥70%[1]。由于独特的丘陵地形、适宜的红壤生境及充沛的雨量, 中国华南两广地区盛产肉桂, 其总产量占全国的 95%[2], 成为我国最重要的产区。在养生补益方面, 肉桂可与北方出产的人参并列为顶级滋补珍品, 素有南桂北参之说。肉桂于 2002 年被国家卫生部列入药食同源目录, 兼具营养保健与药用价值, 安全性高, 应用广泛。本品多于秋季进行采剥, 经阴干及传统炮制工艺加工制得。肉桂性大热, 味辛、甘, 归肝、肾、脾、心经。其药用历史最早记载于《神农本草经》, 被列为上品, 具有补中益气、利关节、主结气温中补阳之功; 且在《金匮要略》中亦有用其治疗消渴等相关症状的记载。

肉桂富含多种化学成分, 根据其物理性质可分为挥发性和非挥发性两大类, 其中肉桂醛和肉桂多酚分别是这两类物质中发挥活性的物质基础。非挥发性肉桂多酚主要包括原花青素类、酚酸类、黄烷-3-醇单体及低聚体等[3]。原花青素是肉桂多酚发挥生物活性的物质基础, 以二聚体、三聚体以及四聚体为主[4]。与多数植物不同, 肉桂具有独特的 A 型分子间键合结构的原花青素, 这种双重共价键连接使其具有较高的化学稳定性和生物活性[5]。在提取工艺方面, 目前多采用乙醇等水醇溶液对肉桂多酚进行浸提, 并常联合微波或超声辅助技术以提高得率, 常规水醇粗提物中的多酚含量通常在 300~400 mg GAE/g[6]。

研究表明, 肉桂提取物(*Cinnamomum cassia* extract, CE)可显著降低II型糖尿病大鼠的空腹血糖、胰岛素抵抗指数以及口服糖耐量的曲线下面积[7]。临床研究的随机对照试验显示, 连续 60 d 每日补充 1~6 g 肉桂粉, 可使II型糖尿病患者空腹血糖降低 18%~29%; 荟萃分析结果亦表明肉桂干预能显著降低糖化血红蛋白的水平[8]。鉴于肉桂良好的降糖活性, 肉桂相关产品常被用于糖尿病患者的日常辅助干预。但需重视的是, 肉桂中的苯丙素类物质—香豆素在肝脏经 CYP450 酶系代谢后会生成具有细胞毒性的反应性中间体(如邻羟基苯乙醛), 长期蓄积可引发严重的氧化应激与肝实质细胞损伤[9]。因此, 欧洲食品安全局将其每日耐受摄入量限定为 0.1 mg/kg•BW。中国肉桂虽富含肉桂多酚, 但常伴有高含量的香豆素(平均大于 3 mg/g)[10]。糖尿病等慢性代谢性疾病需要长期干预, 直接服用传统肉桂粉或粗提物易导致患者因香豆素摄入过多而加重肝脏负担。

鉴于此, 制备高活性与安全性的肉桂多酚, 已成为突破肉桂产品开发与安全应用的关键前提。本研究以开发安全、高效的天然降糖原料为目的, 开展肉桂多酚的提取与纯化工艺研究。通过优化提取方法并结合膜分离纯化技术, 制备出高多酚含量、低香豆素的肉桂多酚提取物(*Cinnamomum cassia* Presl polyphenol extract, CPE)并系统评价其体外抗氧化活性和碳水化合物消化酶抑制能力, 为进一步研究肉桂多酚降糖作用机制提供理论依据, 对肉桂多酚天然降糖功能食品或辅助药物的开发应用具有重要指导意义。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

肉桂(广东粤微生物科技有限公司); 无水柠檬酸(食品级, 山东英轩实业股份有限公司); 食用碱(食品级, 滨化集团股份有限公司); 纤维素酶(20000 U/g, 南宁庞博生物工程有限公司); 没食子酸标准品、芦丁标准品、香豆素标准品(纯度≥98%)、对硝基苯-*β*-*D*-吡喃葡萄糖苷(4-nitrophenyl *β*-*D*-glucopyranoside, PNPG)、阿卡波糖(生物技术级)、*α*-葡萄糖苷酶(40~50 U/mg)、3,5-二硝基水杨酸(3,5-dinitrosalicylic acid, DNS)(上海源叶生物科技有限公司); 葡萄糖标准品(纯度≥98%, 广州金华大化学试剂厂); 福林酚试剂(生物技术级, 上海腾准生物科技有限公司); 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)、2,2'-二氮-双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)铵盐[2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical cation, ABTS]、2,4,6-三吡啶基三嗪(2,4,6-tri-2-pyridyl-s-triazin, TPTZ)(纯度≥98.5%, 北京索莱宝科技有限公司); *α*-淀粉酶(40~50 U/mg, 美国 Sigma-Aldrich 公司); 氯化铁、

碳酸钠、氯化铝、浓硫酸、可溶性淀粉(分析纯, 天津大茂化学试剂厂); 三氯乙酸、苯酚、亚硝酸钠、氯化钠、铁氰化钾、氢氧化钠(分析纯, 广州化学试剂厂); 乙醇(分析纯)、乙腈、甲醇、磷酸、甲酸(色谱级)(上海阿拉丁生化科技股份有限公司); *L*-抗坏血酸(vitamin C, VC)(分析纯, 上海麦克林生化科技股份有限公司); 硫酸亚铁(纯度≥98%, 上海毕得医药科技股份有限公司); 1×磷酸盐缓冲液(phosphate-buffered saline, PBS)干粉(广州永津生物科技有限公司)。

1.2　仪器与设备

ZORBAX Eclipse Plus C_{18} 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)、G7111A 超高效液相色谱仪(美国安捷伦科技有限公司); HA120-50-02 超临界流体萃取装置(华安超临界萃取有限公司); ZNHW 电热恒温水浴锅(广州天河仪器设备有限公司); SP-TQ1401 DHG-400 碟式离心机(广州富一液体分离技术有限公司); SP-LX0101 350L 卧螺式离心机(浙江三联环保科技股份有限公司); SJM-14-57#陶瓷复合膜设备、SJM-DGN-060 进口多功能膜设备(合肥世杰膜工程有限责任公司); RE-6000A 旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂); Alpha 1-4 LDplus 真空冷冻干燥机[德采实仪器设备(北京)有限公司]; BSA224S电子分析天平(精度0.1 mg, 赛多利斯科学仪器有限公司); NANODROP ONE 超微量紫外分光光度计、Vanquish Horizon UHPLC 超高效液相色谱系统、Orbitrap Fusion Tribrid 超高分辨质谱仪(美国赛默飞世尔科技公司); infinite M200 PRO 酶标仪(帝肯集团有限公司); L420 离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司); MIKRO 120 型离心机[海蒂希仪器(南京)有限公司]; SA8 涡旋混合仪(拜欧科特有限公司)。

1.3　实验方法

1.3.1　CPE 的制备

本研究分别采用纯水法、碱法、酸法和酶法对肉桂多酚进行提取, 以多酚提取率为主要指标, 筛选出最佳的提取工艺。

(1)原料处理

称取干燥肉桂原料 10 kg, 经机械粉碎后过 20 目筛, 得到肉桂粗粉。采用超临界 CO_2 流体萃取技术对肉桂粉进行脱油处理, 以除去肉桂醛和肉桂酸等脂溶性成分, 萃取工艺条件设定为: 萃取温度 40 ℃, 萃取压力 25 MPa、CO_2 流速 10 L/h, 萃取时间 2 h。收集萃取釜中的残渣, 即为脱油肉桂粉。

(2)纯水提取法

准确称量脱油肉桂粉 100 g, 按 1:20 (*m*:*V*)的料液比加入超纯水, 在 100 ℃下回流提取 2 h。待提取液冷却后, 用 80 目纱布过滤, 于 4000 r/min 下离心 20 min, 取上清液备用。

(3)碱法提取

操作同 1.3.1(2), 投料时另加入 1%肉桂粉质量的食用碱进行碱法提取。

(4)酸法提取

操作同 1.3.1(2), 投料时另加入 1%肉桂粉质量的柠檬酸进行酸法提取。

(5)酶法提取

准确称取脱油肉桂粉 100 g, 按 1:20 (*m*:*V*)的料液比加入超纯水, 加入 1%肉桂粉质量的纤维素酶, 调节 pH 为 4.5, 在 55 ℃下酶解 2 h。酶解结束后, 迅速升温至 100 ℃灭酶 1 h, 冷却后用 80 目纱布过滤, 于 4000 r/min 下离心 20 min, 取上清液备用。

(6) CE 的制备

从上述提取方法中筛选出最优工艺, 并将最优提取工艺得到的提取液在 60 ℃条件下真空浓缩至膏状, 随后进行真空冷冻干燥, 碾碎, 得到棕黄色粉末状 CE, 置于干燥器中备用。

(7)纯化工艺

采用膜分离技术对最优提取工艺得到的提取液进行纯化富集。将提取液依次通过孔径为 200 nm 的微滤膜(去除大分子悬浮微粒)和截留分子量为 5 kDa 的超滤膜。收集 5 kDa 超滤膜的截留液, 以截留并富集提取液中的肉桂多酚活性组分, 同时去除部分小分子杂质及水分。收集截留液并在 60 ℃条件下真空浓缩至膏状, 随后进行真空冷冻干燥, 碾碎, 得到红棕色粉末状 CPE, 置于干燥器中备用。

1.3.2　CE 和 CPE 的主要化学成分含量测定

(1)总酚含量的测定

采用福林-酚比色法测定所得样品的总酚含量。

没食子酸标准曲线的绘制: 精确称取没食子酸标准品 20 mg, 用蒸馏水溶解并定容至 100 mL, 配制成质量浓度为 200 mg/L 的没食子酸标准母液。分别吸取标准母液 0.0、0.2、0.4、0.6、1.0、1.5、2.0、2.5 mL 于 10 mL 容量瓶中, 加适量蒸馏水稀释, 为标准工作液。分别取上述各浓度梯度的标准工作液 1 mL 于 10 mL 比色管中, 加入 0.5 mL 福林酚试剂, 摇匀反应片刻, 随后加入 2.0 mL 7.5% (*w*:*V*)碳酸钠溶液, 加蒸馏水定容至刻度。涡旋混匀后置于 70 ℃水浴中反应 30 min, 流水冷却至室温, 于 765 nm 波长处测定其吸光度值。以没食子酸含量为横坐标(*X*, mg), 吸光度值为纵坐标(*Y*), 绘制标准曲线, 方程为 $Y=12.225X-0.0203$ ($r^2=0.9995$)。

样品测定: 精确称取样品 20 mg, 溶解于 100 mL 蒸馏水中, 配制成 0.2 mg/mL 的待测液。吸取 1.0 mL 待测液于比色管中, 按照上述标准曲线绘制的相同步骤进行操作。冷却后于 765 nm 处测定吸光度, 代入方程计算样品中的总酚含量。

(2)总糖含量的测定

采用苯酚-硫酸法测定样品中的多糖含量。

葡萄糖标准曲线的绘制: 精密称取干燥至恒重的葡萄糖标准品 50 mg, 用蒸馏水溶解定容至 500 mL, 得到质量浓度为 100 μg/mL 的葡萄糖标准溶液。分别吸取标准溶液 0.0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 于比色管中, 依次补加蒸馏水至1.0 mL。并在各管中加入1.0 mL 5%苯酚溶液和7.0 mL浓硫酸, 振荡混匀, 室温静置反应 30 min。在 490 nm 波长处测定吸光度。以葡萄糖质量为横坐标(X, mg), 吸光度为纵坐标(Y), 绘制标准曲线, 方程为 Y=7.3131X+0.0006 (r^2=0.9999)。

样品测定: 取适量样品配制成 1%的样液。取 5.0 mL 样液加 25 mL 无水乙醇, 振荡混匀后于 4 ℃醇沉过夜。次日以 4000 r/min 离心 15 min, 弃去上清液, 沉淀用蒸馏水复溶并定容至 40 mL。吸取 1.0 mL 复溶待测液于 10 mL 比色管, 按上述标准曲线绘制的相同步骤加入苯酚和浓硫酸反应, 于 488 nm 波长处测定吸光度, 代入方程计算样品中多糖含量。

(3)总黄酮含量的测定

采用亚硝酸钠-硝酸铝-氢氧化钠比色法测定样品的总黄酮含量。

芦丁标准曲线的绘制: 准确称取芦丁标准品 20 mg, 用 60%乙醇溶解并定容至 100 mL, 制得 200 mg/L 的芦丁标准母液。准确吸取标准母液 0.0、0.5、0.8、1.0、1.3、1.5、1.8、2.0 mL 分别置于 10 mL 比色管中, 补加 60%乙醇溶液至总体积为 5.0 mL, 加 0.3 mL 5%亚硝酸钠溶液, 涡旋混匀, 静置 8 min; 加入 0.3 mL 10%氯化铝溶液, 混匀, 静置10 min; 最后加入4.0 mL 4%氢氧化钠溶液, 用60%乙醇定容至刻度。涡旋混匀后静置 10 min, 于 510 nm 波长处测定吸光度。以芦丁质量浓度为横坐标(X, mg/mL), 吸光度为纵坐标(Y), 绘制标准曲线, 方程为 Y=0.0106X–0.0065 (r^2=0.9991)。

样品测定: 精确称取样品 20 mg, 用 60%乙醇溶解并定容到 100 mL (质量浓度 0.2 mg/mL)。吸取 1.0 mL 待测液按照标准曲线绘制步骤依次加入显色剂反应, 于 510 nm 波长处测定吸光度, 代入方程计算样品中总黄酮含量。

(4)香豆素含量的测定

采用高效液相色谱法测定 CPE 中的香豆素含量。

色谱条件: 色谱柱: ZORBAX Eclipse Plus C_{18}反相色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: A 相 0.5%甲酸水溶液, B 相乙腈; 洗脱程序: 梯度洗脱(表 1); 流速: 1.0 mL/min; 柱温: 30 ℃; 检测波长: 279 nm; 进样量: 20 μL。

香豆素标准曲线的绘制: 准确称取香豆素标准品 10 mg, 用 0.1%-甲酸甲醇溶液溶解并定容至 10 mL, 作为 1000 mg/L 的标准储备液(避光保存)。用甲醇: 水(4:1, V:V)稀释储备液, 配制成浓度分别为 0.2、1.0、5.0、20.0、50.0、100.0 mg/L 的标准工作液。上机测定峰面积, 以香豆素浓度为横坐标(X, mg/L), 峰面积为纵坐标(Y), 绘制标准曲线, 方程为 Y=59.075X+19.93 (r^2=0.9999)。

表 1 香豆素检测梯度洗脱表

Table 1 Gradient elution table of coumarin detection

时间/min	A/%	B/%
0	40	60
6.5	40	60
7.0	10	90
10.0	10	90
10.1	40	60
14.0	40	60

样品前处理及测定: 精确称取样品 1.00 g, 加入 5 mL 蒸馏水, 涡旋振荡 1 min; 加入 20 mL 乙腈, 涡旋振荡 1 min 后超声提取 30 min。向提取液中加入 5 g 氯化钠(盐析作用), 涡旋振荡 2 min, 以 8000 r/min 离心 5 min。吸取上清液至玻璃试管, 于 40℃水浴条件下氮吹至近干。残渣用 1.0 mL 甲醇:水(4:1, V:V)溶液复溶, 稀释一定倍数后, 过 0.45 μm 尼龙微孔滤膜, 滤液上机测定, 将峰面积代入回归方程中计算样品香豆素含量。

1.3.3 CE 和 CPE 的液相色谱-串联质谱技术分析

为进一步探究 CE 和 CPE 的物质基础和成分差异, 本研究采用液相色谱-串联质谱技术(liquid chromatography tandem-mass spectrometry, LC-MS/MS)在负离子模式下对 CE 和 CPE 进行了全扫描和二级质谱分析。

(1)样品溶液的制备

分别精确称量 50 mg CE 和 CPE 粉末, 用 5%乙腈-水溶解并定容至 10 mL, 7000 r/min 离心 10 min 后, 取上清液并用 0.22 μm 尼龙滤膜过滤。

(2)色谱条件

色谱柱: C_{18}柱反向色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: A 相(水/磷酸 99.8:0.2, V:V), B 相(乙腈); 洗脱程序: 梯度洗脱(表 2); 流速: 0.6 mL/min; 柱温: 28 ℃; 检测波长: 280 nm; 进样量: 10 μL; 后运行: 10 min。

表 2 CE、CPE 成分分析梯度洗脱表

Table 2 Gradient elution table for CE and CPE component analysis

时间/min	A/%	B/%
0	95	5
5.00	92	8
10.00	84	16
23.00	84	16
23.01	50	50
30.00	50	50
30.01	30	70
40.00	30	70
40.01	0	100
45.00	0	100

(3)质谱条件

离子源: 电喷雾电离; 极性模式: 正、负离子模式; 扫描范围: 70~1500 *m*/*z*; 鞘气流速 5 L/min, 鞘气温度 325 ℃; 氮气温度 325 ℃, 氮气雾化压力 30 psi; 检测波长: 280 nm; 进样量: 10 μL; 后运行: 10 min; 毛细管电压 3.5 kV, 喷嘴电压 500 V。

1.3.4　CPE 的体外抗氧化活性

本研究以 VC 为阳性对照, 评价 CPE 的体外抗氧化活性。实验设置样品组、样品对照组和空白对照组, 其吸光度值分别记为 As、Ac 和 Ab。将 CPE 样品和 VC 分别用蒸馏水溶解, 配制成质量浓度为 800 μg/mL 的母液。随后进行二倍倍比稀释, 制得浓度梯度分别为 400、200、100、50、25 μg/mL 的系列工作液备用。

(1) DPPH 自由基清除能力测定

采用 96 孔板进行测定。严格按照表 3 所示体系加样, 加样完成后轻微振荡混匀, 置于室温避光反应 30 min。反应结束后, 测定在 517 nm 波长处各孔的吸光度值。DPPH 自由基清除率按照公式(1)计算。

$$清除率/\%=\frac{1-(As-Ac)}{Ab}\times 100\% \quad (1)$$

式中: As 为样品组的吸光度; Ac 为对照组的吸光度; Ab 为空白对照组的吸光度。

表 3　DPPH 自由基清除能力测定反应体系

Table 3　Reaction systems for the DPPH radical scavenging assay

样液名称	样品孔/μL	样品对照孔/μL	空白孔/μL
DPPH 溶液	180	/	180
样品溶液	20	20	/
水	/	/	20
无水乙醇	/	180	/

注: /表示无此数据, 表 4~8 同。

(2) $ABTS^+$自由基清除能力测定

采用 96 孔板法进行测定, 按照表 4 所示体系加样。加液完成后轻微振荡混匀, 置于 30 ℃下避光反应 6 min。测定其在 734 nm 波长处各孔的吸光度值。$ABTS^+$自由基清除率按照公式(1)计算, 每个浓度设置 3 个复孔。

表 4　$ABTS^+$自由基清除能力测定反应体系

Table 4　Reaction systems for the $ABTS^+$ radical scavenging assay

样液名称	样品孔/μL	样品对照孔/μL	空白孔/μL
ABTS 水溶液	180	/	180
样品溶液	20	20	/
水	/	/	20
无水乙醇	/	180	/

(3)铁离子还原能力测定

采用 96 孔板法进行测定, 按照表 5 进行加样, 加液完成后轻微振荡混匀, 于 37 ℃避光反应 30 min, 反应完成后, 立即检测溶液在 593 nm 波长处的吸光度值。以硫酸亚铁物质的量浓度为横坐标(*X*, mmol/L), 吸光度值为纵坐标(*Y*), 绘制标准曲线, 方程为 $Y=0.9267X+0.1288$ ($r^2=0.9991$)。样品的铁离子还原能力(Ferric ion reducing antioxidant power, FRAP)以达到相应吸光度所需硫酸亚铁浓度表示。

表 5　FRAP 测定反应体系

Table 5　Reaction systems for the FRAP assay

样液名称	样品孔/μL	样品对照孔/μL	空白孔/μL	标准孔/μL
TPTZ 工作液	180	/	180	180
样品溶液	20	20	/	/
水	/	/	20	/
工作液溶剂	/	180	/	/
硫酸亚铁标准溶液	/	/	/	20

(4)总还原能力测定

按照表 6 进行加样反应。将混合液置于 50 ℃恒温水浴中反应 20 min, 取出后冰浴快速冷却。加入 1.0 mL 10%三氯乙酸溶液终止反应, 静置 10 min。准确吸取 1.0 mL 上清液, 依次加入 1.0 mL 蒸馏水和 0.2 mL 0.1%氯化铁溶液, 充分混匀。取 200 μL 混合液转移至 96 孔板中, 室温静置 10 min, 测定在 700 nm 波长处的吸光度值, 代入公式(2)计算其总还原力。

$$总还原力=As'-Ac'-Ab' \quad (2)$$

式中: As'为样品组的吸光度; Ac'为对照组的吸光度; Ab'为空白对照组的吸光度。

表 6　总还原能力测定反应体系

Table 6　Reaction system for the total reducing capacity assay

样液名称	样品组/mL	样品对照组/mL	空白组/mL
磷酸盐缓冲液	1.0	/	1.0
1%铁氰化钾溶液	1.0	/	1.0
样品溶液	0.4	0.4	/
水	/	2.0	0.4

1.3.5　CPE 对碳水化合物消化酶的抑制活性

(1) CPE 对 *α*-淀粉酶活性抑制作用

采用 96 孔板法进行测定。按表 7 加样: 实验组加入 30 μL 待测样品和 30 μL *α*-淀粉酶溶液; 样品对照组加入 30 μL 待测样品和 30 μL PBS; 空白组加入 30 μL PBS 和 30 μL *α*-淀粉酶溶液。混合均匀后, 于 37 ℃避光孵育 10 min。随后向各孔加入 60 μL 0.2%可溶性淀粉溶液启动反应, 继续于

37 ℃避光孵育 15 min。反应结束后，立即加入 60 μL DNS 显色剂终止反应。将 96 孔板置于 100 ℃金属浴中加热 5 min 进行显色，取出后冰浴快速冷却至室温。于酶标仪 540 nm 波长处测定吸光度值。代入公式(3)计算样品对 *α*-淀粉酶的抑制率。

$$抑制率/\%=\frac{1-(As''-Ac'')}{Ab''}\times 100\% \quad (3)$$

式中: As''为样品组的吸光度; Ac''为对照组的吸光度; Ab''为空白对照组的吸光度。

表 7 *α*-淀粉酶活性抑制能力测定反应体系
Table 7 Reaction system of determine for inhibition ability of *α*-amylase activity

样液名称	实验组/μL	样品对照组/μL	空白组/μL
待测样品	30	30	/
3 U/mL *α*-淀粉酶溶液	30	/	30
DNS 溶液	60	60	60
0.2%淀粉溶液	60	60	60
去离子水	/	30	30

(2) CPE 对 *α*-葡萄糖苷酶活性抑制作用

采用 96 孔板法进行测定。按照表 8 进行加样: 实验组加入 25 μL 待测样品和 25 μL *α*-葡萄糖苷酶溶液; 样品对照组加入 25 μL 待测样品和 25 μL PBS, 空白组加入 25 μL PBS 和 25 μL *α*-葡萄糖苷酶溶液。混合均匀后，于 37 ℃避光孵育 10 min，随后向各孔加入 50 μL PNPG 溶液启动反应，继续于 37 ℃避光孵育 15 min。反应结束后，加入 100 μL 0.2 mol/L 碳酸钠溶液终止反应。于 405 nm 波长处测定吸光度值，代入公式(3)计算样品对 *α*-葡萄糖苷酶的抑制率。

表 8 *α*-葡萄糖苷酶活性抑制能力测定反应体系
Table 8 Reaction system of determine for inhibition of *α*-glucosidase activity

样液名称	实验组/μL	样品对照组/μL	空白组/μL
待测样品	25	25	/
1 U/mL *α*-葡萄糖苷酶溶液	25	/	25
PNPG 溶液	50	50	50
0.2 mol/L 碳酸钠溶液	100	100	100
PBS	/	25	25

1.4 数据处理

所有实验均重复 3 次，数据以均值±标准偏差表示。采用 GraphPad Prism 9.5 软件进行数据分析和绘图。使用单因素方差分析比较多个组间的差异，事后多重比较采用 Tukey 法。两组间比较采用双尾 Student's *t* 检验，以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 提取工艺的筛选结果

为筛选出最优的提取工艺，本研究在单因素实验基础上，固定料液比和提取时间等条件，考察了纯水、碱法、酸法及酶法 4 种提取工艺对肉桂多酚纯度和提取率的影响，结果如表 9 所示。由表 9 可知，不同提取工艺对多酚的纯度和提取率均有显著影响。在多酚纯度方面，碱法提取、纯水提取和酶法提取所得提取物的多酚含量无显著差异($P>0.05$)，而酸法提取的多酚纯度则显著低于上述 3 种方法($P<0.05$)，仅为(124.28±3.87) mg/g。在多酚提取率方面，碱法提取的提取率最高，为(36.36±0.69)%; 纯水提取和酸法提取的提取率接近，分别为(33.92±0.64)%和(33.01±0.97)%; 酶法提取的提取率最低，为(20.74±0.21)%，显著低于其他 3 种方法($P<0.05$)。

酶法提取的多酚纯度处于中等水平，然而其提取率显著低于其他 3 种方法。Nguyen 等[11]研究发现，用纤维素酶对海藻进行酶辅助提取所得的酚类回收率为 27.02%，显著低于仅用蒸馏水提取的酚类回收率(29.87%)，与本研究结果相似。推测这可能是由于酶解提取的温度较低且为纯水环境，该提取条件下的溶出能力不及高温水提或化学助剂(酸/碱)。碱法提取在多酚纯度和多酚提取率上均表现最佳，这可能是因为在碱性环境下，细胞壁中的纤维素与半纤维素之间的酯键被破坏，促进了结合态的多酚物质溶出[12]。纯水提取在多酚纯度和提取率上与碱法提取相近，无显著性差异($P>0.05$)。此外，纯水提取在纯度上显著优于酸法提取($P<0.05$)，在提取率上显著优于酶法提取($P<0.05$)，说明肉桂多酚在水中具有良好的溶解性。综合考虑纯水提取无需引入酸碱试剂，具有操作简便、绿色环保以及无需后续除杂等优势，本研究最终确定纯水提取为制备肉桂多酚的最佳提取工艺。

表 9 不同提取工艺的多酚纯度与提取率
Table 9 Polyphenol purity and extraction yield for different extraction methods

指标	纯水提取	碱法提取	酸法提取	酶法提取
多酚纯度/(mg/g)	152.86±2.92^{a}	166.24±3.14^{a}	124.28±3.87^{b}	147.51±1.47^{a}
多酚提取率/%	33.92±0.64^{a}	36.36±0.69^{a}	33.01±0.97^{a}	20.74±0.21^{b}

注: 相同字母表示差异不显著($P>0.05$)，不同字母表示差异显著($P<0.05$)。表 10 同。

2.2　CPE 的主要化学成分含量分析

为评估纯化工艺对 CE 化学组成的影响, 本研究测定了纯化前粗提物(CE)和纯化后肉桂多酚(CPE)的主要化学成分含量, 结果如表 10 所示。由表 10 可知, 经纯化后, 相比于 CE, CPE 中的多酚和黄酮含量均显著提高(P<0.05)。其中, 多酚含量从 (154.24±2.54) mg/g 升高至 (483.54±15.57) mg/g, 纯度提高了 213.5%, 总黄酮含量从 (32.69±0.39) mg/g 提升至(91.50±0.28) mg/g，含量提高了 179.9%, 说明膜分离技术纯化工艺能够有效富集肉桂中的酚类物质。同时, 多糖的含量显著下降, 由(422.54±2.36) mg/g 下降至(97.85±1.63) mg/g, 去除率达到 76.84%, 表明在纯化过程中去除了大部分水溶性糖类。香豆素是肉桂原料中主要的潜在风险成分, 文献报道显示, 普通中国肉桂原料中的香豆素含量范围一般处于 1.5~7.0 mg/g 之间[13]。本研究采用纯水提取工艺得到的 CE 中的香豆素含量仅为 (0.096±0.002) mg/g, 远低于原料中的理论含量, 在此基础上, 经纯化处理后的 CPE 中香豆素含量进一步显著降低至 (0.022±0.003) mg/g (P<0.05), 含量降低 77.08%，显著提高了 CPE 的食用安全性。

表 10　CPE 的主要化学成分含量(mg/g)
Table 10　Major chemical constituents content of CPE (mg/g)

样品	多酚	多糖	总黄酮	香豆素
CE	154.24 ±2.54[b]	422.54 ±2.36[a]	32.69 ±0.39[b]	0.096 ±0.002[a]
CPE	483.54 ±15.57[a]	97.85 ±1.63[b]	91.5 ±0.28[a]	0.022 ±0.003[b]

2.3　CE 和 CPE 化学成分的 LC-MS/MS 差异分析

结合数据库匹配与文献对比, CE 和 CPE 中的主要化学成分鉴定结果如表 11、12 所示。图 1 展示了 CE 和 CPE 在负离子模式下的总离子流色谱图。

由图 1A 可知, 纯水提取得到的 CE 物质组分较复杂, 在色谱洗脱 0~2 min 时, 出现一组高响应强度的色谱峰(最高强度达 4.5×10^8 以上), 主要为苏糖酸、奎尼酸、富马酸、琥珀酸等强极性有机酸。在 5~9 min 洗脱区间, 密集分布着许多绝对信号相应较弱的色谱峰, 整体的绝对信号响应较弱(最高峰强度约 1.0×10^8), 表明为经纯化的 CE 中, 目标多酚类物质的相对浓度和纯度较低。

经纯化后, CPE 的色谱轮廓发生了显著的变化(图 1B)。0~2 min 的洗脱区间内, 杂质峰强度明显下降, 最高峰强度降至约 3.0×10^8, 说明超滤膜分离纯化工艺能有效剔除部分小分子杂质(如有机酸)。在 5~9 min 的洗脱区, 目标色谱峰的绝对信号强度显著增强。CPE 图谱保留时间位于 5.8 min 和 6.4 min 附近的核心大分子组分, 分别为原花青素 B_1 和苯乳酸-O-戊糖基己糖苷的变化最为明显, 其绝对响应强度分别增长至将近 2.0×10^8 与 1.6×10^8。其中原花青素 B_1 和原花青素 B_2 互为同分异构体, 具有高度相似的质谱响应因子及生物活性。本研究将其峰面积合并计算, 以表征提取物中原花青素二聚体的总体水平。如图 2 所示, 经过 5 kDa 超滤纯化后, CPE 中原花青素二聚体的总绝对响应峰面积达到了 CE 的 2.5 倍, 其含量提高了 148.7%, 这表明超滤纯化工艺对目标大分子多酚类物质具有高效富集浓缩作用。

2.4　CE 和 CPE 的体外抗氧化活性比较

由于抗氧化作用机制多样, 单一体外测定方法难以全面评估, 需要结合多种方法进行综合考量, 以克服单一实验体系的局限性, 反映样品真实的抗氧化潜力[14]。本研究分别采用 DPPH 法、$ABTS^+$法、FRAP 和总还原能力法, 从自由基清除能力和还原能力两个方面考察 CPE 的体外抗氧化活性。其中 DPPH 法和 $ABTS^+$法用于评估 CPE 对自由基的清除能力, FRAP 法和总还原能力法则用于评估 CPE 的供电子能力。本研究以 VC 为阳性对照, 考察不同浓度 CPE 在上述体系中的抗氧化效果, 结果如下。

表 11　CE 的化学成分(负离子模式)
Table 11　Chemical composition of CE (anion mode)

序号	化合物	质量偏差/ppm	质荷比	保留时间/min	峰面积
1	胆碱	–0.41	104.10700	0.761	53474661.19
2	*L*-苏糖酸	–6.42	135.02900	0.887	23505285.13
3	奎宁酸	–6.52	191.05524	0.906	253434340.07
4	延胡索酸	–6.94	115.00290	0.992	15468240.57
5	柠檬酸	–4.20	191.01890	1.109	301138703.32
6	琥珀酸	–7.04	117.01850	1.325	11139535.12
7	对羟基苯甲酸	–6.33	137.02354	1.591	7532011.16
8	*δ*-葡萄糖酸内酯	–4.77	177.03960	1.721	12029202.80
9	儿茶酚	–7.76	109.02865	2.812	7869856.51
10	原儿茶酸	–6.32	153.01840	2.817	33301569.39
11	4-甲氧基苯甲醛	–1.11	137.05956	5.226	9636006.21
12	原花青素 B_2	1.98	577.13336	5.863	421275172.87

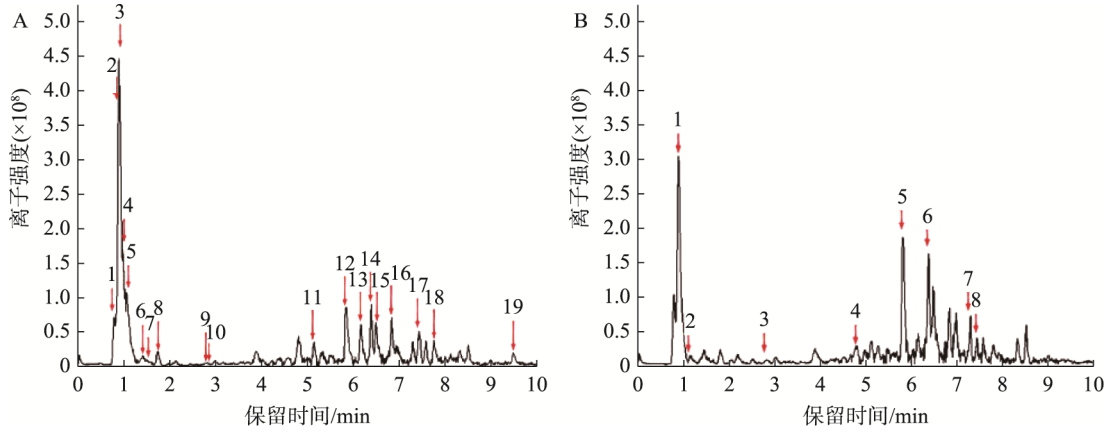
表 11(续)

序号	化合物	质量偏差/ppm	质荷比	保留时间/min	峰面积
13	儿茶素	–3.33	289.07070	6.167	401426082.73
14	苯乳酸-O-戊糖基己糖苷	–3.47	459.14920	6.389	133693408.92
15	B 型原花青素五聚体	–4.21	864.18710	6.675	75020978.30
16	香豆酸	–6.21	163.03910	6.854	12525620.38
17	阿魏酸	–5.29	193.04961	7.385	7818138.25
18	苯甲酸	–7.69	121.02856	7.835	8273741.15
19	反式肉桂酸	–5.28	147.04440	9.485	103921155.40

表 12 CPE 的化学成分(负离子模式)

Table 12 Chemical composition of CPE (anionic mode)

序号	化合物	质量偏差/ppm	质荷比	保留时间/min	峰面积
1	蔗糖	–3.11	387.11334	0.879	199767357.60
2	柠檬酸	–4.58	191.01884	1.142	355087573.50
3	原儿茶酸	–6.01	153.01840	2.823	82964792.19
4	原花青素 B_2	–1.17	577.13348	4.703	142865647.30
5	原花青素 B_1	–2.88	577.13348	5.823	904940301.40
6	苯乳酸-O-戊糖基己糖苷	–3.07	459.14938	6.384	257281320.90
7	肉桂醇 C 葡萄糖苷	4.20	559.23816	7.340	130876198.90
8	苯乳酸-O-脱氧己糖基己糖苷	–4.41	473.16452	7.444	73801994.23



注: A 对应表 11; B 对应表 12。

图 1 CE (A)和 CPE (B)在负离子模式下的总离子流色谱图

Fig.1 Total ion chromatogram plots of CE (A) and CPE (B) in negative ion mode

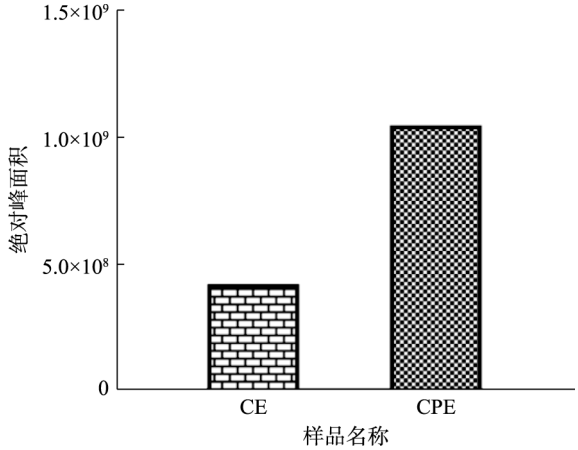


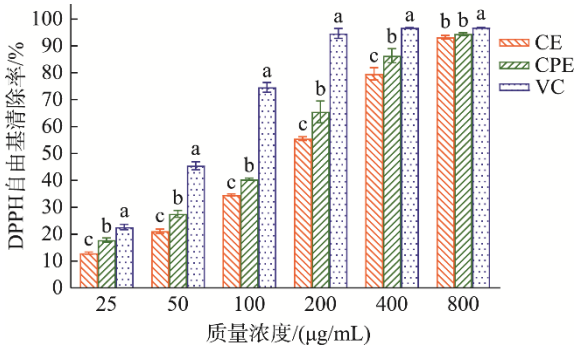
图 2 CE 与 CPE 原花青素二聚体绝对峰面积图

Fig.2 Absolute peak area of procyanidin dimer for CE and CPE

2.4.1 CE 和 CPE 对 DPPH 自由基的清除作用

DPPH 自由基清除实验是评价体外抗氧化活性的经典方法[15], 该法主要通过检测样品对稳定有机自由基 DPPH 的清除作用来反映其供氢能力。如图 3 所示, 在实验质量浓度范围内(25~800 μg/mL), CE 和 CPE 对 DPPH 自由基的清除率随浓度增加而提高, 呈现良好的剂量依赖关系。在低质量浓度(25 μg/mL)时, CE 和 CPE 的清除率相对较低, 分别为 12.92%和 17.81%; 当质量浓度增加至 800 μg/mL 时, CE 和 CPE 的清除率趋于饱和, 分别达到了 93.23%和 94.44%, 差异逐渐缩小, 与阳性对照 VC 的清除能力基本持平。在各浓度下, 各样品清除能力表现为 VC>CPE>CE, 对应的半抑制浓度(50% inhibiting concentration, IC_{50})分别为 63.81、172.67 和 206.05 μg/mL。且在 25~400 μg/mL 质

量浓度下，CPE 的清除效果均显著优于 CE (P<0.05)。这一结果与 Dominguez-Villar 等[16]的研究发现一致，即提取物所表现出的抗氧化活性主要与其酚类物质的含量密切相关。多酚类物质的分子结构中富含酚羟基(-OH)，在反应体系中能够通过氢原子转移机制向 DPPH 自由基提供大量的电子或氢原子，从而将其猝灭[17]。本研究中的 CPE 经膜分离纯化工艺实现了多酚类物质的富集，提取物纯度从 154.24 mg/g 提高至 483.54 mg/g，这与 Díaz-Reinoso 等[18]通过膜分离技术将葡萄酒渣提取物的多酚含量从 0.17 gGAE/g 显著提升至 0.45 gGAE/g 的研究结果相似。经纯化后，CPE 中更高的酚羟基浓度直接提升了对 DPPH 自由基的猝灭效率。



注：相同字母表示同一质量浓度不同差异不显著(P>0.05)，不同字母表示同一质量浓度不同差异显著(P<0.05)。下图同。

图 3　不同质量浓度的 CE、CPE 对 DPPH 自由基的清除率

Fig.3　Scavenging activity of DPPH radicals by CE and CPE at different mass concentrations

2.4.2　CE 和 CPE 对 ABTS$^+$自由基的清除作用

ABTS$^+$自由基清除实验常与 DPPH 法配合使用，以更全面地评价样品的抗氧化水平。如图 4 所示，在 12.5~400.0 μg/mL 的质量浓度范围内，CE、CPE 和 VC 对 ABTS$^+$自由基的清除活性均表现出明显的剂量依赖效应。在最低测试质量浓度(12.5 μg/mL)下，CPE 的清除率为 29.70%，且在 25.0 μg/mL 时显著高于阳性对照 VC (P<0.05)。随着质量浓度的提升，各样品的清除效能迅速增加，而 CPE 的清除率始终显著高于 CE (P<0.05)。经拟合计算，CPE 的 IC_{50} 为 38.85 μg/mL，显著低于 CE 的 47.84 μg/mL (P<0.05)，表明 CPE 对 ABTS$^+$自由基的清除能力更强。

其中，由于 DPPH 受空间位阻影响较大，ABTS$^+$与抗氧化剂的反应速率通常比 DPPH 更快且更彻底，故而 ABTS 反应体系下的 IC_{50} 通常低于 DPPH[19]，本研究结果与该研究结论相一致。此外，虽然 DPPH 和 ABTS 的反应动力学不同，但二者的结果通常具有高度的线性相关性[20]，本实验结果与前述 DPPH 体系中的清除趋势一致，印证了 CPE 的抗氧化能力具有跨体系的稳定性。

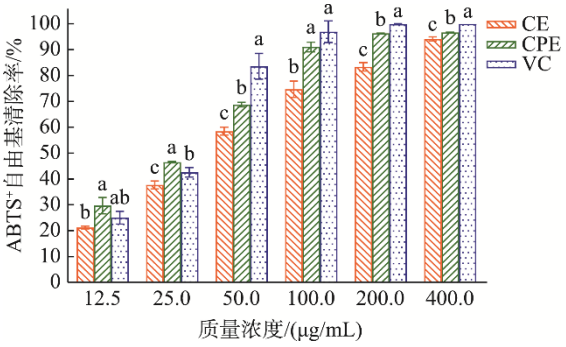


图 4　不同质量浓度的 CE、CPE 对 ABTS$^+$自由基的清除率

Fig.4　Scavenging activity of ABTS$^+$ radicals by CE and CPE at different mass concentration

2.4.3　CE 和 CPE 的铁离子还原能力

FRAP 法是评价天然产物抗氧化活性的重要指标之一，与自由基清除实验不同，FRAP 主要通过单电子转移机制发挥作用[21]。FRAP 值(以 Fe^{2+}浓度计)反映样品作为还原剂在酸性条件下将 Fe^{3+}-TPTZ 还原成 Fe^{2+}-TPTZ 的能力[22]。实验结果如图 5 所示，在低质量浓度(25~100 μg/mL)下，CE 和 CPE 的还原能力较弱，FRAP 值均低于 0.6 mmol。随着浓度的升高，CE 和 CPE 的还原能力随之增强，当质量浓度达到 800 μg/mL 时，CPE 的 FRAP 值达到 2.94 mmol，较 CE (2.30 mmol)提升了 27.83%。在全浓度范围内，三者的 FRAP 强弱排序始终为 VC>CPE>CE，CPE 展现出比 CE 更强的 FRAP，尽管 CPE 的铁离子还原力低于阳性对照 VC，但其在天然提取物中展现出了较高的供给电子的潜力。这一结果不仅与多酚总含量的提高有关，还与多酚类组分的结构特征密切相关。研究表明，B 环上具有邻二酚羟基的酚类物质，能够直接向金属离子(如 Fe^{3+})提供电子，将其还原(如 $Fe^{3+}\rightarrow Fe^{2+}$)，自身则被氧化成醌或半醌[23]。原花青素二聚体(如原花青素 B_1、B_2 等)通常由表儿茶素等单元通过 C4-C8 键连接而成[24]，其结构中的邻二酚羟基是产生强还原活性的核心原因[25]。LC-MS/MS 成分分析结果显示，经纯化后 CPE 中原花青素二聚体的绝对含量(以响应峰面积计)相比于 CE 提升了 1.49 倍，这大幅提升了反应体系中的有效电子密度，使其能够以更快的速率与铁离子络合物反应，从而提升其 FRAP[26]。

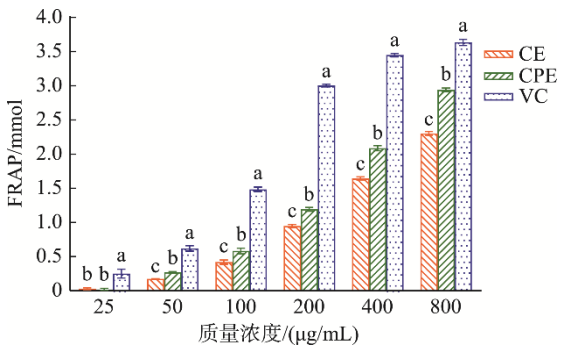


图 5　不同质量浓度的 CE、CPE 的 FRAP

Fig.5　FRAP of CE and CPE at different mass concentrations

2.4.4 CE 和 CPE 的总还原能力

总还原能力测定(铁氰化钾法)是一种通过电子转移机制运作的测定方法，通过检测反应结束时，生成的蓝色复合物在 700 nm 处的吸光度来评估样品作为还原剂进行电子转移的综合效能[27]。该体系的 pH 环境以及反应盐浓度不同于 FRAP 法，可作为还原能力的补充评价，能够更全面地评估提取物在不同生化环境下的电子供给活性。如图 6 所示，CE 和 CPE 的总还原能力均呈现出显著的剂量依赖性。在最高质量浓度(800 μg/mL)下，CPE 的吸光度达到 1.20，虽仍显著低于阳性对照 VC (P<0.05)，但相比于 CE，CPE 在各浓度下的总还原能力均显著升高(P<0.05)，该结果与前述 3 项抗氧化指标的强弱顺序一致。研究表明，总还原能力的高低可直接体现天然产物在食品体系中，抑制脂质过氧化发生的潜力[28]。CPE 在该实验体系中显示出比 CE 更高的吸光度，说明在复杂的应用体系中，CPE 可能拥有比 CE 更强的缓冲能力，从而维持体系的还原状态，发挥抗氧化作用。

综合 DPPH/ABTS$^+$自由基清除实验以及 FRAP/总还原能力实验结果可知，CPE 在多种化学模型中均展现出显著优于 CE 的自由基捕获能力和强还原潜能。这充分证明了膜分离纯化工艺在统计学意义上实现了增强提取物体外抗氧化活性的目的，为后续进一步探究其对关键碳水化合物消化酶的抑制能力奠定了生化基础。

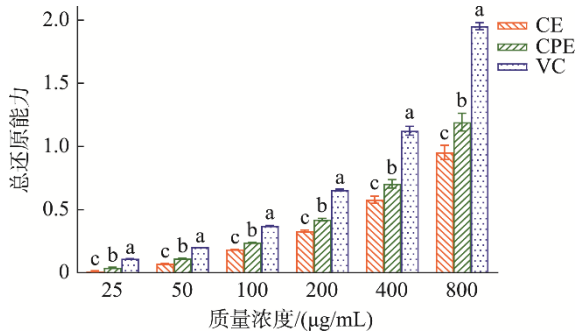


图 6 不同质量浓度的 CE、CPE 的总还原能力

Fig.6 Total reducing power of CE and CPE at different mass concentrations

2.5 CE 和 CPE 对碳水化合物消化酶的抑制作用

2.5.1 CE 和 CPE 对 α-淀粉酶的抑制能力

α-淀粉酶是人体分泌的唾液和胰液中一种关键内切酶[29−30]，主要负责将食物中的大分子淀粉水解为麦芽糖、麦芽三糖等寡糖[27]。抑制该酶的活性可以延缓碳水化合物的消化速度，从而减缓葡萄糖的释放与吸收，有效缓解餐后血糖的波动。如图 7 所示，CE、CPE 和阳性对照阿卡波糖对 α-淀粉酶均表现出明显的剂量依赖性抑制作用。在质量浓度为 10~100 μg/mL 之间，随着浓度增加，CPE 的抑制率显著增加(P<0.05)。当质量浓度为 100 μg/mL 时，CPE 的抑制率达到 91.53%，随后进入平台期。CE 对 α-淀粉酶亦表现出良好的抑制作用，当质量浓度为 10~250 μg/mL 时，CE 抑制率逐渐升高，在 250 μg/mL 时与阿卡波糖持平，而后开始进入平台期。在整个实验范围内(10~1000 μg/mL)，CPE 对的 α-淀粉酶活性均显著高于 CE (P<0.05)。经拟合计算，CPE 对 α-淀粉酶的 IC_{50} 为 49.22 μg/mL，显著低于 CE 的 70.33 μg/mL (P<0.05)，其抑制效能显著优于普通 CE。

Wickramasinghe 等[31]的研究表明，斯里兰卡肉桂皮 80%甲醇提取物对该酶的 IC_{50} 为 86.84 μg/mL，本研究所得 CE 和 CPE 展现出更低的 IC_{50} 水平，其中 CPE 在远低于常规剂量的条件下即可实现高效的酶抑制作用。据此推测，这种生物活性的显著提升归因于膜分离纯化工艺对活性成分的富集。多项研究表明，原花青素类多酚主要通过疏水键和氢键与 α-淀粉酶上的活性位点发生非共价结合，改变酶的空间构象来阻碍底物进入[32]。经过膜分离纯化工艺后，CPE 中原花青素二聚体的浓度倍增极大地提高了多酚分子与酶活性中心的碰撞结合的几率，表现为 CPE 对 α-淀粉酶的抑制率显著高于 CE。

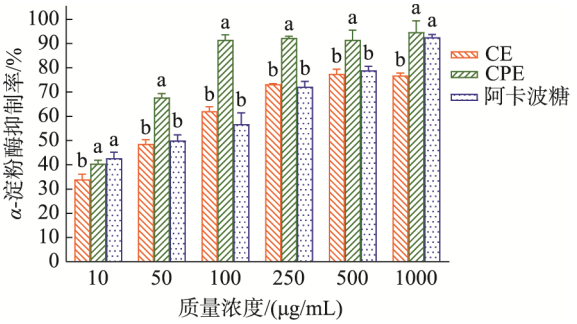


图 7 不同质量浓度的 CE、CPE 对 α-淀粉酶的抑制率

Fig.7 Inhibition rates of α-amylase by CE and CPE at different mass concentrations

2.5.2 CE 和 CPE 对 α-葡萄糖苷酶的抑制能力

碳水化合物在体内的完全消化依赖于多种酶的协同作用，前述 α-淀粉酶主要负责将淀粉长链切断为寡糖，而 α-葡萄糖苷酶则负责将这些寡糖进一步水解为可被小肠直接吸收的单糖，显著影响餐后葡萄糖的供应和血糖水平[33]。因此，本研究对 CE 和 CPE 样品的 α-葡萄糖苷酶抑制能力进行研究。如图 8 所示，在极低质量浓度(0.10 μg/mL)下，阳性对照阿卡波糖的抑制率已接近 90%，对 α-葡萄糖苷酶具有极强的抑制作用。而 CE 和 CPE 在低质量浓度区间(0.10~1.00 μg/mL)则表现出较缓和的抑制效果，CPE 的活性未显示出显著优势；在 10.00 μg/mL 时，CPE 的抑制率大幅提升，达到 63.65%，是 CE 抑制率(14.46%)的 4.4 倍。当质量浓度进一步提升到 50.00 μg/mL 时，CPE 的抑制率已达到 99%以上，仍显著高于 CE (P<0.05)，且与阿卡波糖之间无显著差异(P>0.05)。

碳水化合物的消化是一个由 α-淀粉酶启动、结束于 α-

葡萄糖苷酶的过程。研究表明，与单一抑制剂相比，对 α-淀粉酶和 α-葡萄糖苷酶的双靶点抑制能够发挥协同作用，更全面、平缓地延缓肠道中碳水化合物的消化速度，从而有效降低餐后血糖峰值并减小血糖波动[34]。本研究发现，CPE 在 α-淀粉酶阶段展现出优于阿卡波糖的抑制能力，在 α-葡萄糖苷酶阶段同样具有较高的抑制作用，当浓度为 100 μg/mL，对两种酶的抑制率均超过 90%。这种始末两端的双重抑制使 CPE 具备成为天然糖代谢调节剂的潜力。

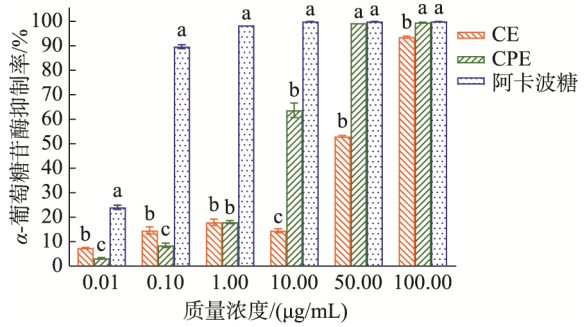


图 8　不同质量浓度的 CE、CPE 对 α-葡萄糖苷酶的抑制率

Fig.8　Inhibition rates of α-glucosidase by CE and CPE at different mass concentrations

3　结　论

本研究利用单因素实验，从纯水、碱法、酸法及酶法 4 种提取方法中，筛选出纯水提取为肉桂多酚的最佳提取方法。再结合微滤与超滤膜分离的提取纯化工艺，制备得到高多酚含量(48.3%)、低香豆素(0.022 mg/g)的 CPE。与普通水提物相比，CPE 多酚含量提高 213.5%，总黄酮含量提高 179.9%，总多糖含量降低 76.84%，香豆素降低 77.08%。LC-MS/MS 结果表明，纯化工艺能有效剔除苏糖酸、奎尼酸、富马酸、琥珀酸等小分子杂质，富集了原花青素 B_1 和 B_2，CPE 中原花青素二聚体的总绝对响应峰面积达到了 CE 的 2.5 倍。体外抗氧化实验结果表明，相比于普通肉桂水提物，CPE 对 DPPH 和 $ABTS^+$自由基的清除能力显著增强，且其 FRAP 及总还原能力亦显著提升(P<0.05)。酶活性抑制实验结果表明，CPE 对 α-淀粉酶和 α-葡萄糖苷酶这两种碳水化合物消化酶的抑制能力均显著增强(P<0.05)。以上结果表明，水提取结合微滤与超滤膜分离的提取纯化工艺能够有效富集肉桂中的多酚类物质，进而增强了 CPE 的体外抗氧化活性与碳水化合物消化酶抑制能力。本研究为开发安全、高效的肉桂降糖食用产品提供了技术基础。

参考文献

[1] Yao Shaochang, Tan Xiaoming, Huang Ding, et al. Integrated transcriptomics and metabolomics analysis provides insights into aromatic volatiles formation in *Cinnamomum cassia* bark at different harvesting times [J]. BMC Plant Biology, 2024, 24(1): 84.

[2] Han Panpan, Chen Jinfang, Chen Zeyu, et al. Exploring genetic diversity and population structure in *Cinnamomum cassia* (L.) J. Presl germplasm in China through phenotypic, chemical component, and molecular marker analyses [J]. Frontiers in Plant Science, 2024, 15: 1374648.

[3] Cosme F, Aires A, Pinto T, et al. A comprehensive review of bioactive tannins in foods and beverages: functional properties, health benefits, and sensory qualities [J]. Molecules, 2025, 30(4): 800.

[4] Nam J W, Phansalkar R S, Lankin D C, et al. Targeting trimeric and tetrameric proanthocyanidins of *Cinnamomum verum* bark as bioactives for dental therapies [J]. Journal of Natural Products, 2020, 83(11): 3287–3297.

[5] Chen Liang, Sun Peng, Wang Ting, et al. Diverse mechanisms of antidiabetic effects of the different procyanidin oligomer types of two different cinnamon species on db/db mice [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60(36): 9144–9150.

[6] Culas M S, Kaur L, Popovich D G, et al. Comparative efficiency of extraction techniques for bioactive compounds in *Cinnamomum* zeylanicum [J]. Food Chemistry, 2025, 493(Pt 3): 145891.

[7] Huang Yuchi, Chen B H. A comparative study on improving streptozotocin-induced type 2 diabetes in rats by hydrosol, extract and nanoemulsion prepared from cinnamon leaves [J]. Antioxidants, 2022, 12(1): 29.

[8] Gou Haobo, Zhong Ling, Wei Qiuya, et al. The effects of cinnamon on patients with metabolic diseases: an umbrella review of meta-analyses of randomized controlled trials [J]. Frontiers in Nutrition, 2025, 12: 1683477.

[9] Liu Benyu, Fang Shiming, Zhou Kun, et al. Unveiling hepatotoxicity distinction of coumarin-related compounds from glycosides to aglycones in Fructus Psoraleae by integrating UPLC-Q-TOF-MS and high content analysis [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2023, 315: 116664.

[10] Federal Institute for Risk Assessment. High daily intakes of cinnamon: health risk cannot be ruled out: BfR Health Assessment No. 044/2006 [R]. BfR, 2006.

[11] Nguyen H C, Ngo K N, Tran H K, et al. Enzyme-assisted coextraction of phenolics and polysaccharides from *Padina gymnospora* [J]. Marine Drugs, 2024, 22(1): 42.

[12] Rocchetti G, Gregorio R P, Lorenzo J M, et al. Functional implications of bound phenolic compounds and phenolics–food interaction: a review [J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2022, 21(2): 811–842.

[13] Lončar M, Jakovljević M, Šubarić D, et al. Coumarins in food and methods of their determination [J]. Foods, 2020, 9(5): 645.

[14] Romulo A. The principle of some *in vitro* antioxidant activity methods: review [J]. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 2020, 426(1): 012177.

[15] Molyneux P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity [J]. Songklanakarin Journal of Science and Technology, 2024, 26(2): 211–219.

[16] Dominguez-Villar M. PI3K and AKT isoforms in immunity: mechanisms and therapeutic opportunities [M]. Cham: Springer International Publishing, 2022: 436.

[17] Gulcin İ, Alwasel S H. DPPH radical scavenging assay [J]. Processes, 2023, 11(8): 2248.

[18] Díaz-Reinoso B, González-López N, Moure A, et al. Recovery of antioxidants from industrial waste liquors using membranes and polymeric resins [J]. Journal of Food Engineering, 2010, 96(1): 127–133.

[19] Messadi N, Mechmeche M, Setti K, et al. Optimization of extraction parameters and characterization of Tunisian date extract: a scientific approach toward their utilization [J]. Sugar Tech, 2023, 25(2): 460–472.

[20] Floegel A, Kim D O, Chung S J, et al. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2011, 24(7): 1043–1048.

[21] Wojtunik-Kulesza K A, Oniszczuk A. Ability of selected monoterpenes to reduce Fe(III) ions being pro-neurodegenerative factors: tests based on a FRAP reaction extended to 48 hours [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2024, 25(4): 2191.

[22] Minickaitė R, Grybaitė B, Vaickelionienė R, et al. Synthesis of novel aminothiazole derivatives as promising antiviral, antioxidant and antibacterial candidates [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(14): 7688.

[23] Perron N R, Brumaghim J L. A review of the antioxidant mechanisms of polyphenol compounds related to iron binding [J]. Cell Biochemistry and Biophysics, 2009, 53(2): 75–100.

[24] Valencia-Hernandez L J, Wong-Paz J E, Ascacio-Valdés J A, et al. Procyanidins: from agro-industrial waste to food as bioactive molecules [J]. Foods, 2021, 10(12): 3152.

[25] Amić A, Mastiľák Cagardová D. A DFT study on the kinetics of HOO$^{\bullet}$, $CH_3OO^{\bullet}$, and $O_2^{\bullet-}$ scavenging by quercetin and flavonoid catecholic metabolites [J]. Antioxidants, 2023, 12(6): 1154.

[26] Mazumder M A R, Tolaema A, Chaikhemarat P, et al. Antioxidant and anti-cytotoxicity effect of phenolic extracts from *Psidium guajava* Linn. leaves by novel assisted extraction techniques [J]. Foods, 2023, 12(12): 2336.

[27] Adjimani J P, Asare P. Antioxidant and free radical scavenging activity of iron chelators [J]. Toxicology Reports, 2015, 2: 721–728.

[28] Félix R, Valentão P, Andrade P B, et al. Evaluating the *in vitro* potential of natural extracts to protect lipids from oxidative damage [J]. Antioxidants, 2020, 9(3): 231.

[29] Hernandez-Hernandez O, Olano A, Rastall R A, et al. *In vitro* digestibility of dietary carbohydrates: toward a standardized methodology beyond amylolytic and microbial enzymes [J]. Frontiers in Nutrition, 2019, 6: 61.

[30] Šárka E, Smrčková P, Sluková M. Crystallinity of starch, food composition, and digestibility of starch [J]. Czech Journal of Food Sciences, 2025, 43(2): 90–104.

[31] Wickramasinghe W T H C, Peiris L D C, Padumadasa C. Chemical and biological studies of value-added cinnamon products in the Sri Lankan market [J]. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 2018, 9(11): 4674–4681.

[32] 张静, 焦洁帆, 云少君, 等. 原花青素和原儿茶酸对淀粉消化酶的联合抑制作用[J]. 食品工业科技, 2024, 45(20): 105–113.
Zhang Jing, Jiao Jiefan, Yun Shaojun, et al. Combined inhibitory effects of procyanidins and protocatechuic acid on starch digestive enzymes [J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(20): 105–113.

[33] 段如彬, 韩晓燕, 乔博洋, 等. 苯并杂环类 α-葡萄糖苷酶抑制剂研究进展[J]. 药物资讯, 2025, 14(4): 227–244.
Duan Rubin, Han Xiaoyan, Qiao Boyang, et al. Recent advances in benzoheterocycle heterocyclic compounds as α-glucosidase inhibitors [J]. Pharmacy Information, 2025, 14(4): 227–244.

[34] Gong Lingxiao, Feng Danning, Wang Tianxi, et al. Inhibitors of α-amylase and α-glucosidase: potential linkage for whole cereal foods on prevention of hyperglycemia [J]. Food Science & Nutrition, 2020, 8(12): 6320–6337.

(责任编辑: 蔡世佳 安香玉)